

Universidad de Concepción Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas

Versión 04-Mar-2024

# Convergencia incompleta en Alsodidae (Anura: Alsodes Bell 1843) acuáticos de alta montaña: Análisis mediante microtomografía computarizada y métodos comparados filogenéticos

# Jesús Alexander Morales Bustos

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas de la Universidad de Concepción para optar al grado académico de Magíster en Ciencias con Mención en Zoología

Profesor Guía: Claudio Correa Quezada Profesor Co-Guía: Cristián E. Hernández

Marzo 2024 Concepción, Chile

© 2023, Jesús A. Morales

Ninguna parte de esta tesis puede reproducirse o transmitirse bajo ninguna forma o por ningún medio o procedimiento, sin permiso por escrito del autor.

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento

Dedicada a aquellos y aquellas que, en el vaivén de la vída, se permiten reencuentros, redescubrimientos consigo mismo. Donde distintos caminos pueden llevar a soluciones similares, donde cada paso no lineal, cada desvío inesperado, contribuye a la ríqueza de nuestro ser.

# AGRADECIMIENTOS

Agradecer a María Paz Melo, las innumerables conversaciones, debates, su eterna sonrisa y amor, por su apoyo incondicional a lo largo del postgrado aportando combustible esencial para seguir adelante. Infinitas gracias.

También a mi Madre y hermana, que a pesar de los 600km de distancia siempre estuvieron presentes. Especialmente Paola, mi madre, quien me ha incentivado a perseguir mis objetivos, con una mirada tranquila y con pasión.

A David Blackburn, Ed Stanley, María Vallejo-Pareja, Jaimi Gray, Daniel Paluh y Coleman Sheehy. Por permitir visitar su laboratorio, el famoso Blackburn Lab. Una de las mejores experiencias a nivel académico y también un gran desafío personal. Sin lugar a duda, las conversaciones y estadía marcaron un antes y un después de la trayectoria académica.

También agradecer a mi profesor guía, Claudio Correa, por los comentarios sobre esta investigación. Al Laboratorio y todos sus integrantes, el laboratorio de sistemática y conservación de Herpetozoos. A Cristián Hernández y Nicolas Espinoza del laboratorio de Ecología Evolutiva y Filoinformática, por su valioso aporte en este trabajo de tesis.

Finalmente agradecer a ANID BECAS/Magister Nacional Año 2022, Chile por financiamiento del año académico 2022 Folio 22221765 y Fondecyt Regular 1201506.









#### RESUMEN

La fascinación por la diversidad biológica y cómo las especies se han adaptado a sus entornos ha llevado a explorar fenómenos como la convergencia evolutiva; proceso en el cual diferentes linajes han evolucionado de manera independiente, desarrollando similitudes morfológicas como respuesta a presiones selectivas similares en distintas partes geográficas. Los anuros, con su amplia diversidad y adaptaciones morfológicas específicas, son un grupo ideal para estudiar estos mecanismos. En particular, el género Alsodes, representativo de la biodiversidad de anfibios en Chile, incluye especies adaptadas tanto a bosques templados como a ambientes acuáticos altoandinos. De esta forma, las presiones selectivas diferenciales de estos ambientes, como la disponibilidad de presas, influiría en los mecanismos de alimentación promoviendo evolución de estructuras craneales y rasgos como la orientación ocular que favorecerían la adaptación a estos ambientes. La predicción de esta hipótesis sería la convergencia evolutiva en estos rasgos entre las especies acuáticas altoandinas Alsodes montanus y Alsodes pehuenche. Para evaluar la principal predicción de la hipótesis evolutiva, se actualizó y calibró la hipótesis filogenética de Alsodidae, incluyendo a A. montanus por primera vez. Se midieron características morfológicas usando fotografías dorsales de la cabeza y microtomografía computarizada de alta resolución para analizar la orientación ocular y la forma del módulo integrado del suspensorio con imágenes 3D, respectivamente. La convergencia evolutiva entre especies acuáticas altoandinas se evaluó mediante métodos comparados filogenéticos y se modificó la métrica C1 de Stayton basada en patrones. De esta forma, se determinó una convergencia incompleta entre las especies acuáticas altoandinas, y las adaptaciones sugieren un mecanismo de alimentación por succión inercial, al menos en A. montanus. Finalmente, aunque A. montanus y Alsodes pehuenche presentan rasgos similares, este último se encuentra influenciado tanto por la relación ancestro-descendencia (régimen evolutivo terrestre) como por una colonización más reciente de los ambientes acuáticos extremos altoandinos, lo que indica adaptaciones morfológicas específicas para la supervivencia en estos hábitats.

**Palabras Claves:** Convergencia evolutiva incompleta, Métodos comparados filogenéticos, Altoandino, *Alsodes*, Anuro.

#### ABSTRACT

The fascination with biological diversity and how species has adapted to their environments has led to the exploration of phenomena such as evolutionary convergence; a process in which different lineages have evolved independently, developing morphological similarities as a response to similar selective pressures in different geographical areas. Anurans, with their wide diversity and specific morphological adaptations, are an ideal group to study these mechanisms. In particular, the genus Alsodes, representative of amphibian biodiversity in Chile, includes species adapted to both temperate forests and high Andean aquatic environments. Thus, the differential selective pressures of these environments, such as prey availability, would influence feeding mechanisms promoting the evolution of cranial structures and traits such as eye orientation that would favor adaptation to these environments. The prediction of this hypothesis would be the evolutionary convergence of these traits between the high Andean aquatic species Alsodes montanus and Also be performed as the main prediction of the evolutionary hypothesis, the phylogenetic hypothesis of Alsodidae was updated and calibrated, including A. montanus for the first time. Morphological characteristics were measured using dorsal photographs of the head and high-resolution computed microtomography to analyze eye orientation and the shape of the integrated suspensorium module with 3D images, respectively. The evolutionary convergence between high Andean aquatic species was assessed using comparative phylogenetic methods, and Stayton's C1 metric was modified based on patterns. In this way, incomplete convergence was determined between the high Andean aquatic species, and the adaptations suggest a mechanism of inertial suction feeding, at least in A. montanus. Finally, although A. montanus and Alsodes pehuenche present similar traits, the latter is influenced both by the ancestor-descendant relationship (terrestrial evolutionary regime) and by a more recent colonization of the extreme high Andean aquatic environments, indicating specific morphological adaptations for survival in these habitats.

**Keywords:** Incomplete evolutionary convergence, Comparative phylogenetic methods, High-Andean, Alsodes, Anuran.

# ÍNDICE

1.	IN	TRODUCCIÓN	8
	1.1	Evolución adaptativa y similitudes morfológicas	8
	1.2	Convergencia evolutiva	.10
	1.	2.1 Definiciones	.11
	1.	2.2 Métricas Cuantitativas	.12
	1.	2.3 Convergencia incompleta	.14
	1.3 A	Anuros: ¿conservadurismo o convergencia?	.15
	1.	3.1. Importancia del campo visual y orientación ocular	.16
	1.		.15
	1.4.	Grupo de estudio	.21
	1.5.	Razonamiento y pregunta de investigación	.23
2.	н	IPÓTESIS	26
3.	о	BJETIVOS	28
	3.1 0	Dbjetivo General	.28
	3.2 0	Dbjetivos específicos	.28
_	_		
4.	N	IETODOLOGIA	30
	4.1 C	Dbtención de datos morfológicos	.30
	4.	1.1 Orientación ocular	.30
	4. 4	<ol> <li>2 Clasificación de hábitat</li> </ol>	.31
	13	Análicis filogenéticos	22
	4.5.		
	4.4 Д	Analisis de Datos	.34 34
	4.	4.2. Reconstrucción de estados ancestrales del tipo de hábitat.	.36
	4.	4.3. Señal filogenética	.37
	4.	4.4. Modelos y régimen evolutivo	.38
	4.	4.5. Cuantificación de convergencia evolutiva	.39
5.	R	ESULTADOS	41
	5.1.	Actualización de la hipótesis filogenética	.41
	5.2.	Variación morfológica	.44
	5.	2.1. Orientación ocular	.44
	5.2.2	2. Estimación de modelos evolutivos	.44
	5.	2.3. Estructura craneal del suspensorio	.48
	5.3.	Métricas C de Stayton	.53
6.	D	ISCUSIÓN	54
	6.1.	Nueva hipótesis filogenética de Alsodidae	.55

			07
7			67
	6.3.	Convergencia Evolutiva	.64
	6.2.	Evolución de los caracteres morfológicos	58

# Índice de Figuras

**Figura 1:** ilustración de métrica C1 de Stayton. Donde A) indica una baja magnitud de convergencia evolutiva y b) una alta magnitud de convergencia evolutiva.....**13** 

**Figura 3:** representación de especies y respectivos hábitats (Acuático, ambas imágenes superiores y Terrestre, ambas imágenes inferiores) A y B: *Alsodes montanus* y ambiente altoandino. C y D: *Alsodes vanzolinii* y ambiente boscoso templado. .....**23** 

Figura 5: ilustración grafica de la medida de la orientación ocular en cada especie de este estudio......30

**Figura 8.** Factor de Bayes acorde al modelo evolutivo para A) orientación ocular y B) Modulo integrado del suspensorio. Colores acordes a la escala de Bayes Factor indicada en el medio de la figura......45

**Figura 10.** Variación en la forma del módulo integrado del suspensorio entre Alsodes montanus (en azul) y Limnomedusa macroglossa (en gris). A) Vista posterior. B) Vista lateral. C) Vista frontal. Cuadrado indica en negro la vista de la estructura del módulo integrado del suspensorio. .....**50** 

**Figura 12.** A) Evolución del rasgo de orientación ocular a lo largo de la filogenia. B) fenograma con la representación de ambos regímenes evolutivos, en celeste se indica el régimen evolutivo acuático, y en negro el régimen evolutivo terrestre.....**52** 

# Índice de tablas

Tabla	<b>1.</b> H	lábitat eo	cológic	os d	e anuro a	dapta	ado de T	Thomas e	t al. :	2020 y Dugo	o-Cot	a et al	. (20	19)	
Tabla	2:	valores	para	la	elección	del	mejor	modelo	de	evolución	del	tipo	de	hábitat	mediante
AICw.				•••••											40
Tabla	3: V	/alor de r	nétrica	as de	e C1 de St	aytor	1 para c	ada rasgo	eva	luado					46

## 1. INTRODUCCIÓN

La diversidad biológica del planeta presenta un sin fin de variación morfológica, la cual parece estar en armonía con el medio donde se encuentra. Esto ha sorprendido a los naturalistas desde hace siglos y probablemente ha llamado la atención del ser humano desde hace miles de años. Actualmente, los biólogos evolutivos tratan de comprender las interacciones, ya sean intrínsecas como extrínsecas, que moldean esta diversidad morfológica y su respectiva relación y/o función con el medio (Darwin, 1859; Mahler et al., 2017).

#### 1.1 Evolución adaptativa y similitudes morfológicas

Un tema esencial en nuestra comprensión de la biodiversidad es analizar cómo las novedades evolutivas afectan tanto la naturaleza como el ritmo de la diversificación. Las especies presentan características (adaptaciones o innovaciones) sujetas a mecanismos como la selección natural (Darwin, 1859) que mejoran su rendimiento, convirtiéndose en factores clave de la diversificación y éxito ecológico. Estas adaptaciones permiten a las especies acceder a nuevos nichos ecológicos (Heard & Hauser, 1995; Vermeij, 2001; Hunter, 2011). La adaptación de los organismos a cambios ambientales ofrece una ventana para comprender los posibles cambios en ciertos rasgos, como también los mecanismos de adaptación a nivel local y global, incluso cómo la historia evolutiva compartida (filogenia) y las bases genéticas del desarrollo influyen en la evolución de rasgos en los linajes (Gould & Lewontin, 1979; Foote, 1997; Cooper & Steppan, 2010; Watanabe, 2018), generando por ejemplo restricciones en la morfología (Stoessel et al., 2013; Garland & Marcy, 2017). Algunos rasgos evolucionan en fenotipos limitados a través de los linajes, pero en otras ocasiones algunas presiones selectivas del ambiente sobre el fenotipo pueden ser más fuertes que la relación ancestro-descendiente, conduciendo a similitudes morfológicas en múltiples, diversos e independientes linajes evolutivos o convergencias (Rezende & Diniz-Filho, 2011; Stayton, 2015a; Mahler et al., 2017; Adams & Collyer, 2018).

# 1.2 Convergencia evolutiva

La convergencia evolutiva es un concepto clave en el ámbito de la evolución, incluso desde antes de Darwin (1859), quien notó similitudes entre especies de diferentes continentes con nichos ecológicos similares. Sin embargo, el concepto como tal se fue moldeando y utilizando en innumerables investigaciones principalmente con enfoque adaptacionista (Stayton, 2015a, 2015b; Pontarotti, 2017; Wysocki, 2019) e incluso ha provocado "problemas" taxonómicos cuando se utiliza el concepto de especie fenético (Cei & Roig, 1965; Díaz & Valencia, 1985; Diaz, 1992). Pero ¿qué es realmente la convergencia evolutiva? Debido a que históricamente investigadores han utilizado dos definiciones de forma explícita o implícita, la convergencia evolutiva se puede separar en dos tipos (Losos, 2011; Stayton, 2015a, 2015b; Grossnickle et al., 2022), e incluso en tres (Heiss & Lemell, 2023). No obstante, aquí se considerarán principalmente los dos tipos más ampliamente utilisados en la literatura, los cuales se detallan a continuación.

## **1.2.1 Definiciones**

La primera definición se basa en patrones o procesos neutrales (Pattern-based o Process-neutral). Esta asume un modelo evolutivo del rasgo de manera neutral, es decir, bajo un movimiento browniano para modelar la dinámica evolutiva de un rasgo que se considera evolucionado en respuesta a algún factor selectivo (Harvey & Purvis, 1991). Por lo tanto, esta definición carece de mecanismos específicos y los taxones de interés evolucionan independientemente hacia fenotipos similares de manera azarosa (bajo un modelo Browniano simple). Sin embargo, esto puede ocurrir por diversos motivos, no necesariamente ligados a la adaptación a condiciones ambientales con presiones selectivas similares, sino también por otros mecanismos estocásticos como lo es la deriva génica (Losos, 2011; Stayton, 2015b; Mahler et al., 2017). Por lo tanto, bajo esta definición, la convergencia no siempre sería indicativa de adaptación.

El segundo tipo de definición se enfoca en procesos (Process-based o "causally committed"). Esta señala que los taxones evolucionan de manera independiente debido a una causa o proceso evolutivo específico (Stayton, 2015a, 2015b; Mahler et al., 2017). Esta definición modela la evolución del rasgo mediante otros procesos evolutivos como por ejemplo el proceso de Ornstein-Uhlenbeck (OU) simple o con

11

múltiple óptimos. Esto la convierte en una definición adaptacionista si los linajes putativamente convergentes están evolucionando bajo un mismo régimen evolutivo.

Debido a que una definición basada en patrones carece de mecanismos y la similitud puede ocurrir por procesos estocásticos; en esta investigación nos referiremos a la evolución fenotípica convergente o "convergencia adaptativa" como el proceso en el que las especies de dos o más linajes que evolucionan de forma independiente, bajo una misma presión selectiva o régimen evolutivo se vuelven fenotípicamente similares, es decir, una definición de convergencia basada en procesos.

#### 1.2.2 Métricas Cuantitativas

Históricamente, los procesos de convergencia evolutiva eran reconocidos de manera intuitiva, basándose principalmente en correlaciones de la similitud morfológia-ambiente y su significancia, pero ahora surge la pregunta ¿qué tan similar es suficientemente similar? En las últimas dos décadas, este enfoque ha experimentado avances significativos, ofreciendo una perspectiva cuantitativa sobre los eventos putativamente convergentes (Ingram & Mahler, 2013; Mahler et al., 2013; Arbuckle et al., 2014; Stayton, 2015a, 2015b; Arbuckle & Speed, 2016; Zelditch et al., 2017; Castiglione et al., 2019; Melchionna et al., 2021). Con la

inclusión de caracteres continuos, ya no estamos limitados a valores binarios de 0 o 1, lo que permite evaluar un gradiente de estados del carácter y reconocer que no siempre hay una similitud o disimilitud perfecta (Figura 1). Sin embargo, es crucial señalar que muchos métodos populares para el análisis comparativo filogenético asumen un modelo evolutivo inapropiado (Price, 1997). Estos métodos cuantifican la convergencia basándose en el supuesto de que la evolución del carácter sigue un patrón aleatorio, específicamente el Movimiento Browniano. Así, independientemente de si se elige un modelo evolutivo del tipo OU a priori, la convergencia sigue siendo evaluada más como un patrón observable que como una consecuencia directa de la adaptación, bajo estas métricas (Hunter, 2021).



**Figura 1**: Ilustración de métricas C de Stayton, donde A) indica una baja magnitud de convergencia evolutiva y B) una alta magnitud.

## 1.2.3 Convergencia incompleta

Si bien las métricas ya resuelven las dudas de "¿qué tan similar es suficiente similar?", aquí surge, independientemente del concepto de convergencia utilizado ("Process-based" o "causally committed"), el concepto de convergencia incompleta o convergencia imperfecta (Collar et al., 2014). Se refiere a situaciones en las que, aunque las especies desarrollan rasgos similares, estas no llegan a ser idénticas en todo el espectro de sus características. En otras palabras, aunque estas especies ocupan nichos similares y muestran adaptaciones parecidas, siguen siendo distintas en otros aspectos de su morfología o fisiología. De hecho, se ha observado que muchos taxones convergentes no ocupan exactamente las mismas regiones dentro del espacio morfológico, convergiendo así hacia un peak adaptativo dentro de una región distinta del morfo-espacio en comparación con sus parientes (Stayton, 2006; Herrel et al., 2019).

# 1.3 Anuros: ¿conservadurismo o convergencia?

Los anuros, debido a su ciclo de vida y características fisiológicas como su piel permeable, enfrentan más limitaciones ambientales que la mayoría de los vertebrados. Esta permeabilidad le confiere una baja resistencia a la pérdida de agua en hábitat predominantemente terrestres (Buckley et al., 2012). A pesar de estas limitaciones, los anuros, con sus 8.707 especies conocidas (Frost, 2023) han diversificado en una amplia gama de hábitat gracias a diversas adaptaciones fisiológicas y morfológicas (Sherratt et al., 2017; Vidal-García & Keogh, 2017). Aunque se caracterizan por un conservadurismo corporal (Moen et al., 2013), muestran una estrecha relación entre la morfología corporal y el uso del hábitat (Vidal-García et al., 2014). Esta disparidad morfológica es impulsada más por la influencia del hábitat que por la historia de ancestro-descendencia, no solo en anuros, sino que en todos los lisanfibios modernos (Buttimer et al., 2020; Heiss & Lemell, 2023), lo que sugiere que la convergencia evolutiva en morfología podría ser común en linajes que comparten hábitats similares (Moen, 2019; Moen et al., 2013, 2016).

## 1.3.1. Importancia del campo visual y orientación ocular

La orientación ocular y el campo visual en anuros han sido tópicos de profundo interés y estudio desde el siglo XIX, marcando un área significativa de investigación dentro de la biología y la ecología de estos anfibios. A lo largo de los años, y especialmente hasta la década de 1980, estos aspectos eran meticulosamente examinados, aunque su atención ha disminuido en periodos más recientes (Donner & Yovanovich, 2020). Los anuros, caracterizados por una visión altamente desarrollada, dependen de la percepción binocular para la captura exitosa de presas, lo que explicaría la posición frontal de sus ojos en muchos casos (Figura 2). Esta configuración ocular no solo mejora su capacidad para estimar la distancia y dirección de posibles presas, sino que también facilita la estereopsis, mejorando así su eficiencia en la localización y captura de alimentos (Wells, 2007; Vitt & Caldwell, 2013; Tan et al., 2014; Larsson, 2015; Heiss & Lemell, 2023).

Investigaciones previas han ilustrado cómo la orientación ocular varía entre diferentes géneros de anuros, influenciando directamente sus estrategias de forrajeo y selección de presas. Por ejemplo, se ha encontrado que anuros con un menor ángulo de orientación ocular, con ojos más dirigidos hacia el frente, tienden a preferir presas ubicadas directamente en su campo visual frontal, incluso si estas se encuentran a una mayor distancia, debido a la mayor percepción del campo binocular por sobre el monocular (Fite, 1973; King & Comer, 1996; Dudkin et al., 2011). Las especies acuáticas demuestran una relación estrecha entre la percepción binocular y un mecanismo de alimentación especializado conocido como succión inercial, observado tanto en etapas larvarias como adultas de ciertos géneros. Un ejemplo es *Hymenochirus*, donde la posición frontal y tamaño de los ojos juegan un papel crítico en la modulación de la velocidad y movimientos necesarios para la captura de presas (Deban et al., 2001).

La variación morfológica en estos anfibios está íntimamente relacionada con su estilo de vida, hábitat y mecanismos de alimentación (Vitt & Caldwell, 2013; Herrel et al., 2019; Jian et al., 2022). Esta relación no solo subraya la importancia de la visión en la ecología de forrajeo de los anuros sino también cómo esta puede influir en la selección de presas, adaptándose a las necesidades específicas impuestas por su entorno. La percepción monocular, por ejemplo, se ha demostrado que proporciona ventajas significativas en especies forrajeras terrestres, como las pertenecientes a la familia Dendrobatidae, donde una disposición más lateral de los ojos amplía su campo visual monocular, facilitando la detección tanto de presas como de potenciales depredadores (Deban et al., 2001; Yeh, 2002). Por otro lado, una mayor percepción del campo visual binocular resulta crucial para especies que dependen de

mecanismos de alimentación avanzados, tales como la proyección lingual en especies arbóreas o la succión inercial en especies acuáticas, donde la estereopsis es fundamental (Deban et al., 2001; Barrionuevo, 2016; Herrel et al., 2019; Jian et al., 2022).

Además, la adaptabilidad evolutiva de los anuros se refleja en el desarrollo independiente de estilos de vida acuáticos y métodos de alimentación asociados a estos, resaltando la diversidad y complejidad de sus estrategias de supervivencia en distintos ambientes (Herrel et al., 2019; Heiss & Lemell, 2023).



**Figura 2**: Representación esquemática de la percepción de un campo visual en A) especie con orientación ocular rostral, con un mayor campo binocular, y B) especie con orientación ocular lateral, con menor campo de percepción binocular.

## 1.3.2. La evolución del modo de alimentación en anuros

La relación entre los modos y mecanismos de alimentación de los organismos y sus hábitats es fundamental para la optimización de la supervivencia de cada especie (Futuyma & Kirkpatrick, 2017; Bels & Whishaw, 2019; Bels & Russell, 2023). Los anuros, con su diversidad de ecologías y estrategias de vida, presentan un ejemplo destacado de cómo la morfología, específicamente la craneal, refleja una estrecha relación con las dietas específicas de cada especie, evidenciando una adaptación evolutiva dirigida por las demandas del nicho ecológico que ocupan (Bardua et al., 2020, 2021; Fabre et al., 2020; Paluh et al., 2020).

Recientemente se ha descrito que el cráneo de los anuros evoluciona de manera modular, con 13 estructuras que evolucionan de forma independiente, muchas de las cuales están influenciadas directamente por la dieta (Bardua et al., 2020). Este patrón de evolución en mosaico indica una integración evolutiva del cráneo más influenciada por la alimentación y hábitat en la edad adulta que por su desarrollo ontogenético (Bardua et al., 2021; Heiss & Lemell, 2023). La adaptación a estilos de vida acuáticos y semiacuáticos ha surgido independientemente en al menos 11 ocasiones desde un ancestro terrestre, lo que ha llevado a variaciones en estructuras

craneales específicas, adaptándose a los requerimientos alimenticios y ambientales (Moen et al., 2016).

Una estructura de particular interés es el módulo integrado del suspensorio, compuesto por tres huesos (Cuadrado, Pterigoides y Escamoso, Figura S2) .que juegan un papel crucial en la alimentación al reforzar y suspender la mandíbula contra el neurocráneo. Las variaciones en esta estructura están directamente relacionadas con los mecanismos de alimentación, afectando la manera en que estas especies interactúan con su entorno y capturan sus presas (Yeh, 2002; Bardua et al., 2020).

El módulo integrado del suspensorio, junto con la reducción dental, subraya una transición evolutiva en los estilos de vida de los anuros, desde depredadores pasivos a activos (Cundall et al., 2017). Este cambio está marcado por la pérdida de dientes en fases específicas, relacionadas con la adaptación a diferentes tipos de hábitats y necesidades alimenticias. En particular, especies completamente acuáticas han perdido todos los dientes, adaptándose a mecanismos alternativos de alimentación como la succión inercial, lo cual mejora la eficiencia en la ingesta de alimentos (Deban et al., 2001; Herrel et al., 2019; Paluh et al., 2020, 2021).

Los mecanismos de alimentación en anuros varían ampliamente, desde la succión inercial en especies acuáticas hasta la elongación hidrostática y tracción mecánica en especies terrestres. Esta diversidad de mecanismos podría ser el resultado de convergencia evolutiva, donde mecanismos similares de alimentación han evolucionado de manera independiente en diferentes linajes en respuesta a la colonización de una amplia gama de ambientes (Nishikawa, 2000; Carreño & Nishikawa, 2010; Cundall et al., 2017; Fernandez et al., 2017).

#### 1.4. Grupo de estudio

El género *Alsodes* Bell, 1843, compuesto por 19 especies (Frost, 2023), juega un papel crucial en la biodiversidad de los anuros de Chile, ya que es el más representativo en número de especies. Su distribución se extiende desde la Región de Coquimbo (32°S) hasta la Isla Wellington en la Región de Magallanes (50°S), abarcando desde la Cordillera de la Costa hasta la Cordillera de los Andes. Este rango comprende una diversidad de ambientes, predominando los hábitats boscosos de baja altitud, un patrón que refleja la distribución general de la familia Alsodidae, que también incluye a los géneros *Eupsophus* y *Limnomedusa* (Charrier et al., 2017).

Dentro de *Alsodes*, destaca la adaptación de tres especies a la vida en altitudes superiores a los 2000 metros sobre el nivel del mar: *Alsodes tumultuosus*, *Alsodes* 

*montanus* y *Alsodes pehuenche*. Estas dos últimas, especialmente vinculadas a los ambientes acuáticos altoandinos, presentan una compleja historia taxonómica debido a ciertas características morfológicas. Inicialmente se agruparon dentro del género *Telmatobius* (Cei & Roig, 1965), linaje exclusivamente acuático de altura del extremo norte el país y continente sudamericano. Posteriormente se reasignaron a un nuevo género propuesto, *Telmalsodes* (Diaz, 1992), debido a sus similitudes morfológicas con especies de *Telmatobius*, que refleja los desafíos de clasificación de estos anuros acuáticos. Sin embargo, esta propuesta fue rápidamente invalidada, reafirmando su posición dentro de *Alsodes* (Wiens, 1993; Lavilla, 1994).

A pesar de sus similitudes morfológicas, *Alsodes pehuenche* y *Alsodes montanus* pertenecen a distintos linajes dentro del género, evidenciado por datos filogenéticos no publicados (Figura 4). Ambas especies se caracterizan por poseer membranas interdigitales desarrolladas, pliegues corporales y una cabeza más ancha que larga. Además, comparten una orientación ocular frontal, similar a las especies de *Telmatobius*, algo que a la fecha no se ha mencionado en la literatura. Esta similitud sugiere una convergencia evolutiva, probablemente como adaptación ecológica para ambientes acuáticos. Además, *Alsodes montanus* se destaca por su dieta generalista, con una inclinación hacia ítems acuáticos, reflejando su adaptación a un estilo de vida acuático dentro de su hábitat altoandino (Busse, 1980; Díaz & Valencia, 1985).



**Figura 3:** Representación de especies y respectivos hábitats (Acuático, ambas imágenes superiores y Terrestre, ambas imágenes inferiores) A y B: *Alsodes montanus* y ambiente altoandino. C y D: Ambiente boscoso templado y *Alsodes vanzolinii*.

# 1.5. Razonamiento y pregunta de investigación

Los anuros, con su gran diversidad y colonización de diversos ambientes, ofrecen una oportunidad idónea para los estudios de convergencia evolutiva. Uno de los aspectos poco abordados es la variabilidad morfológica craneal compuesto por 13 módulos integrados, los cuales se postula que evolucionan de manera independiente en su forma. Aquí evaluamos específicamente el módulo integrado del suspensorio, el cual está íntimamente relacionado con las adaptaciones a estilos de vida específicos y estrategias de alimentación. Particularmente, las especies acuáticas presentan una adaptación notable en el mecanismo de alimentación llamada succión inercial, la cual a su vez podría estar estrechamente relacionada con la orientación y un mayor grado de campo visual del tipo binocular. De esta forma, se facilita una visión estereoscópica, clave para la captura eficiente de presas en ambientes acuáticos.

Esta tesis de magíster busca explorar las causas de la similitud morfológica de estructuras funcionales en especies de ambientes acuáticos altoandinos, donde la alimentación y la percepción visual son fundamentales para la supervivencia.



**Figura 4:** Hipótesis filogenética actualizada con el mayor número de especies de la familia Alsodidae incluidas hasta la fecha y la incorporación de *A. montanus*. Los valores en los nodos indican la probabilidad posteriori (Fuente: Este estudio, datos previos no publicados (software, cadenas MCMC y modelo, es indican en metodología).

# PREGUNTA

Dado los antecedentes descritos de las características morfológicas y los modos de vida en ambientes diferenciales, surge la siguiente interrogante general de investigación:

¿Las adaptaciones en la morfología craneal y ocular de los anuros, específicamente en el módulo integrado del suspensorios y la orientación de los ojos, están influenciados por los ambientes acuáticos, particularmente los altoandinos, donde las presiones selectivas podrían ser extremas y generar convergencia adaptativa?

# 2. HIPÓTESIS

## **Hipótesis Principal**

"Las presiones selectivas diferenciales de ambientes acuáticos altoandinos, promueven la evolución convergente de estructuras craneales y rasgos como la orientación ocular que favorecerían la adaptación a estos ambientes."

**Predicción general:** Las similitudes morfológicas entre las especies acuáticas altoandinas de *Alsodes*, *A. montanus* y *A. pehuenche*, específicamente en la forma del módulo integrado del suspensorio y orientación ocular rostral, son el resultado de evolución convergente, impulsada por las demandas de un estilo de vida acuático en ambientes extremos altoandinos.

## **Predicciones específicas:**

- Existe una similitud morfológica significativa de los rasgos evaluados entre las dos especies acuáticas, separándose del resto de las especies terrestres.
- 2- Dentro de la familia Alsodidae, existen dos régimen evolutivos en los caracteres de orientación ocular y en la forma del módulo integrado del

suspensorio, asociados a ambientes terrestres y ambientes acuáticos,

respectivamente.

# **3. OBJETIVOS**

# 3.1 Objetivo General

Evaluar el grado de convergencia evolutiva en adaptaciones morfológicas craneales y oculares en especies acuáticas de ambientes altoandinos de la familia Alsodidae, con un enfoque basado en procesos.

# 3.2 Objetivos específicos

1- Actualizar hipótesis filogenética: Generar la primera hipótesis filogenética que incluya ambas especies altoandinas del género *Alsodes (A. montanus y A. pehuenche)*, utilizando secuencias de ADN e inferencia bayesiana. Siendo la reconstrucción filogenética más completa de la familia Alsodidae a la fecha, con 26 de las 30 especies reconocidas.

2- Analizar la variación en la morfología craneal (módulo integrado del suspensorio)y la orientación ocular en anuros de la familia Alsodidae.

3- Evaluar si la variación y los rasgos morfológicos evolucionan de manera azarosa o están influenciados por la relación de ancestro-descendencia y/o factores ambientales. 4- Determinar los respectivos regímenes evolutivos según las medidas de los rasgose historia evolutiva de la familia Alsodidae.

5- Establecer la magnitud de la similitud morfológica en los rasgos, como la forma del suspensorio y el grado de orientación ocular, entre los linajes acuáticos altoandinos.

# 4. METODOLOGÍA

#### 4.1 Obtención de datos morfológicos

Entre 2019 y 2023 se obtuvieron fotografías de la cabeza en vista dorsal de todas las especies de la familia Alsodidae, cuyo estatus taxonómico estuviese claro y soportado por estudios previos. Se fotografiaron individuos vivos, usando la misma cámara fotográfica y la misma distancia focal, a excepción de *Limnomedusa macroglossa*, cuya fotografía fue obtenida a través de plataforma digitales (iNaturalist). También se utilizaron ejemplares de museo para la morfología interna craneal (Tabla S3).

#### 4.1.1 Orientación ocular

Para obtener el grado angular de la orientación ocular, se utilizaron las fotografías dorsales de las especies de *Alsodes*, *Eupsophus* y *Limnomedusa*. El grado de orientación ocular fue medido usando el software Adobe Photoshop 2024, versión 25 (Adobe Systems, San Jose, CA). Inicialmente se ajustó la imagen con una línea horizontal entre ambos ojos desde su base sin ángulo de inclinación, luego se trazó una segunda línea perpendicular en 90° hasta el punto medio del rostro y mediante líneas diagonales a través de la base de cada ojo se estimó el ángulo  $\alpha$  como medida de orientación ocular (ver figura 3).



Figura 5: Ilustración gráfica de la medida de la orientación ocular (α) obtenida para cada especie.

# 4.1.2 Microtomografía computarizada (µCT)

Se reconstruyó la anatomía interna de 14 ejemplares pertenecientes a la familia Alsodidae (Códigos ejemplares ver Tabla S3) mediante microtomografía computarizada ( $\mu$ CT), para estudiar la variación de la forma craneal, específicamente del módulo integrado del suspensorio. Las reconstrucciones se realizaron en el Centro de Investigación a Nanoescala de la University of Florida en un escáner CT Phoenix V|tome|X M con un tubo de rayos X configurado a 70 kV, 200 mA y un tiempo de captura del detector de 0,200098 segundos, con un promedio de 3 imágenes/rotación y una resolución vóxel de 33,54 m. La segmentación y visualización se realizaron con el software VG Studio Max 3.4 (Volume Graphics, Heidelberg, Alemania; <u>https://www.volumegraphics.com</u>).

## 4.2. Clasificación de hábitat

Para asignar a cada especie un estado categórico de hábitat en su etapa adulta, se utilizaron los criterios establecidos por Dugo-Cota et al. (2019), de acuerdo con la literatura publicada para cada especie. Estas se clasificaron en tres hábitats ecológicos: Terrestre, Acuático y Semi-Acuático (Tabla 1).

Hábitat	Definición							
Terrestre	Primariamente activo en el suelo/hojarasca.							
Acuático	Primariamente encontrado en agua sumergido. Rara							
	vez/nunca deja el agua.							
Semi-Acuático	Fuertemente asociado con/encontrado comúnmente en							
	agua. Pero también utiliza frecuentemente hábitat							
	terrestre.							

 Tabla 1. Hábitat ecológicos de anuro adaptado Dugo-Cota et al. (2019).

## 4.3. Análisis filogenéticos

A la fecha no existe una filogenia donde se incluyan las especies de interés para el estudio de convergencia dentro de la familia Alsodidae, por lo que se realizó una reconstrucción filogenética incorporando por primera vez a A. montanus. En este análisis se incluyeron en total 15 de las 19 especies del género Alsodes, completando un total de 26 de las 30 especies de la familia Alsodidae. La reconstrucción filogenética se realizó mediante inferencia bayesiana, con dos fragmentos mitocondriales (citocromo b y 12S-16S) y dos genes nucleares (Rho y Sia). Solo para Alsodes montanus se obtuvieron las secuencias en este estudio, siguiendo los protocolos de Correa et al. (2018); para el resto de las especies se utilizaron secuencias publicadas en Genbank. Previamente, se verificó la saturación de los genes mitocondriales en DAMBE V. 7.0.35 (Xia, 2018) y la presencia de señales de recombinación en los genes nucleares mediante RDP v3.44 (Martin & Rybicki, 2000). El análisis bayesiano se llevó a cabo en MrBayes, con una matriz concatenada, pero definiendo cuatro particiones, una para cada gen. A cada partición se aplicó independientemente un modelo GTR + parámetro gamma + proporción de sitios invariantes. Se corrieron cuatro cadenas de 20.000.000 de iteraciones con un muestreo cada 1.000 generaciones. Posteriormente, se realizó un burn-in del 25% para eliminar las iteraciones iniciales antes de que las cadenas alcanzaran la estacionalidad.
Una vez obtenida la hipótesis filogenética dentro de la familia Alsodidae, se utilizó la topología publicada del orden Anura de Dubois et al. (2021) para calibrar las divergencias dentro de Alsodidae mediante el Software \*BEAST 2.75. Se establecieron puntos de calibración en los nodos perteneciente a las familias Calyptocephalellidae, Batrachylidae e Hylodidae, de acuerdo con el estudio de Hime et al. (2021). El análisis se corrió 50 millones de iteraciones, verificando los valores de ESS en Tracer y posteriormente se obtuvo un árbol consenso en TreeAnnotator. Con el árbol calibrado, mediante el paquete "ape" de R (Paradis & Schliep, 2019) y la función Drop.tip se extrajo únicamente la familia Alsodidae. Este árbol filogenético es el que se usó para todos los análisis descritos a continuación.

#### 4.4 Análisis de Datos

#### 4.4.1. Morfometría geométrica

Debido a que esta investigación evaluó la variación de la forma mediante  $\mu$ CT, con reconstrucciones tridimensionales, se utilizó un enfoque de morfometría geométrica ya que esta permite separar los efectos del tamaño de la forma del rasgo, permitiendo a su vez capturar la variación de forma más precisa en estructuras complejas, como lo es en el caso de estructuras tridimensionales (Luna 2020). Un enfoque de morfología geométrica permite la inclusión de esta variación extrema en la morfología, ya que esta variación puede tener una influencia crucial en los patrones de integración de rasgos y modularidad en Anura (Luna 2020).

Se definieron 12 landmarks (puntos homólogos estructurales) y 70 semilandmarks de curva (superficies anatómicas no homologas deslizantes) utilizando la plantilla de Bardua et al. (2020) y una plantilla actualizada propuesta para dos de los tres huesos que componen el módulo integrado del suspensorio (Figura 6). La plantilla se implementó en el software Stratovan Checkpoint y posteriormente se realizó un análisis de Procrustes generalizado, usando el paquete geomorph V4.0.6 (Adams et al., 2023). Además, se llevó a cabo un análisis de componentes principales CPA incorporando la información filogenética y relación de ancestro-descendencia (CPA filogenético: pCPA).

Cada componente principal muestra la variación de datos no correlacionados y el número de componentes principales (CP) puede ser igual o menor al número de variables utilizadas (Luna 2020), en este caso, correspondientes al número de landmarks y semilandmarks de curva.

35



**Figura 6:** Representación de los landmarks en cada estructura del módulo integrado del suspensorio. En verde: Escamoso; Rojo: Cuadrado y Amarillo: Pterigoides. Figura esquina inferior izquierda, representación de los semilandmarks.

## 4.4.2. Reconstrucción de estados ancestrales del tipo de hábitat.

Para obtener mayor claridad sobre la evolución de los hábitats en Alsodidae, se evaluaron tres modelos de evolución de rasgos discretos, Tasas simétricas (SYM), Tasas iguales (ER) y todas las Tasas diferentes (ARD) y se obtuvieron los valores de AICc mediante la función anova (Revell, 2024). Posteriormente se estimaron los tipos de hábitat ancestrales mediante la función sim.MK(), de acuerdo al modelo con mejor ajuste, mediante un método bayesiano con 10,000 simulaciones para la reconstrucción. Los valores de probabilidad en cada nodo se muestran en un anexo (Tabla S2). Este análisis se realizó en el paquete phytools 2.0 (Revell & Harmon, 2022; Revell, 2024).

## 4.4.3. Señal filogenética

Los rasgos evaluados pueden estar sujetos a una fuerte relación de similitud debido a la historia evolutiva en común, más de lo esperado por puro azar (Revell & Harmon, 2022). Es decir, se requiere evaluar su independencia en términos estadísticos (Münkemüller et al., 2012, 2020). Se calculó la señal filogenética  $\lambda$  de Pagel en la orientación ocular y el módulo integrado del suspensorio bajo un supuesto de modelo de evolución de tipo browniano. Esto se realizó mediante el paquete phytools mediante la función "phylosig(method = "lambda")" (Revell, 2024). La señal filogenética se interpreta como un multiplicador escalar de las correlaciones del rasgo entre los taxones en el árbol filogenético, o una medida de la dependencia estadística entre los valores de rasgo debido a sus relaciones filogenéticas (Revell & Harmon, 2022). Es relevante señalar que esta métrica enfrenta incertidumbres cuando el tamaño de la muestra es reducido (Revell & Harmon, 2022; Revell, 2024).

## 4.4.4. Modelos y régimen evolutivo

Evaluar los regímenes evolutivos en convergencia evolutiva nos ayuda a entender cómo se relacionan tanto patrones y/o procesos evolutivos, reflejando cómo las presiones selectivas específicas de un ambiente conducen a patrones de cambio fenotípico en linajes diferentes. Identificar distintos linajes que han respondido de manera similar a desafíos ambientales comparables indica adaptaciones evolutivas hacia óptimos fenotípicos compartidos con respectivos cambios. Aunque todos los rasgos se mueven en conjunto, pueden hacerlo en diferentes magnitudes y direcciones (Revell & Harmon, 2022).

Para esto, se estimó el modelo evolutivo para cada rasgo por separado mediante el paquete bayou V2.2.0 (Uyeda et al., 2020), sin utilizar información *a priori* de los putativos regímenes evolutivos. Se evaluaron cuatro modelos evolutivos: Movimiento browniano (MB), Movimiento browniano de tasa variable (MBtv), Ornstein Uhlenbeck (OU) y Ornstein Uhlenbeck de múltiples tasas (OUmt). La elección del mejor modelo se determinó con el factor Bayes en R, a través de los valores de Marginal Likelihood y ploteado en R mediante el paquete BTprocessR (Ferguson-Gow, 2024). Los plots de los respectivos regímenes y evolución de los

rasgos se realizaron mediante las funciones plotSimmap.mcmc() y plotBranchHeatMap(), respectivamente.

## 4.4.5. Cuantificación de convergencia evolutiva

Para determinar convergencia evolutiva y su grado, se utilizaron las métricas C de Stayton (Stayton, 2006, 2015a; Zelditch et al., 2017), aplicadas a cada rasgo por separado. Estas métricas se basan en la comparación de las distancias morfológicas en el espacio morfo-filogenético, que es un espacio que combina tanto la morfología (la forma y estructura de los organismos) como la filogenia (la relación evolutiva entre especies). Se basa en 4 métricas C, pero aquí únicamente nos interesa C<sub>1</sub>, donde  $C_1 = (1 - (Dtip/Dmax))$ , es la distancia entre los tips de las especies putativamente convergentes (Dtip), en relación con la distancia fenotípica máxima entre dos ancestros en las dos ramas que conectan a los taxones extremos que se están probando con su ancestro común más reciente (MRCA, Dmax); cuanto más cercano sea el valor de C<sub>1</sub> a uno, mayor es la convergencia (Stayton, 2015a; Grossnickle et al., 2023). La métrica se calculó mediante la función calcConvCt() y la significancia de los valores se estimó mediante la función convSigCt(), ambas del paquete Convevol V.2 (Zelditch et al., 2017; Brightly & Stayton, 2023).

Como las métricas C de Stayton asumen un modelo evolutivo del tipo Browniano puro de base, se modificó el árbol input de acuerdo con el Modelo evolutivo estimado en bayou. Se aplicó esta corrección debido a que el concepto de convergencia evolutiva aplicado en este estudio se basa en una definición basada en procesos y por lo tanto en la estimación de  $C_1$  debe estar incorporado el modelo de evolución o procesos evolutivo que mejor se ajusta al origen de los rasgos evaluados y no simplemente asumir un proceso Browniano puro.

#### 5. **RESULTADOS**

## 5.1. Actualización de la hipótesis filogenética

En general, se obtuvo valores altos de probabilidad *a posteriori* (pp) para las relaciones filogenéticas dentro de la familia Alsodidae, con valores de de pp  $\geq$  0,95 en casi todos los nodos. La excepción se encuentra dentro del clado hermano de *A. pehuenche*, con un valor de pp = 0,55 (Figura Árbol 2), el cual incluye tanto a especies montañosas de baja altitud (eg. *A. gargola, A. neuquensis*) como de bosques templados costeros (*A. norae*). Según la calibración a nivel de familia obtenida de Hime et al. (2021), se estima que la familia Alsodidae se originó hace aproximadamente 44 millones de años. Basándose en este cálculo como el origen de la familia, se estimó que los linajes que dan origen a los géneros hermanos que hoy conocemos como *Alsodes y Eupsophus* divergieron hace unos 35,6 millones de años.

En lo que respecta a las especies focales de esta investigación (*A. montanus* y *A. pehuenche*), estas no están estrechamente relacionadas, sino que pertenecen a clados distintos que divergieron hace aproximadamente 19,45 millones de años. *Alsodes pehuenche* está estrechamente emparentada con especies terrestres que habitan los bosques templados (nodo 32, figura 7), mientras que *A. montanus* forma un linaje

por sí sola, constituyendo el grupo hermano del clado que contiene a 11 especies del género, incluyendo las mencionadas anteriormente.

El mejor modelo que se ajusta a los datos es el modelo ARD, con 6 tasas de transición diferentes: Acuático  $\leftrightarrow$  Terrestre, Acuático  $\leftrightarrow$  Semi-acuático y Terrestre  $\leftrightarrow$  Semi-acuático, cada una en ambas direcciones (Figura 7, Tabla 2). Las reconstrucciones de estados ancestrales del hábitat basadas en este modelo, mediante análisis bayesiano, indican una mayor probabilidad de que el ancestro común de la familia Alsodidae fuera de hábito terrestre (nodo 26), manteniéndose como el más probable en varios de los nodos a lo largo de la diversificación del género, aunque en pocas ocasiones supera el 0,95 (Figura 7, Tabla S2).

Tabla 2. valores para la elección del mejor modelo de evolución del tipo de hábitat mediante AICw.

Modelo	log(L)	d.f.	AIC	AICw
ER	-22.54075	1	47.08151	0.13
ARD	-15.69247	6	43.38495	0.82
SYM	-21.69450	3	49.38900	0.041



**Figura 7:** A) Tiempos de divergencia dentro de la familia *Alsodidae* estimados en \*BEAST 2.7, con referencia de origen de la familia de acuerdo con Hime et al. (2021), en el nodo 26 (44,2 Ma). Los colores indican el tipo de hábitat y la respectiva probabilidad del hábitat ancestral en cada nodo. Los valores de cada nodo se especifican en el Anexo Tabla S2) Tasas de transición de acuerdo con el modelo ARD entre tipos de hábitat.

#### 5.2. Variación morfológica

### 5.2.1. Orientación ocular

La señal filogenética (lambda de Pagel) para la orientación ocular resultó estadísticamente significativa, con un valor de lambda = 0,91 y un p < 0,05. Esto indica que el rasgo ha evolucionado de forma correlacionada con la filogenia, de manera similar a un modelo de evolución Browniano, donde se espera que los rasgos cambien de manera gradual y dependiente de las relaciones ancestro descendiente a lo largo del tiempo.

#### 5.2.2. Estimación de modelos evolutivos

Para la orientación ocular y la forma del módulo integrado del suspensorio, se determinaron los respectivos modelos evolutivos (Figura. En el caso de la orientación ocular, el modelo que mejor se ajusta a los datos es un modelo de Ornstein-Uhlenbeck (OU) de dos tasas, específicamente con dos regímenes evolutivos. Un óptimo evolutivo (theta =  $41,3^{\circ}$ ) es ocupado exclusivamente por *Alsodes montanus*, mientras que el otro régimen evolutivo incluye al resto de la familia Alsodidae con un óptimo de  $55^{\circ}$ , incluyendo a la especie acuática *A. pehuenche* como la más divergente.

Para la forma modulo integrado del suspensorio, se estimó que el carácter evoluciona bajo un modelo evolutivo tipo OU con dos tasas, siguiendo el mismo patrón que la orientación ocular, y presentando igualmente dos regímenes evolutivos. Esto significa que *Alsodes montanus* muestra un régimen evolutivo distinto al del resto de la familia Alsodidae y *A. pehuenche* se agrupa con el resto de las especies terrestres, aunque cabe destacar que fue el segundo linaje en presentar una alta probabilidad en pertenecer a otro régimen evolutivo, pero sin superar el 0,95 de pp.



Figura 8. Factor de Bayes acorde al modelo evolutivo para A) orientación ocular y B) Modulo integrado del suspensorio. Colores acordes a la escala de Bayes Factor indicada en el medio de la figura.

Las especies con hábitos terrestres (Tabla S3) dentro de la familia Alsodidae presentan una orientación ocular promedio de 53,3°, mientras que las dos especies con hábitos acuáticos tienen una orientación ocular promedio de 43,8° (Tabla S3). Limnomedusa macroglossa pertenece al género monotípico más alejado geográficamente del resto de la familia Alsodidae (noreste de la Argentina, sur del Brasil, Uruguay y en el norte de Paraguay), que habita ambientes terrestres y es la especie que presenta una mayor orientación ocular, 57°, lo cual implica una orientación ocular lateral. Por el contrario, Alsodes montanus muestra la menor orientación ocular dentro del género y la familia, con un ángulo de 41,2°, indicando una visión más binocular y orientada frontalmente. Alsodes pehuenche (45,4°) presenta un valor de orientación ocular más cercano a A. montanus que al resto de sus congéneres (Tabla S3). Esta cercanía del valor además se condice con procesos evolutivos similares en estas dos ramas evolutivas divergentes (Figura 9), de hecho, el valor actual de la orientación ocular en A. pehuenche se acerca al régimen evolutivo de la especie acuática A. montanus (Figura 9B).



**Figura 9.** A) Evolución del rasgo de orientación ocular a lo largo de la filogenia de Alsodidae. B) Fenograma con la representación de ambos regímenes evolutivos; en celeste se indica el régimen evolutivo acuático y en negro el terrestre. Las líneas segmentadas rojas indican los óptimos evolutivos de cada régimen.

#### 5.2.3. Estructura craneal del módulo integrado del suspensorio

En el espacio morfo-filogenético, se identificaron 13 componentes principales, de los cuales los primeros 9 explican el 95% de la variación de la forma del módulo integrado del suspensorio. El Componente Principal 1 (CP<sub>1</sub>) explica un 30,54% de esta variación, donde se distingue un grupo conformado por las especies terrestres y semiacuáticas, del cual divergen las especies acuáticas (A. montanus y A. *pehuenche*); el CP<sub>2</sub> explica el 17,54% de la variación de la forma (Figura 10). Este rasgo muestra una mediana señal filogenética (lambda = 0.57), aunque no significativa p > 0.05. La variación de la forma explicada por los componentes principales, en especies acuáticas, se debe a una disminución de la altura, un "cuerpo" más ancho, y una orientación más vertical del escamoso, en relación con una especie terrestre (Figura 11). El pterigoides en especies acuáticas es más largo y también ancho, abarcando más la cavidad craneal lateralmente (Figura 11). El último hueso que compone el módulo integrado del suspensorio (el cuadrado) en especies acuáticas es más reducido y a su vez más ancho en la base en relación con las especies terrestres, como se observa en la comparación entre A. montanus y Limnomedusa macroglossa (Figura 11). La cercanía de los valores en los componentes principales (eg. PC1, Figura 12B; Figura S1), se condice con procesos evolutivos similares en estas dos ramas evolutivas divergentes (Figura 12), por lo que el valor del PC1 actual de *A. pehuenche* se acerca al régimen evolutivo de la especie acuática *A. montanus* (Figura 10; 11B).



 Figura 10. Espacio morfológico filogenético del módulo integrado del suspensorio definido por los dos primeros componentes principales (47,9% de la variación).

 Los
 colores
 de
 los
 círculos
 indican
 el
 hábitat
 de
 cada
 especie:

 Terrestre;
 Semi-Acuático;
 Acuático.



**Figura 11.** Variación en la forma del módulo integrado del suspensorio del lado derecho entre *Alsodes montanus* (en azul) y *Limnomedusa macroglossa* (en gris). A) Vista posterior. B) Vista lateral. C) Vista frontal. La superficie en negro del paralelepípedo indica la vista respectiva de la estructura del módulo integrado del suspensorio



**Figura 12.** A) Evolución del rasgo de orientación ocular a lo largo de la filogenia de Alsodidae. B) Fenograma con la representación de ambos regímenes evolutivos; en celeste se indica el régimen evolutivo acuático y en negro el terrestre.

## 5.3. Métricas C de Stayton

Las métricas C de Stayton para ambos rasgos indican una significancia en la magnitud de convergencia evolutiva. Para la orientación ocular entre las especies putativamente convergentes, el valor medio de C1 es 0,62 (Tabla 3). Por otro lado, para el módulo integrado del suspensorio, C1 es 0,80, lo cual representa un valor alto en términos de magnitud de convergencia evolutiva entre los linajes acuáticos (*Alsodes montanus y Alsodes pehuenche*). Esto sugiere que estas especies han evolucionado hacia rasgos similares en la orientación ocular y principalmente en la morfología del suspensorio en comparación con su ancestro común más cercano (Tabla 3).

Rasgo	Métrica	Valor	р
Orientación Ocular	C1	0,62	< 0,05
Modulo integrado del suspensorio	C1	0,80	< 0,05

**Tabla 3:** Métricas C1 de Stayton para cada rasgo evaluado.

# 6. DISCUSIÓN

Esta tesis se centra en dilucidar los patrones evolutivos y procesos que causan las semejanzas morfológicas y ecológicas de especies que pertenecen a clados divergentes, como un aspecto clave de la filogenia y evolución morfológica dentro de la familia Alsodidae. En este caso nos enfocamos en los grupos asociados a hábitats contrastantes, como son los terrestres de bosques templados y los acuáticos altoandinos, con un especial énfasis en dos especies que habitan este último ambiente: *Alsodes montanus* y *Alsodes pehuenche*. La hipótesis filogenética actualizada, fundamentada en un análisis bayesiano (con valores de probabilidad posterior superior a 0,95 en casi todos los nodos), revela diferencias evolutivas notables y divergencias guiadas por regímenes evolutivos y presiones selectivas diferenciales entre las especies de Alsodidae que ocupan distintos hábitats.

Nuestros resultados sustentan que las dos especies acuáticas del clado, *Alsodes montanus* y *A. pehuenche*, han evolucionado de manera independiente, perteneciendo a dos clados distintos que se separaron hace aproximadamente 19,5 millones de años. Los hallazgos de este estudio sugieren que las similitudes morfológicas, tanto externas como internas, de estas especies están más influenciadas por presiones selectivas ambientales que por su relación filogenética directa

54

(ancestro-descendencia), obteniéndose evidencia de convergencia evolutiva entre las especies acuáticas altoandinas *Alsodes montanus* y *Alsodes pehuenche*. De esta forma, se sustenta la hipótesis de que las presiones selectivas diferenciales del ambiente acuático, como la disponibilidad de presas, influiría en los mecanismos de alimentación promoviendo evolución de estructuras craneales y rasgos como la orientación ocular que favorecerían la adaptación a estos ambientes.

#### 6.1. Nueva hipótesis filogenética de Alsodidae

La topología de la nueva hipótesis filogenética y los valores de probabilidad *a posteriori* en los nodos concuerdan con la mayoría de los estudios recientes que involucran a los géneros dentro de la familia Alsodidae (Blotto et al., 2013; Suárez-Villota et al., 2018; Correa et al., 2020; Ramirez-Alvarez & Peñaloza, 2020; Mella-Romero et al., 2022). Sin embargo, hasta la fecha, la posición filogenética de *A. montanus* no había sido esclarecida, lográndose aquí incluir un total de 26 especies de las 30 que componen la familia. Esto convierte a esta hipótesis filogenética en la más completa hasta el momento y la primera en ser calibrada a nivel de familia con un amplio número de especies.

De acuerdo con la calibración secundaria realizada en este estudio, *Alsodes* y *Eupsophus* divergieron hace aproximadamente 35,6 millones de años en el Eoceno,

en contraste con la divergencia propuesta recientemente de 1,17 millones de años en el Pleistoceno (Suárez-Villota et al., 2018). Estas estimaciones se llevaron a cabo utilizando diferentes métodos de calibración y a distintas escalas filogenéticas. No obstante, nuestros resultados son consistentes con estudios macroevolutivos (Hime et al., 2021; Portik et al., 2023) y se basan en una calibración secundaria en el origen de la familia Alsodidae con tiempos de calibración derivados de los estudios previos. Dado que los registros fósiles de anuros son escasos, especialmente para los anuros chilenos, este método de calibración se consideró útil para estimar la diversificación temporal de Alsodidae, a pesar de la inherente incertidumbre de error tipo II (Ho et al., 2015).

Dentro de Alsodidae, *Alsodes* y *Eupsophus* divergieron durante el Eoceno, hace aproximadamente 35,6 millones de años. Se ha sugerido que el origen de estos géneros tuvo lugar en las zonas costeras chilenas, donde actualmente predominan los bosques templados y patagónicos (Blotto et al., 2013). En concordancia, nuestros resultados apoyan la hipótesis de un hábito ancestral terrestre más probable, asociado a estos tipos de ambientes. Posteriormente, los linajes colonizaron otros ambientes, generando adaptaciones a estilos de vida semiacuáticos y acuáticos, más asociados a la cordillera de los Andes (Figura 7). Esto coincide con una colonización y diversificación de Oeste a Este (Blotto et al., 2013). Además, la reconstrucción ancestral (Figura 7) muestra que, más recientemente, hubo una diversificación con múltiples e independientes colonizaciones hacia las laderas altoandinas (Blotto et al., 2013). Las tres especies de Alsodidae que habitan estos ambientes altoandinos, por encima de los 2000 m s.n.m., pertenecen al género *Alsodes (A. montanus, A. pehuenche y A. tumultuosus)* y han evolucionado de manera independiente, divergiendo hace aproximadamente 19 millones de años durante el Mioceno (Figura 7). Dos de estas especies altoandinas, *A. montanus y A. pehuenche*, presentan hábitos acuáticos (Díaz & Valencia, 1985; Corbalán et al., 2010, 2014).

Los anuros, como grupo, se originaron hace aproximadamente 200 millones de años a partir de un ancestro de hábitos terrestres (Paluh et al., 2020), por esto, los hábitos acuáticos son considerados novedades evolutivas que han surgido de manera independiente en aproximadamente once ocasiones a lo largo de la historia de los anuros (Moen, 2019). En este estudio, se observó que dentro de un mismo género, han surgido dos especies con hábitos acuáticos como novedades evolutivas, las cuales presentan una alta similitud morfológica asociada a ambientes similares altoandinos.

## 6.2. Evolución de los caracteres morfológicos

### 6.2.1 Orientación ocular

Los resultados sugieren una fuerte asociación entre el tipo de hábitat y la morfología ocular. Las especies de hábitos terrestres presentan, en promedio, una orientación ocular de 52,5°, en contraste con los 43,3° de las especies acuáticas. Este rasgo evolucionó bajo un modelo de Ornstein-Uhlenbeck (OU) de dos tasas, mostrando una alta señal filogenética ( $\lambda$  de Pagel = 0,91, p < 0,05).

Los hallazgos demuestran un régimen evolutivo distinto entre las especies acuáticas convergentes putativas *A. montanus* y *A. pehuenche*, siendo esta última parte del mismo régimen evolutivo de las especies terrestres. Sin embargo, *A. pehuenche* se distancia significativamente del óptimo evolutivo de su respectivo régimen terrestre (theta =  $54,1^{\circ}$ ) y se acerca al óptimo evolutivo de la orientación ocular del régimen acuático, ocupado únicamente por *A. montanus* (theta =  $41,3^{\circ}$ ) (Figura 9). Una orientación ocular hacia el rostro proporciona un campo más amplio de percepción binocular, esencial para la determinación de distancia y velocidad de las presas, especialmente en ambientes acuáticos (Tan et al., 2014; Donner & Yovanovich, 2020). La gran similitud en este rasgo entre *A. pehuenche* y *A. montanus*, a pesar de pertenecer a diferentes regímenes evolutivos, se debería a que *A. pehuenche* ha

habitado los ambientes altoandinos acuáticos durante menos tiempo en comparación con *A. montanus*, sugiriendo una evolución convergente incompleta (McGhee, 2021). La diferencia en la antigüedad estimada de *A. pehuenche* en comparación con *A. montanus* apoya esta idea (Figura 7).

El grado de orientación ocular se relaciona directamente con el tipo de hábitat, evidenciando un patrón asociado a ambientes acuáticos, caracterizado por una disminución en el grado de orientación ocular y un incremento en la percepción binocular coherente con el tipo de presas que podrían capturar en estos ambientes. Las especies completamente acuáticas presentan una orientación ocular frontal; por ejemplo, Telmatobius halli, una especie totalmente acuática, posee una orientación ocular aproximada de 45° (Noble et al., 1938; Cei, 1962), aunque datos no publicados y observaciones personales sugieren que este ángulo podría ser considerablemente menor, en promedio 38°. Un amplio campo de percepción binocular facilita la estereopsis, mejorando la visión en ambientes acuáticos para determinar distancia, velocidad e incluso esquivar potenciales presas, siendo fundamental en las interacciones depredador-presa (Tan et al., 2014; Larsson, 2015; Donner & Yovanovich, 2020).

## 6.2.2 Módulo integrado del suspensorio

En la familia Alsodidae, las dos especies acuáticas (*A. montanus* y *A. pehuenche*) se agrupan en el mismo espacio morfo-filogenético, mostrando valores negativos en el CP<sub>1</sub>, que explica el 30% de la variación del suspensorio. Este patrón contrasta con la rana de las rocas (*Limnomedusa macroglossa*), la especie más terrestre de la familia, ubicada en el extremo opuesto del espacio morfo-filogenético, con valores positivos en el CP<sub>1</sub>. Esta especie se posiciona cerca de las demás especies terrestres, que se concentran principalmente en el centro del espacio morfo-filogenético, con valores cercanos a cero. Este rasgo evolucionó bajo un modelo OU de dos tasas, pero *A. pehuenche* no se agrupa con *A. montanus*, sino que se encuentra dentro del régimen evolutivo de las especies terrestres.

La diferenciación en el espacio morfo-filogenético entre especies acuáticas y terrestres resalta cómo la morfología del suspensorio está fuertemente vinculada a estos tipos de hábitats, a pesar de una alta señal filogenética ( $\lambda$  de Pagel = 0.81), aunque este valor no alcanzó significancia estadística (p > 0.05) (Revell, 2024; Revell & Harmon, 2022). Este hallazgo respalda las propuestas de otros estudios, en los que la forma del módulo integrado del suspensorio está fuertemente influenciada por el tipo de hábitat y la dieta, sugiriendo un potencial mecanismo de alimentación

por succión inercial en especies acuáticas (Bardua et al., 2020; Paluh et al., 2020), hecho que promovería la evolución convergente es especies que colonizan este tipo de hábitat, como es el caso de *A. pehuenche* y *A. montanus*.

Las especies altoandinas acuáticas (A. montanus y A. pehuenche) presentan una orientación vertical del hueso escamoso y a su vez, una cabeza más ancha, un pterigoides extendido que cubre gran parte de la cavidad craneal y un cuadrado considerablemente reducido y robusto en la base. Estas estructuras forman parte del módulo integrado del suspensorio, esencial para reforzar y soportar la mandíbula contra el neurocráneo, desempeñando un papel crucial en la alimentación de los anuros. Estudios han demostrado la correlación entre la morfología y orientación del suspensorio con las estrategias de alimentación, donde una mayor verticalidad del escamoso se relaciona con una menor apertura bucal (Bardua et al. 2020). A su vez, un pterigoides más largo conlleva una mayor superficie de protrusión aumentando el volumen de la cavidad bucal y, finalmente, el cuadrado reducido pero robusto ayuda a mantener hermética la boca, características ideales para especies con una preferencia por la succión inercial en hábitat acuáticos (Trueb et al., 1993; Yeh, 2002; Barrionuevo, 2016; Bardua et al., 2020). Esta configuración del módulo integrado del suspensorio, es sugerida como una adaptación morfológica asociada a la succión inercial, un mecanismo de alimentación identificado principalmente en la familia Pipidae. La presencia de este mecanismo en otros linajes de anuros sugiere una convergencia evolutiva hacia la alimentación en ambientes acuáticos (Pethiyagoda et al., 2014; Barrionuevo, 2016; Segall et al., 2016; Herrel et al., 2019). Además, la morfología craneal plana les confiere esta configuración para una mejor movilidad en el medio acuático. En serpientes, justamente especies acuáticas de diversos linajes presentan una cabeza hidrodinámica, plana y ancha, facilitando así la movilidad y fuerza de dirección para la alimentación y con diferencias notables en el pterigoides y un cuadrado más reducido (Segall et al., 2016, 2021).

Este estudio profundiza en la relación entre la morfología craneal, los hábitats y los mecanismos de alimentación de *Alsodes montanus* y *A. pehuenche*, resaltando cómo la forma del módulo integrado del suspensorio, que incluye estructuras como el hueso escamoso, el pterigoides y el cuadrado, evolucionan de manera convergente bajo un modelo de OU de dos tasas. Esta adaptación especializada, vinculada tanto a la alimentación como al hábitat, muestra que *A. montanus* sigue un régimen evolutivo propio, distinto al de otras especies, incluyendo a *A. pehuenche*, la cual, a pesar de ser acuática, se asocia más con las especies terrestres (Trueb et al., 1993; Yeh, 2002; Bardua et al., 2020).

El análisis mediante microtomografía computarizada ( $\mu$ CT) reveló una disminución notable de los dientes vomerianos en *A. montanus* y *A. pehuenche* comparado con especies terrestres del mismo género (Figura S2), lo que se asocia con una adaptación a hábitats totalmente acuáticos y sugiere una dieta especializada (Paluh et al., 2020, 2021). La presencia frecuente de material vegetal en el contenido estomacal de *Telmatobius* y *A. montanus* respalda la hipótesis de una alimentación basada en succión inercial adaptada para maximizar la eficiencia en la captura de alimentos en estos nichos ecológicos (Díaz & Valencia, 1985; Barrionuevo, 2016; Akmentins & Gastón, 2020).

Los análisis filogenéticos y morfológicos proporcionan evidencia de que la evolución del módulo integrado del suspensorio en *A. montanus* y *A. pehuenche* está significativamente influenciada por el entorno acuático y la dieta. Esto demuestra cómo las presiones ambientales y de forrajeo han moldeado las adaptaciones morfológicas y funcionales en estos anuros, destacando la especialización en su alimentación y hábitat que explicaría la convergencia evolutiva.

### 6.3. Convergencia Evolutiva

Este estudio reveló cómo *Alsodes montanus* y *A. pehuenche* exhiben similitudes notables tanto en la orientación ocular como en la estructura del módulo integrado del suspensorio, constituyendo un caso de convergencia evolutiva a pesar de sus distintos regímenes evolutivos dentro de un modelo OU de dos tasas. Originalmente agrupadas bajo el género *Telmalsodes* (Diaz, 1992) debido a sus similitudes morfológicas, estas especies muestran adaptaciones especializadas para la vida acuática y la alimentación, incluida la posible utilización de la succión inercial como mecanismo de alimentación, un comportamiento antes no documentado en la familia Alsodidae.

La succión inercial, identificada como un mecanismo de alimentación complejo y derivado en especies acuáticas de varios linajes, incluidos algunos neobatráquidos como *Lankanectes corrugatus* y *Telmatobius rubigo*, sugiere una convergencia evolutiva en estrategias de alimentación entre distintas familias de anuros (Pethiyagoda et al., 2014; Barrionuevo, 2016; Herrel et al., 2019), acompañada de modificaciones en estructuras craneales. La similitud en la orientación ocular y la morfología del módulo integrado del suspensorio, junto con una dieta predominantemente acuática en *Alsodes* acuáticos, sugiere una adaptación similar hacia la succión inercial. Esta adaptación es subrayada por la presencia de restos

vegetales en el contenido estomacal de estas especies, que probablemente ocurre de forma accidental (Díaz & Valencia, 1985; Barrionuevo, 2016; Akmentins & Gastón, 2020).

La magnitud de la convergencia evolutiva, medida a través de valores del índice de Stayton C1 cercanos a 1, indica que A. montanus y A. pehuenche se han vuelto más similares entre sí, reduciendo significativamente su distancia morfológica en relación con sus ancestros, tanto en la orientación ocular como en la estructura del módulo integrado del suspensorio, a pesar de pertenecer a linajes topológicamente separados en la filogenia. Esta convergencia, aunque incompleta (Collar et al., 2014), destaca las limitaciones y posibilidades del paisaje evolutivo, sugiriendo que las adaptaciones morfológicas y funcionales están influenciadas por la presión selectiva del ambiente acuático altoandino compartido por estas especies (Achaz et al., 2014; Stayton, 2015a; McGhee, 2021). En efecto, ambas están convergiendo hacia un peak adaptativo dentro de una región distinta del morfo-espacio en comparación con sus linajes a través del tiempo (Stayton, 2006; Herrel et al., 2019), aunque una con un mayor tiempo de origen y potencial interacción con ambientes acuáticos (A. montanus), que la otra (A. pehuenche).

Habitar ambientes altoandinos implica que todo organismo tiene que enfrentar condiciones extremas, tales como la aridez, alta radiación, fuertes vientos y temperaturas extremas, que representan un desafío significativo para la supervivencia. A pesar de estos desafíos, algunas especies han desarrollado adaptaciones únicas para sobrevivir (Körner et al., 2017; Huang et al., 2019; Rahbek et al., 2019; Vallejos-Garrido et al., 2023). Los anuros, con poca disponibilidad de fuentes de agua en estos entornos, han logrado colonizarlos y diversificarse, desarrollando adaptaciones particulares (Che et al., 2010; Hofmann et al., 2019; Pham et al., 2022; Sáez et al., 2022; Siliyavong et al., 2023; Tang et al., 2023) que mejoran su supervivencia en comparación con otros organismos no adaptados a este tipo de ambiente (Futuyma & Kirkpatrick, 2017).

Por otra parte, la propuesta y posterior invalidación del género *Telmalsodes* (Diaz, 1992; Lavilla, 1994), refleja la similitud de estas dos especies con el género *Telmatobius*, especies exclusivamente acuáticas del Altiplano. Por lo tanto, futuras investigaciones sobre la convergencia evolutiva entre especies acuáticas de estos géneros, de distintas familias, podrían arrojar luz sobre las adaptaciones a los medios extremos en las alturas de la Cordillera de los Andes.

# 7. CONCLUSIÓN

En este estudio se han proporcionado nuevas perspectivas y los primeros análisis explícitos sobre la evolución morfológica de la familia Alsodidae, con especial énfasis en las únicas dos especies consideradas acuáticas: *Alsodes montanus* y *Alsodes pehuenche*. La actualización de la hipótesis filogenética, que ahora incluye a casi todos los representantes de la familia, ha evidenciado que estas especies acuáticas altoandinas han evolucionado de forma independiente, teniendo un ancestro común más reciente hace aproximadamente 20 millones de años. Los rasgos anatómicos estudiados habrían evolucionado por adaptaciones convergentes, aunque con una convergencia no completa.

La convergencia evolutiva observada sugiere un proceso de innovación constante en respuesta a condiciones ambientales desafiantes, donde la selección natural ha favorecido aquellas características que optimizan la supervivencia y la eficiencia alimentaria en contextos específicos. A pesar de las limitaciones impuestas por su historia evolutiva común, la hipótesis de convergencia evolutiva entre los *Alsodes* altoandinos se sustenta, a pesar de que *A. pehuenche* es una especie que ha colonizado recientemente las alturas y ambientes acuáticos, por lo que aún refleja la influencia de su legado evolutivo terrestre. Los resultados indican que *A. pehuenche* 

no comparte los mismos regímenes evolutivos que *A. montanus*. Esta convergencia incompleta, es decir, las similitudes parciales entre especies de ecosistemas similares, subraya que los procesos adaptativos son complejos y no lineales, y su comprensión a menudo depende del marco temporal geológico considerado.

En conclusión, esta investigación contribuye al entendimiento de cómo los organismos desarrollan adaptaciones convergentes en respuesta a presiones ambientales similares, incluso cuando pertenecen a linajes que se separaron hace millones de años. Estos hallazgos abren la posibilidad de comprender integralmente el origen de la biodiversidad de anuros altoandinos, integrando procesos evolutivos temporalmente variables para partir de futuras investigaciones sobre la ecología, morfología y biología evolutiva de la amplia diversidad del neotrópico y en especial de los residentes en las alturas de los Andes.

### REFERENCIAS

- Achaz, G., Rodriguez-Verdugo, A., Gaut, B. S., & Tenaillon, O. (2014). The reproducibility of adaptation in the light of experimental evolution with whole genome sequencing. *Ecological genomics: Ecology and the evolution of genes and genomes*, 211–231.
- Adams, D. C., & Collyer, M. L. (2018). Multivariate Phylogenetic Comparative Methods: Evaluations, Comparisons, and Recommendations. *Systematic Biology*, 67(1), 14–31. https://doi.org/10.1093/SYSBIO/SYX055
- Adams, D., Collyer, M., Kaliontzopoulou, A., & Baken, E. (2023). *Geomorph: Software for* geometric morphometric analyses. https://cran.r-project.org/package=geomorph
- Akmentins, M. S., & Gastón, M. S. (2020). Feeding habits of the threatened aquatic Andean frog Telmatobius rubigo (Anura: Telmatobiidae).
- Arbuckle, K., Bennett, C. M., & Speed, M. P. (2014). A simple measure of the strength of convergent evolution. *Methods in Ecology and Evolution*, 5(7), 685–693.
- Arbuckle, K., & Speed, M. P. (2016). Analysing convergent evolution: a practical guide to methods. En Evolutionary biology: convergent evolution, evolution of complex traits, concepts and methods (pp. 23–36). Springer.
- Bardua, C., Fabre, A.-C., Bon, M., Das, K., Stanley, E. L., Blackburn, D. C., & Goswami,A. (2020). Evolutionary integration of the frog cranium. *Evolution*, 74(6), 1200–1215.
- Bardua, C., Fabre, A.-C., Clavel, J., Bon, M., Das, K., Stanley, E. L., Blackburn, D. C., & Goswami, A. (2021). Size, microhabitat, and loss of larval feeding drive cranial diversification in frogs. *Nature communications*, 12(1), 2503.
- Barrionuevo, J. S. (2016). Independent Evolution of Suction Feeding in Neobatrachia:
  Feeding Mechanisms in Two Species of Telmatobius (Anura: Telmatobiidae).
  Anatomical Record, 299(2). https://doi.org/10.1002/ar.23292
- Bels, V. L., & Russell, A. P. (2023). The Concept of Convergent Evolution and Its Relationship to the Understanding of Form and Function. 1–20. https://doi.org/10.1007/978-3-031-11441-0 1
- Bels, V., & Whishaw, I. Q. (2019). Feeding in vertebrates: evolution, morphology, behavior, biomechanics. Springer.
- Blotto, B. L., Nunez, J. J., Basso, N. G., Ubeda, C. A., Wheeler, W. C., & Faivovich, J. (2013). Phylogenetic relationships of a Patagonian frog radiation, the Alsodes+
  Eupsophus clade (Anura: Alsodidae), with comments on the supposed paraphyly of Eupsophus. *Cladistics*, 29(2), 113–131.
- Brightly, W. H., & Stayton, C. T. (2023). *convevol: Analysis of Convergent Evolution*. https://CRAN.R-project.org/package=convevol
- Buckley, L. B., Hurlbert, A. H., & Jetz, W. (2012). Broad-scale ecological implications of ectothermy and endothermy in changing environments. *Global Ecology and Biogeography*, 21(9), 873–885.
- Busse, K. (1980). Zur morphologie und biologie von Telmatobius montanus Lataste 1902, nebst Beschreibung seiner Larve. *Amphibia-Reptilia*, *1*(2), 113–125.
- Buttimer, S. M., Stepanova, N., & Womack, M. C. (2020). Evolution of the unique anuran pelvic and hind limb skeleton in relation to microhabitat, locomotor mode, and jump performance. *Integrative and Comparative Biology*, 60(5), 1330–1345.
- Carreño, C. A., & Nishikawa, K. C. (2010). Aquatic feeding in pipid frogs: the use of suction for prey capture. *Journal of Experimental Biology*, *213*(12), 2001–2008.
- Castiglione, S., Serio, C., Tamagnini, D., Melchionna, M., Mondanaro, A., Di Febbraro, M., Profico, A., Piras, P., Barattolo, F., & Raia, P. (2019). A new, fast method to search for morphological convergence with shape data. *PloS one*, *14*(12), e0226949.
- Cei, J. M. (1962). Batracios de Chile. Ediciones de la Universidad de Chile. Santiago, 14.
- Cei, J. M., & Roig, V. G. (1965). The systematic status and biology of Telmatobius montanus Lataste (Amphibia, Leptodactylidae). *Copeia*, 421–425.
- Charrier, A., Mora, M., Correa, C., & Palma, E. (2017). Monitoreo y conservación de anfibios alto andinos de la Región Metropolitana. Ministerio del Medio Ambiente, Fondo de Protección Ambiental.
- Che, J., Zhou, W.-W., Hu, J.-S., Yan, F., Papenfuss, T. J., Wake, D. B., & Zhang, Y.-P. (2010). Spiny frogs (Paini) illuminate the history of the Himalayan region and Southeast Asia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(31), 13765– 13770. https://doi.org/10.1073/pnas.1008415107

- Collar, D. C., Reece, J. S., Alfaro, M. E., Wainwright, P. C., & Mehta, R. S. (2014).
   Imperfect morphological convergence: variable changes in cranial structures underlie transitions to durophagy in moray eels. *The American Naturalist*, 183(6), E168–E184.
- Cooper A, W. J., & Steppan A, S. J. (2010). Developmental constraint on the evolution of marsupial forelimb morphology. *Australian Journal of Zoology*, *58*, 1–15.
- Corbalán, V., Debandi, G., & Mart\'\inez, F. (2010). Alsodes pehuenche (Anura: Cycloramphidae): Past, present and future. *Cuadernos de herpetolog\'\ia*, 24(1), 17–23.
- Corbalán, V., Debandi, G., Mart\'\inez, F., & Úbeda, C. (2014). Prolonged larval development in the Critically Endangered Pehuenche's frog Alsodes pehuenche: implications for conservation. *Amphibia-Reptilia*, *35*(3), 283–292.
- Correa, C., Morales, J. A., Schussler, C., & Ortiz, J. C. (2020). An enigmatic population of Alsodes (Anura, Alsodidae) from the Andes of central Chile with three species-level mitochondrial lineages. *Mitochondrial DNA Part A: DNA Mapping, Sequencing, and Analysis*, 31(1). https://doi.org/10.1080/24701394.2019.1704744
- Correa, C., Zepeda, P., Lagos, N., Salinas, H., Palma, R. E., & Vásquez, D. (2018). New populations of two threatened species of Alsodes (Anura, Alsodidae) reveal the scarce biogeographic knowledge of the genus in the Andes of central Chile. *Zoosystematics* and Evolution, 94(2), 349–358.
- Cundall, D., Fernandez, E., & Irish, F. (2017). The suction mechanism of the pipid frog, Pipa pipa (Linnaeus, 1758). *Journal of Morphology*, 278(9), 1229–1240. https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jmor.20707
- Darwin, C. (1859). On the origins of species by means of natural selection. *London: Murray*, 247, 1859.
- Deban, S. M., O'Reilly, J. C., & Nishikawa, K. C. (2001). The evolution of the motor control of feeding in amphibians. *American Zoologist*, *41*(6), 1280–1298.
- Diaz, N. F. (1992). Phenetic and phylogenetic relationships of the Chilean Alsodes and Telmatobius (Amphibia, Leptodactylidae) and proposal of a new genus. *Studies on neotropical fauna and environment*, 27(1), 1–8.
- Díaz, N. F., & Valencia, J. (1985). Microhabitat utilization by two leptodactylid frogs in the Andes of central Chile. *Oecologia*, *66*(3), 353–357.

- Donner, K., & Yovanovich, C. A. M. (2020). A frog's eye view: Foundational revelations and future promises. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, *106*, 72–85.
- Dubois, A., Ohler, A., & Pyron, R. A. (2021). New concepts and methods for phylogenetic taxonomy and nomenclature in zoology, exemplified by a new ranked cladonomy of recent amphibians (Lissamphibia). *Megataxa*, 5(1), 1–738.
- Dudkin, E. A., Peiffer, T., Burkitt, B., Neeb, C. N., & Gruberg, E. R. (2011). Leopard frog priorities in choosing between prey at different locations. *Behavioural processes*, 86(1), 138–142.
- 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. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/ele.13246
- Fabre, A. C., Bardua, C., Bon, M., Clavel, J., Felice, R. N., Streicher, J. W., Bonnel, J., Stanley, E. L., Blackburn, D. C., & Goswami, A. (2020). Metamorphosis shapes cranial diversity and rate of evolution in salamanders. *Nature Ecology & Evolution* 2020 4:8, 4(8), 1129–1140. https://doi.org/10.1038/s41559-020-1225-3
- Ferguson-Gow, H. (2024). *BTprocessR: A set of tools to help with the interpretation and analysis of the output of BayesTraits MCMC analyses.*
- Fernandez, E., Irish, F., & Cundall, D. (2017). How a frog, Pipa pipa, succeeds or fails in catching fish. *Copeia*, *105*(1), 108–119.
- Fite, K. V. (1973). The visual fields of the frog and toad: a comparative study. *Behavioral Biology*, *9*(6), 707–718.
- Foote, M. (1997). The evolution of morphological diversity. *Annual Review of Ecology and Systematics*, *28*(1), 129–152.
- Frost, D. R. (2023). *Amphibian Species of the World: an Online Reference*. https://doi.org/10.5531/db.vz.0001
- Futuyma, D. J., & Kirkpatrick, M. (2017). Evolution (4<sup>a</sup> ed.). Sinauer Associates is an imprint of Oxford University Press.
- Garland Kathleen & Marcy, A. & S. E. & W. V. (2017). Out on a limb: bandicoot limb covariation suggests complex impacts of development and adaptation on marsupial forelimb evolution. *Evolution & Development*, 19(2), 69–84.

- Gould, S. J., & Lewontin, R. C. (1979). 5 the spandrels of san marco and the panglossian paradigm: A critique of the adaptationist programme. *Conceptual Issues in Evolutionary Biology*, 205, 79.
- Grossnickle, D. M., Brightly, W. H., Weaver, L. N., Stanchak, K. E., Roston, R. A., Pevsner,
  S. K., Stayton, C. T., Polly, P. D., & Law, C. J. (2022). A cautionary note on
  quantitative measures of phenotypic convergence. *bioRxiv*, 2010–2022.
- Grossnickle, D. M., Brightly, W. H., Weaver, L. N., Stanchak, K. E., Roston, R. A., Pevsner, S. K., Stayton, C. T., Polly, P. D., & Law, C. J. (2023). Challenges and advances in methods for measuring phenotypic convergence. *bioRxiv*, 2022.10.18.512739. https://doi.org/10.1101/2022.10.18.512739
- Harvey, P. H., & Purvis, A. (1991). Comparative methods for explaining adaptations. *Nature*, *351*(6328), 619–624.
- Heard, S. B., & Hauser, D. L. (1995). Key evolutionary innovations and their ecological mechanisms. *Historical biology*, 10(2), 151–173.
- Heiss, E., & Lemell, P. (2023). *Aquatic Feeding in Lissamphibia*. 115–139. https://doi.org/10.1007/978-3-031-11441-0\_6
- Herrel, A., O'Reilly, J. C., Fabre, A.-C., Bardua, C., Lowie, A., Boistel, R., & Gorb, S. N. (2019). Feeding in amphibians: evolutionary transformations and phenotypic diversity as drivers of feeding system diversity. *Feeding in vertebrates: evolution, morphology, behavior, biomechanics*, 431–467.
- Hime, P. M., Lemmon, A. R., Lemmon, E. C. M., Prendini, E., Brown, J. M., Thomson, R. C., Kratovil, J. D., Noonan, B. P., Pyron, R. A., Peloso, P. L. V, & others. (2021).
  Phylogenomics reveals ancient gene tree discordance in the amphibian tree of life. *Systematic biology*, *70*(1), 49–66.
- Ho, S. Y. W., Tong, K. J., Foster, C. S. P., Ritchie, A. M., Lo, N., & Crisp, M. D. (2015).Biogeographic calibrations for the molecular clock. *Biology letters*, *11*(9), 20150194.
- Hofmann, S., Baniya, C. B., Litvinchuk, S. N., Miehe, G., Li, J.-T., & Schmidt, J. (2019).
  Phylogeny of spiny frogs Nanorana (Anura: Dicroglossidae) supports a Tibetan origin of a Himalayan species group. *Ecology and Evolution*, 9(24), 14498–14511.

- Huang, S., Meijers, M. J. M., Eyres, A., Mulch, A., & Fritz, S. A. (2019). Unravelling the history of biodiversity in mountain ranges through integrating geology and biogeography. *Journal of Biogeography*, 46(8), 1777–1791.
- Hunter, L. E. (2021). Digest: Taxonomically inclusive and quantitative tests for convergence. *Evolution*, 75(7), 1900–1901.
- Hunter, M. (2011). Using ecological theory to guide urban planting design: An adaptation strategy for climate change. *Landscape Journal*, *30*(2), 173–193.
- Ingram, T., & Mahler, D. L. (2013). SURFACE: detecting convergent evolution from comparative data by fitting Ornstein-Uhlenbeck models with stepwise Akaike Information Criterion. *Methods in Ecology and Evolution*, 4(5), 416–425.
- Jian, Y., Chen, C., & Liao, W. (2022). Anuran interorbital distance variation: the role of ecological and behavioral factors. *Integrative Zoology*, 17(5), 777–786. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1749-4877.12653
- King, J. R., & Comer, C. M. (1996). Visually elicited turning behavior in Rana pipiens: comparative organization and neural control of escape and prey capture. *Journal Of Comparative Physiology A*, 178, 293–305.
- Körner, C., Jetz, W., Paulsen, J., Payne, D., Rudmann-Maurer, K., & M Spehn, E. (2017). A global inventory of mountains for bio-geographical applications. *Alpine Botany*, *127*, 1–15.
- Larsson, M. L. (2015). Binocular vision, the optic chiasm, and their associations with vertebrate motor behavior. *Frontiers in Ecology and Evolution*, *3*, 89.
- Lavilla, E. O. (1994). Comentarios sobre el género Telmalsodes Díaz, 1989 (Anura: Leptodactylidae). *Boletín de la Asociación Herpetológica Argentina*, *10*(1), 15–18.
- Losos, J. B. (2011). Convergence, adaptation, and constraint. Evolution, 65(7), 1827–1840.
- Mahler, D. L., Ingram, T., Revell, L. J., & Losos, J. B. (2013). Exceptional convergence on the macroevolutionary landscape in island lizard radiations. *Science*, 341(6143), 292– 295.
- Mahler, D. L., Weber, M. G., Wagner, C. E., & Ingram, T. (2017). Pattern and process in the comparative study of convergent evolution. *The American Naturalist*, 190(S1), S13– S28.

- Martin, D., & Rybicki, E. (2000). RDP: detection of recombination amongst aligned sequences. *Bioinformatics*, *16*(6), 562–563.
- McGhee, G. R. (2021). Convergence. En G. B. de la Rosa Laura and Müller (Ed.), *Evolutionary Developmental Biology: A Reference Guide* (pp. 181–192). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-32979-6\_124
- Melchionna, M., Profico, A., Castiglione, S., Serio, C., Mondanaro, A., Modafferi, M., Tamagnini, D., Maiorano, L., Raia, P., Witmer, L. M., Wroe, S., & Sansalone, G. (2021). A method for mapping morphological convergence on three-dimensional digital models: the case of the mammalian sabre-tooth. *Palaeontology*, 64(4), 573– 584. https://doi.org/10.1111/PALA.12542
- Mella-Romero, J., Mella, J., Munoz, C., & Correa, C. (2022). Range extension of Catedral spiny-chest frog, Alsodes gargola Gallardo, 1970: a record in an unknown road of the Chilean Patagonia. *GAYANA*, 86(1), 22–29.
- Moen, D. S. (2019). What determines the distinct morphology of species with a particular ecology? The roles of many-to-one mapping and trade-offs in the evolution of frog ecomorphology and performance. *American Naturalist*, 194(4). https://doi.org/10.1086/704736
- Moen, D. S., Irschick, D. J., & Wiens, J. J. (2013). Evolutionary conservatism and convergence both lead to striking similarity in ecology, morphology and performance across continents in frogs. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 280(1773), 20132156.
- Moen, D. S., Morlon, H., & Wiens, J. J. (2016). Testing convergence versus history: convergence dominates phenotypic evolution for over 150 million years in frogs. *Systematic Biology*, 65(1), 146–160.
- Münkemüller, T., Gallien, L., Pollock, L. J., Barros, C., Carboni, M., Chalmandrier, L., Mazel, F., Mokany, K., Roquet, C., Smyčka, J., & others. (2020). Dos and don'ts when inferring assembly rules from diversity patterns. *Global Ecology and Biogeography*, 29(7), 1212–1229.
- Münkemüller, T., Lavergne, S., Bzeznik, B., Dray, S., Jombart, T., Schiffers, K., & Thuiller,
  W. (2012). How to measure and test phylogenetic signal. *Methods in Ecology and Evolution*, 3(4), 743–756.

- Nishikawa, K. C. (2000). Feeding in frogs. *Feeding: Form, function, and evolution in tetrapod vertebrates*, 117–147.
- Noble, G. K., Hall, F. G., & others. (1938). A new species of frog of the genus Telmatobius from Chile. American Museum novitates; no. 973.
- Paluh, D. J., Riddell, K., Early, C. M., Hantak, M. M., Jongsma, G. F. M., Keeffe, R. M., Magalhães Silva, F., Nielsen, S. V, Vallejo-Pareja, M. C., Stanley, E. L., & Blackburn, D. C. (2021). Rampant tooth loss across 200 million years of frog evolution. *eLife*, 10, e66926. https://doi.org/10.7554/eLife.66926
- Paluh, D. J., Stanley, E. L., & Blackburn, D. C. (2020). Evolution of hyperossification expands skull diversity in frogs. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *117*(15), 8554–8562. https://doi.org/10.1073/pnas.2000872117
- Paradis, E., & Schliep, K. (2019). ape 5.0: an environment for modern phylogenetics and evolutionary analyses in R. *Bioinformatics*, 35, 526–528. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty633
- Pethiyagoda, R., Manamendra-Arachchi, K., & Sudasinghe, H. (2014). Underwater and terrestrial feeding in the Sri Lankan wart-frog, Lankanectes corrugatus.
- Pham, C. T., Hoang, C. Van, Phan, T. Q., Nguyen, T. Q., & Ziegler, T. (2022). Hidden in the jungle of Vietnam: a new species of Quasipaa (Amphibia, Anura, Dicroglossidae) from Ngoc Linh Mountain. *ZooKeys*, *1124*, 23–42. https://doi.org/10.3897/zookeys.1124.89282
- Pontarotti, P. (2017). Evolutionary biology: self/nonself evolution, species and complex traits evolution, methods and concepts. Springer.
- Portik, D. M., Streicher, J. W., & Wiens, J. J. (2023). Frog phylogeny: a time-calibrated, species-level tree based on hundreds of loci and 5,242 species. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 188, 107907.
- Price, T. (1997). Correlated evolution and independent contrasts. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, *352*(1352), 519–529.
- Rahbek, C., Borregaard, M. K., Colwell, R. K., Dalsgaard, B. O., Holt, B. G., Morueta-Holme, N., Nogues-Bravo, D., Whittaker, R. J., & Fjeldså, J. (2019). Humboldt's

enigma: What causes global patterns of mountain biodiversity? *Science*, *365*(6458), 1108–1113.

- Ramirez-Alvarez, D., & Peñaloza, D. (2020). Confirmación de la presencia de Alsodes cantillanensis Charrier, Correa, Castro & Méndez 2015 (Anura, Alsodidae) en Cerro Poqui, Coltauco, Región de O'Higgins, Chile. Notas sobre su plan de rescate y estado de conservación. *Boletín Chileno de Herpetología*, 7, 51–54.
- Revell, L. J. (2024). phytools 2.0: an updated R ecosystem for phylogenetic comparative methods (and other things). *PeerJ*, *12*, e16505.
- Revell, L. J., & Harmon, L. J. (2022). *Phylogenetic comparative methods in R*. Princeton University Press.
- Rezende, E. L., & Diniz-Filho, J. A. F. (2011). Phylogenetic analyses: comparing species to infer adaptations and physiological mechanisms. *Comprehensive Physiology*, 2(1), 639–674.
- Sáez, P. A., Zúñiga-Reinoso, Á., Fibla, P., Cruz-Jofré, F., Aguilar, C., Aparicio, J., Cusi, J.
  C., Otálora, K., & Méndez, M. A. (2022). Phylogeny of Telmatobius marmoratus complex (Anura, Telmatobiidae) reveals high cryptic diversity in the Andean Altiplano. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 176, 107594.
- Segall, M., Cornette, R., Fabre, A.-C., Godoy-Diana, R., & Herrel, A. (2016). Does aquatic foraging impact head shape evolution in snakes? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 283(1837), 20161645. https://doi.org/10.1098/rspb.2016.1645
- Segall, M., Cornette, R., Rasmussen, A. R., & Raxworthy, C. J. (2021). Inside the head of snakes: influence of size, phylogeny, and sensory ecology on endocranium morphology. *Brain Structure and Function*, 226(7), 2401–2415.
- Sherratt, E., Vidal-Garc\'\ia, M., Anstis, M., & Keogh, J. S. (2017). Adult frogs and tadpoles have different macroevolutionary patterns across the Australian continent. *Nature Ecology & Evolution*, 1(9), 1385–1391.
- Siliyavong, S., Hoang, N. Van, Nguyen, T. T., Nguyen, T., & Pham, A. Van. (2023). New record and dietary ecology of a poorly known frog, Amolops shihaitaoi Wang, Li, Du, Hou & Yu, 2022 (Amphibia, Anura, Ranidae), from Ha Giang Province, Vietnam. *Biodiversity Data Journal*, *11*. https://doi.org/10.3897/BDJ.11.E104316

- Stayton, C. T. (2006). Testing hypotheses of convergence with multivariate data: morphological and functional convergence among herbivorous lizards. *Evolution*, 60(4), 824–841.
- Stayton, C. T. (2015a). The definition, recognition, and interpretation of convergent evolution, and two new measures for quantifying and assessing the significance of convergence. *Evolution*, 69(8), 2140–2153. https://doi.org/10.1111/EVO.12729
- Stayton, C. T. (2015b). What does convergent evolution mean? The interpretation of convergence and its implications in the search for limits to evolution. *Interface focus*, 5(6), 20150039.
- Stoessel, A., Kilbourne, B. M., & Fischer, M. S. (2013). Morphological integration versus ecological plasticity in the avian pelvic limb skeleton. *Journal of Morphology*, 274(5), 483–495.
- Suárez-Villota, E. Y., Quercia, C. A., D\'\iaz, L. M., Vera-Sovier, V., & Nuñez, J. J. (2018). Speciation in a biodiversity hotspot: phylogenetic relationships, species delimitation, and divergence times of Patagonian ground frogs from the Eupsophus roseus group (Alsodidae). *PloS One*, *13*(12), e0204968.
- Tan, N., Sinha, A., & Mohan, R. E. (2014). Design and realization of the biomimetic predator-prey vision based on a self-reconfigurable robot. 2014 IEEE International Conference on Robotics and Biomimetics (ROBIO 2014), 2643–2648. https://doi.org/10.1109/ROBIO.2014.7090741
- Tang, S., Liu, S., & Yu, G. (2023). A New Species of Nanorana (Anura: Dicroglossidae) from Northwestern Yunnan, China, with Comments on the Taxonomy of Nanorana arunachalensis and Allopaa. *Animals*, 13(21), 3427.
- Trueb, L., Hanken, J., & Hall, B. K. (1993). Patterns of cranial diversity among the Lissamphibia. *The skull*, 2, 255–343.
- Uyeda, J. C., Eastman, J., & Harmon, L. (2020). *bayou: Bayesian Fitting of Ornstein-Uhlenbeck Models to Phylogenies*.
- Vallejos-Garrido, P., Pino, K., Espinoza-Aravena, N., Pari, A., Inostroza-Michael, O., Toledo-Muñoz, M., Castillo-Ravanal, B., Romero-Alarcón, V., Hernández, C. E., Palma, R. E., & others. (2023). The importance of the Andes in the evolutionary

radiation of Sigmodontinae (Rodentia, Cricetidae), the most diverse group of mammals in the Neotropics. *Scientific Reports*, *13*(1), 2207.

- Vermeij, G. J. (2001). Innovation and evolution at the edge: origins and fates of gastropods with a labral tooth. *Biological Journal of the Linnean Society*, *72*(4), 461–508.
- Vidal-Garc\'\ia, M., Byrne, P. G., Roberts, J. D., & Keogh, J. S. (2014). The role of phylogeny and ecology in shaping morphology in 21 genera and 127 species of A ustralo-P apuan myobatrachid frogs. *Journal of evolutionary biology*, 27(1), 181–192.
- Vidal-García, M., & Keogh, J. S. (2017). Phylogenetic conservatism in skulls and evolutionary lability in limbs - Morphological evolution across an ancient frog radiation is shaped by diet, locomotion and burrowing. *BMC Evolutionary Biology*, *17*(1). https://doi.org/10.1186/s12862-017-0993-0
- Vitt, L. J., & Caldwell, J. P. (2013). Herpetology: An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles: Fourth Edition. En Herpetology: An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles: Fourth Edition. https://doi.org/10.1016/C2010-0-67152-5
- Watanabe, J. (2018). Clade-specific evolutionary diversification along ontogenetic major axes in avian limb skeleton. *Evolution*, 72(12), 2632–2652.
- Wiens, J. J. (1993). Herpetology. An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles.–G.
  R. Zug. 1993. Academic Press, San Diego, xii + 527 pp. 50.00 (cloth). *Systematic Biology*, 42(4). https://doi.org/10.1093/sysbio/42.4.592
- Wysocki, M. A. (2019). Fossil evidence of evolutionary convergence in juvenile dental morphology and upper canine replacement in sabertooth carnivores. *Ecology and Evolution*, *9*(22), 12649–12657.
- Xia, X. (2018). DAMBE7: New and improved tools for data analysis in molecular biology and evolution. *Molecular biology and evolution*, *35*(6), 1550–1552.
- Yeh, J. (2002). THE EVOLUTION OF DEVELOPMENT: TWO PORTRAITS OF SKULL OSSIFICATION IN PIPOID FROGS. *Evolution*, 56(12), 2484–2498. https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2002.tb00173.x
- Zelditch, M. L., Ye, J., Mitchell, J. S., & Swiderski, D. L. (2017). Rare ecomorphological convergence on a complex adaptive landscape: Body size and diet mediate evolution of jaw shape in squirrels (Sciuridae). *Evolution*, 71(3), 633–649. https://doi.org/10.1111/evo.13168

## ANEXOS

## Tablas suplementarias

 Tabla S1. Datos genéticos de las especies estudiadas, código corresponde a número Genbank.

Especie	Voucher	Cytb	12S-16S	Rho	Sia
Alsodes barrioi	IZUA_3549	JX203940	JX204153	JX204089	JX204224
Alsodes cantillanensis	SSUC-Am-168	KJ418844	KJ418835	KJ418853	KJ418862
Alsodes coppingeri	IZUA_3553	JX203948	JX204161	JX204097	JX204232
Alsodes gargola	IZUA_3573	JX203951	JX204164	JX204100	JX204235
Alsodes hugoi	IZUA_3554	JX203956	JX204169	JX204102	JX204237
Alsodes igneus	IZUA_3555	JX203957	JX204170	JX204103	JX204238
Alsodes montanus	AMon1	Esta tesis	Esta tesis	Esta tesis	Esta tesis
Alsodes neuquensis	MACN_38973	-	JX204173	JX204106	-
Alsodes nodosus	DBGUCH_0701276a	KJ418851	KJ418842	KJ418860	KJ418869
Alsodes norae	IZUA_3563	JX203961	JX204175	JX204108	JX204242
Alsodes pehuenche	IZUA_3559	JX203962	JX204176	JX204109	JX204243
Alsodes tumultuosus	IZUA_3565	JX203969	JX204184	JX204116	JX204249
Alsodes valdiviensis	IZUA_3568	JX203972	JX204187	JX204119	JX204251
Alsodes vanzolinii	IZUA_3570	JX203974	JX204189	JX204121	JX204253
Alsodes verrucosus	IZUA_3577	JX203977	JX204192	JX204124	JX204256
Eupsophus altor	LabHerp_PO1h	KY826236	KY826296	KY826356	-
Eupsophus calcaratus	IZUA_3582	JX203985	JX204200	JX204131	JX204264
Eupsophus contulmoensis	IZUA_3583	JX203987	JX204202	JX204133	JX204265
Eupsophus emiliopugini	IZUA_3585	JX203988	JX204204	JX204135	JX204267
Eupsophus insularis	IZUA_3588	JX203991	JX204207	JX204138	JX204270
Eupsophus migueli	IZUA_3592	JX203993	JX204210	JX204141	JX204273
Eupsophus nahuelbutensis	IZUA_3594	JX203994	JX204211	JX204142	JX204274
Eupsophus roseus	IZUA_3597	JX203997	JX204214	JX204145	JX204277
Eupsophus septentrionalis	IZUA_3600	JX204001	JX204218	JX204149	JX204281
Eupsophus vertebralis	IZUA_3605	JX204004	JX204221	JX204151	JX204284
Limnomedusa macroglossa	MACN_38641	AY843935	AY843689	AY844682	AY844891

**Tabla S2**: Probabilidad de hábitats ancestrales correspondiente a cada nodo de la hipótesis filogenética de la Figura 7. Con negrita se indica el estado más probable de cada nodo.

	Pr	obabilidad hábitat	t
Nodo	Acuática	Semi-Acuática	Terrestre
26	0,07	0,09	0,84
27	0,07	0,09	0,84
28	0,07	0,09	0,83
29	0,08	0,10	0,82
30	0,13	0,13	0,74
31	0,27	0,22	0,51
32	0,30	0,30	0,40
33	0,43	0,40	0,17
34	0,28	0,58	0,14
35	0,23	0,69	0,08
36	0,16	0,75	0,09
37	0,16	0,37	0,46
38	0,02	0,04	0,94
39	0,07	0,09	0,84
40	0,07	0,08	0,85
41	0,07	0,09	0,84
42	0,07	0,09	0,85
43	0,06	0,08	0,87
44	0,05	0,07	0,88
45	0,00	0,02	0,98
46	0,03	0,05	0,92
47	0,01	0,03	0,95
48	0,01	0,02	0,97
49	0,02	0,04	0,95

**Tabla S3:** Hábitat asociado a cada especie de la familia Alsodidae. T: Terrestre, A: Acuático y S-A: semiacuático. CP indica valores de componentes principales; ID-Museo indica especies que fueron escaneadas bajo microtomografía computarizadas y respectivos ejemplares de museo. Todos los datos corresponden a este estudio.

Especie	Hábitat	Ángulo °	$CP_1$	CP <sub>2</sub>	CP <sub>3</sub>	CP <sub>4</sub>	CP5	CP <sub>6</sub>	CP <sub>7</sub>	CP <sub>8</sub>	CP9	CP10	CP11	CP <sub>12</sub>	<b>CP</b> <sub>13</sub>	ID-Museo
Alsodes cantillanensis	т	53,4	-0.0539	0.0332	-0.0387	-0.0095	-0.0578	-0.0346	-0.0036	-0.0036	0.0009	0.0061	-0.0109	0.0364	-0.0473	MZUC3990
Alsodes coppingeri	Т	53,1	-0.0461	-0.0046	-0.0250	0.0382	0.0251	0.0298	0.0065	0.0065	0.0455	0.0283	-0.0307 (	0.0323	0.0110	MZUC39901
Alsodes montanus	А	41,4	-0.1798	-0.0455	0.1386	-0.0696	-0.0054	0.0007	0.0105	0.0105	0.0083	0.0203	-0.0203 (	0.0171	0.0042	MZUC39903
Alsodes nodosus	Т	53,1	0.0297	0.0053	0.0478	-0.0134	0.0525	0.0198	0.0098	0.0098	0.0059	0.0061	-0.0113 (	0.0338	-0.0506	MZUC24653
Alsodes pehuenche	А	45,2	-0.1568	-0.0018	-0.0549	-0.0127	0.0775	-0.0484	0.0099	0.0099	0.0274	0.0094	-0.0227 (	0.0355	0.0147	MZUC39905
Alsodes tumultuosus	S-A	52,3	0.0328	-0.0051	0.0044	-0.0327	0.0375	-0.0735	0.0266	0.0266	0.0395	0.0168	-0.0234 (	0.0374	0.0170	MZUC24672
Alsodes vanzolinii	Т	53,2	0.0008	-0.0384	-0.0099	0.0118	-0.0039	0.0245	0.0562	0.0562	-0.0389	-0.0246	-0.0084 (	0.0461	-0.0079	MZUC12221
Eupsophus calcaratus	Т	55,7	0.0262	-0.0037	-0.0604	-0.0598	0.0231	0.0101	0.0024	0.0024	0.0210	-0.0517	-0.0135 -	-0.0350	-0.0112	MZUC11920
Eupsophus contulmoensis	Т	54,6	0.0106	0.0300	-0.0951	-0.0570	-0.0074	0.0229	0.0568	0.0568	-0.0021	0.0106	-0.0305 -	-0.0416	-0.0060	MZUC36519
Eupsophus emiliopugini	Т	-	-0.0626	-0.0015	-0.0201	-0.0021	-0.0204	0.0186	0.0565	0.0565	0.0418	-0.0072	0.0533 -	-0.0136	-0.0035	MZUC25240
Eupsophus migueli	Т	53,8	-0.0076	0.0165	-0.0240	-0.0236	-0.0498	0.0311	0.0306	0.0306	0.0263	-0.0376	-0.0391 -	-0.0255	0.0024	MZUC36626
Eupsophus nahuelbutensis	Т	53,5	-0.0074	-0.0821	-0.0591	0.0078	-0.0091	-0.0139	0.0533	0.0533	0.0063	-0.0020	-0.0341 -	-0.0467	-0.0124	MZUC626650
Eupsophus roseus	Т	54,1	-0.0160	0.0834	-0.0345	0.0007	0.0006	-0.0054	0.0634	0.0634	0.0001	-0.0032	-0.0334 -	-0.0463	-0.0085	MZUC44336

Anexo

Limnomedusa macroglossa	Т	58,2	0.0991	0.0150	0.0232	0.0452	-0.0006	-0.0112	-0.0742	-0.0742	-0.0388	0.0160	0.0195	-0.0123	0.0220	CM55388
Alsodes gargola	S-A	53,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Alsodes igneus	Т	50,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Alsodes neuquensis	S-A	50,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Alsodes norae	Т	51,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Alsodes hugoi	Т	51,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Alsodes verrucosus	Т	54,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Alsodes valdiviensis	Т	52,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Eupsophus altor	Т	53,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Eupsophus insularis	Т	51,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Eupsophus septentrionalis	Т	53,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Eupsophus vertebralis	Т	52,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

1

## **Figuras Suplementarias**



**Figura S1**: Desviación estándar de los 13 componentes principales de la variación total en la forma del suspensorio, donde los 9 iniciales explican el 95%.



**Figura S2:** Comparación de la forma del suspensorio entre la especie acuática *A. montanus* y la especie terrestre *A. vanzolinii*; se observa una considerable disminución del vómer en *A. montanus*.