



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA

“Reconstrucción de las transiciones de hábitat en la historia evolutiva del clado Crocodylia”

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado en Biología

Autor

Camila Andrea Zamora Vega

Asesor

Dr. Rodolfo Martin Salas Gismondi

Co-Asesor

Dr. Pedro Eduardo Romero Condori

Lima, Perú

2024

Jurado calificador

Presidente: Dr. José Miguel Pérez Zúñiga

Vocal: Dra. Natali Edith Hurtado Miranda

Secretario: César Augusto Aguilar Puntriano

Feedback Studio - Google Chrome
ev.turnitin.com/app/carta/es/?s=18u=1165482885&o=2572715118&ro=103&lang=es

1 de 1: Uigict FACI FAVEZ
"Reconstrucción de las transiciones de hábitat en la histor..."

Similitud 4% Marcas de alerta



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA
FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA

"Reconstrucción de las transiciones de hábitat en la historia evolutiva del clado Crocodylia"

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado en Biología

Autor
Camila Andrea Zamora Vega

Asesor
Dr. Rodolfo Martín Salas Gismondi

Co-Asesor
Dr. Pedro Eduardo Romero Condori

Lima, Perú
2024

Informe estándar ⓘ
Informe en inglés no disponible [Más información](#)

4% Similitud estándar [Filtros](#)

56 Exclusiones →

Fuentes
Mostrar las fuentes solapadas ⓘ

- 1 Internet
www.researchsquare.com <1%
2 bloques de texto 40 palabras que coinciden
- 2 Internet
docplayer.es <1%
3 bloques de texto 36 palabras que coinciden
- 3 Internet
qubit.hu <1%
1 bloques de bloques 31 palabras que coinciden
- 4 Internet
journals.plos.org <1%

Contenido

Resumen.....	1
Abstract.....	2
I. Introducción.....	3
i. Transiciones de hábitat: eventos extraordinarios	3
ii. Caso de estudio: el clado Crocodylia.....	5
iii. Vacío de conocimiento y justificación.....	7
II. Pregunta de investigación.....	9
III. Objetivos	9
i. Objetivo General	9
ii. Objetivos Específicos.....	9
IV. Materiales y Métodos	9
i. Generación de las bases de datos molecular y morfológica.....	9
ii. Alineamiento de secuencias.....	10
iii. Análisis filogenéticos.....	10
iv. Reconstrucción de estados ancestrales de hábitat.....	11
V. Resultados.....	12
i. Relaciones filogenéticas del clado Crocodylia	12
ii. Exploración de las transiciones de hábitat de los Crocodylia	13
VI. Discusión	19
i. Tiempos de divergencia y relaciones filogenéticas del clado Crocodylia	19
ii. Transiciones de hábitat en el clado Crocodylia.....	24
VII. Conclusiones	28
VIII. Referencias bibliográficas	30
Anexos.....	35

Resumen

Las transiciones de hábitat (e.g., terrestre – agua dulce – marino costero) son eventos extraordinarios que ocurren con escasa frecuencia y son de gran interés evolutivo debido a que se encuentran asociadas a nuevas y diversas adaptaciones. Las transiciones de hábitat en el clado Crocodylia (caimanes, aligátos, gaviales y verdaderos cocodrilos) han sido poco exploradas y son poco entendidas porque las 26 especies vivientes son casi exclusivamente dulceacuícolas. En contraste, el registro fósil de decenas de especies extintas sugiere que ocurrieron múltiples transiciones entre hábitats dulceacuícolas y marinos a lo largo de su historia evolutiva de casi 100 millones de años. En este trabajo presentamos un análisis de reconstrucción de estados ancestrales para conocer el tiempo y posición filogenética de las transiciones de hábitat de los Crocodylia. La posición de los taxones de interés puede variar entre hipótesis filogenéticas, lo que puede alterar los puntos en los que se dan las transiciones de hábitat. Es por ello que proponemos una nueva hipótesis filogenética basada en múltiples líneas de evidencia con el objetivo de esclarecer las incongruencias en la sistemática de los cocodrilianos y así comprender mejor el patrón de transiciones. Nuestros resultados presentan congruencia molecular, morfológica y estratigráfica, resolviendo, por primera vez, las relaciones filogenéticas entre gavialoideos y toracosaurios sin la necesidad de un *constraint* topológico e incluyendo a numerosos taxones de gaviales neotropicales. Sugerimos un modelo de transiciones múltiples con siete eventos de transición independientes desde ambientes marino costeros hacia no marinos en el clado Gavialoidea y una única reversión hacia el ambiente marino se detecta en *Crocodylus porosus*. Estas transiciones de hábitat se asocian a fluctuaciones en el nivel del mar y resaltan el impacto que tienen las variables ambientales en la biodiversidad pasada.

Palabras clave: *Crocodylia*, *transición de hábitat*, *análisis bayesiano*, *sistemática filogenética*, *fósiles*, *16S rRNA*

Abstract

Transitions between environments are extraordinary events that occur infrequently and are of great evolutionary interest because they are associated with new and diverse adaptations. Habitat transitions within clade Crocodylia (which includes caimans, alligators, gharials, and true crocodiles) have been poorly explored and are not well understood because the 26 living species are almost exclusively freshwater. In contrast, the fossil record of dozens of extinct species suggests that multiple transitions between freshwater and marine habitats occurred throughout their evolutionary history of nearly 100 million years. In this study, we present an ancestral state reconstruction analysis to determine the timing and phylogenetic positions of habitat transitions in Crocodylia. The position of the taxa of interest may vary among phylogenetic hypotheses, which can alter transition points. Therefore, we propose a new phylogenetic hypothesis based on multiple lines of evidence with the aim of resolving inconsistencies in the systematics of crocodylians to better understand the pattern of transitions. Our results show molecular, morphological, and stratigraphic congruence, resolving, for the first time, the phylogenetic relationships between gavialoids and thoracosaurus without the need for topological constraints, and including numerous neotropical gavialoid taxa. We suggest a model of multiple transitions with seven independent transition events from coastal marine environments to non-marine environments within Gavialoidea, and a single reversion to the marine environment detected in *Crocodylus porosus*. These habitat transitions are associated with fluctuations in sea level and highlight the impact of environmental variables on past biodiversity.

Keywords: *Crocodylia*, *habitat transition*, *Bayesian analysis*, *phylogenetic systematics*, *fossils*, *16S rRNA*.

I. Introducción

i. Transiciones de hábitat: eventos extraordinarios

Las transiciones de hábitat entre ecosistemas terrestres, de agua dulce y marinos son de los eventos más influyentes, con relación a los cambios anatómicos y la apertura de nuevos nichos ecológicos, asociados a la evolución biológica [1]. Las transiciones ecológicas dentro de estos hábitats han ocurrido en numerosas ocasiones a lo largo de la historia la vida [2], a menudo desencadenando consecuencias dramáticas para el hábitat receptor y la biósfera en general [3]. Cómo y bajo qué circunstancias ocurren estas transiciones y cómo los clados difieren en sus capacidades de adaptarse a nuevas condiciones físicas y biológicas, permanecen como preguntas importantes para la ecología y la biología evolutiva [3].

Los ecosistemas marinos, dulceacuícolas y terrestres difieren cuantiosamente en su composición de especies y diversidad [4,5]. A pesar de las transiciones de hábitat y superposiciones en la distribución de especies, múltiples clados mayores de plantas, animales, hongos y microorganismos residen principalmente en solo uno o dos de los tres ecosistemas [4]. Estos patrones, junto con evidencia filogenética y fósil, sugieren que las transiciones evolutivas de hábitat entre estos ecosistemas son infrecuentes y complicadas [4]. Esto nos lleva a cuestionar por qué existen tan pocas transiciones de hábitat entre los ecosistemas, y qué hace a las transiciones de hábitat eventos tan extraordinarios.

Para comprender la complejidad de las transiciones de hábitat se deben considerar las diferencias entre ecosistemas. La productividad del ecosistema, su complejidad a nivel de la estructura comunitaria y las propiedades físicas del medio, pueden limitar la capacidad de diferentes taxones de realizar transiciones desde un ecosistema hacia otro [4]. Asimismo, es necesario considerar los retos ecológicos asociados a las propiedades físicas y biológicas del nuevo medio que los organismos tienen que enfrentar al pasar por una transición [6]. Estos retos representan presiones de selección, que se manifiestan como homoplasias de probable valor adaptativo en diversos taxones, como el desarrollo de aletas, una convergencia impuesta por el medio acuático [6,7].

La especialización para un ambiente específico generalmente reduce el rendimiento de las especies en el ambiente original [8]. Las adaptaciones que surgen tras una transición mayor de hábitat pueden ser tan extremas que las especies rara vez o nunca pueden volver a su hábitat ancestral [8]. Por otro lado, el destino evolutivo de los clados que realizan transiciones de hábitat no solo depende de la adaptabilidad de sus sistemas fisiológicos y de desarrollo, sino de su capacidad de enfrentar la competencia en el nuevo ambiente [4,9]. De esta manera, los retos evolutivos y oportunidades asociadas a las transiciones de hábitat reflejan la adaptabilidad de las especies [4].

Múltiples reversiones al ecosistema acuático han ocurrido a lo largo de la historia de la vida [1] y uno de los cambios más dramáticos que afectó el ecosistema marino fue la invasión y diversificación de los vertebrados secundariamente marinos durante los últimos 250 millones de años (Ma) [5]. Los vertebrados con ancestros dulceacuícolas o terrestres colonizaron el mar desde el Triásico temprano en adelante y se volvieron miembros dominantes de los ecosistemas marinos en el Mesozoico y el Cenozoico [5].

La vida en el mar requiere múltiples características fisiológicas, morfológicas y comportamentales que son adquiridas durante la colonización secundaria a estos ambientes y a través de la modificación de caracteres existentes o la adquisición de caracteres nuevos [6,7,9,10]. La adaptación a un estilo de vida acuático ha ocurrido varias veces en la historia evolutiva de los amniotas y provee muchos ejemplos de convergencia [11]. Existen características comunes entre los clados de tetrápodos adaptados a ambientes marinos; por ejemplo, todos requieren regular el balance osmoregulatorio, lo que implica la adquisición de agua y la excreción de sales [10]. Otro ejemplo de convergencia son los miembros anteriores transformados en aletas adaptadas a la natación en los mamíferos marinos [6]. Estas características que evolucionan de manera independiente proveen la chance de estudiar la evolución convergente tanto a nivel fenotípico como a nivel genómico en especies secundariamente marinas [6].

ii. Caso de estudio: el clado Crocodylia

El clado Crocodylia (conocidos como cocodrilianos) son un clado ancestral de reptiles altamente exitosos [12,13] que surgió en el Cretáceo tardío [14]. Son los organismos vivos más cercanamente emparentados a las aves [14] y junto con ellas son los únicos grupos sobrevivientes del clado Arcosauria [15–17]. Este clado incluye, al menos, 26 especies vivientes [17–19], que se caracterizan por ser depredadores semiacuáticos [20] casi exclusivamente carnívoros, que ocupan el rol de depredadores tope en la mayoría de las cadenas alimenticias acuáticas tropicales y subtropicales [12]. Presentan escasa diversidad morfológica y se considera que han conservado la forma corporal básica de los pseudosuquios que surgieron hace 250 millones de años [12], por lo que son considerados “fósiles vivientes” [18,20].

A nivel sistemático, el clado Crocodylia es un grupo monofilético, el cual incluye al último ancestro en común entre *Gavialis gangeticus*, *Alligator mississippiensis* y *Crocodylus niloticus*, y todos sus descendientes [17,21]. El clado Crocodylia se divide en tres clados principales que diversificaron en el Cretáceo tardío: los gaviales (Gavialoidea), los cocodrilos verdaderos (Crocodyloidea) y los aligátos y caimanes (Alligatoroidea) [17]. La sistemática moderna de los cocodrilianos se ha centrado en investigaciones sobre las relaciones filogenéticas, con el objetivo resolver las discrepancias entre datos morfológicos y moleculares [21,22]. Uno de los principales problemas es la posición filogenética del gavial de la India, *Gavialis gangeticus* con respecto a otros cocodrilianos [21,22]. La hipótesis morfológica tradicional, recupera a *Gavialis gangeticus* como especie hermana del resto de cocodrilianos, mientras que la hipótesis molecular sugiere una relación hermana de *Gavialis gangeticus* y *Tomistoma schlegelii* (clado Gavialidae) y ubica a ambas especies más cercanamente emparentadas con los Crocodyloidea que con los Alligatoroidea [21–23] (Ver Figura 1). Otro problema sistemático es la ubicación de taxones conocidos como “toracosaurios” (i.e., *Thoracosaurus*, *Eothoracosaurus*, *Eosuchus*) con respecto a los cocodrilianos [21]. Análisis morfológicos sugieren relaciones cercanas entre los gaviales y los toracosaurios, recuperando ambos grupos dentro del clado Gavialoidea [19,24–26]. En contraste, Lee & Yates (2018), recuperan a los “toracosaurios” fuera del *crown-group* Crocodylia al combinar sets de datos

moleculares y morfológicos [27]. Ante estas incongruencias morfológico-moleculares, es necesario seguir explorando las relaciones filogenéticas dentro del clado Crocodylia desde una perspectiva integrativa, incluyendo en estos análisis información estratigráfica y nuevas especies fósiles en estos análisis.

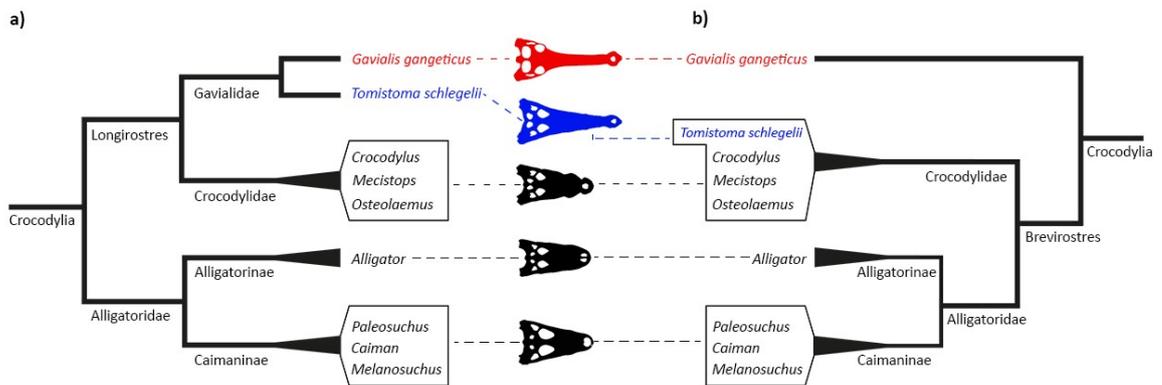


Figura 1: Cladogramas de las relaciones filogenéticas de los cocodrilianos actuales. a) Ilustra la hipótesis molecular y b) la hipótesis morfológica tradicional. Adaptado de Rio & Mannion, 2021.

Los cocodrilianos vivos son organismos de tamaño mediano a grande que presentan una amplia distribución en hábitats tropicales y subtropicales, en un rango geográfico que va desde el Ecuador hasta los 35° de latitud Sur y Norte [17,20]. Todos los representantes actuales de este clado son depredadores semiacuáticos [13,14] y cazan en las orillas de ríos, lagos, estuarios, pantanos y marismas [13]. La ecología de los Crocodylia es predominantemente dulceacuícola; a pesar de ello, algunas especies pueden ingresar a ambientes costeros y de agua salada, como es el caso de *Crocodylus porosus* y *C. acutus* [28]. Como depredadores semiacuáticos, los cocodrilianos tienen un rol altamente relevante en los ambientes costeros y de humedales que habitan, debido a su gran biomasa y a la capacidad que tienen para alimentarse de diversos niveles tróficos [12]. La riqueza de especies de los cocodrilianos actuales es considerada bastante baja [13,17,18,20], lo que enmascara la elevada biodiversidad ancestral de este grupo.

El registro fósil evidencia la gran diversidad de los cocodrilianos en el pasado, la cual incluye más de 150 especies, con nuevas especies fósiles siendo descritas

constantemente [17,29]. Esta biodiversidad presentaba una distribución latitudinal más amplia, casi a nivel global [29], y ocupaban una mayor variedad de nichos ecológicos en comparación con las especies vivientes [20]. Los planos corporales y la amplia disparidad morfológica mostraban diversas formas de alimentación, tamaños y ecología [18,20]. Esta gran diversidad tanto morfológica como ecológica contrasta con la morfología conservadora de los representantes actuales [18]. Se sugiere que la diversidad ecológica y la disparidad en el tamaño corporal de los cocodrilianos se dieron ante periodos de diversificación esporádica en grupos y tiempos puntuales [18]. Estos periodos de diversificación surgieron ante oportunidades ecológicas y cambios en la dieta, lo que puede inducir a la innovación adaptativa [18]. Es así, que los cocodrilianos son un grupo de interés para estudiar las transiciones de hábitat y la evolución convergente.

Los cocodrilianos son un modelo de gran importancia en estudios filogenéticos, de osmorregulación, morfología funcional y genética de poblaciones [15]. El número de especies vivientes es lo suficientemente pequeño para permitir realizar muestreos a nivel molecular, comportamental, ecológicos y fisiológicos [29]. Análisis recientes sugieren que los genomas de los cocodrilianos han evolucionado muy lentamente a lo largo de millones de años, en comparación con otros tetrápodos [15]. Lograr comprender la evolución, regulación y las capacidades adaptativas del genoma de los cocodrilianos, así como también su diversidad genética pueden proveer información sobre cómo genomas de evolución lenta pueden mantenerse viables ante condiciones ambientales fluctuantes [15].

iii. Vacío de conocimiento y justificación

El clado *Crocodylomorpha* tiene una rica historia ecológica y evolutiva bastante estudiada hasta la fecha [25]. Su *crown-group*, es decir el grupo monofilético que incluye al ancestro común de todas las especies actuales y sus descendientes, es el clado *Crocodylia*. A pesar de ser un grupo en constante estudio, se conoce muy poco sobre el patrón histórico de transiciones de hábitat entre ecosistemas dentro del grupo [25].

La capacidad de colonizar ecosistemas acuáticos marinos implica la necesidad de adaptaciones para la tolerancia a la salinidad [25,30]. A pesar de encontrarse

restringidos a ecosistemas de agua dulce en la actualidad, todos los cocodrilianos no aligatóridos presentan adaptaciones para tolerar la salinidad [25]. Las glándulas de excreción de sal en la lengua, epitelios bucales y cloacas altamente queratinizadas están presentes en los géneros *Crocodylus*, *Osteolaemus*, *Gavialis* y *Tomistoma* [21,22,28]. Estas adaptaciones visibles en taxa vivientes no dejan evidencias a nivel osteológico, lo que dificulta determinar con precisión su origen en el registro fósil [25]. Sin embargo, debido a la continua presencia de cocodrilianos fósiles en sedimentos marinos, se infiere que estos organismos deben haber presentado estas adaptaciones para la tolerar la salinidad [25,28]. Conocer cuándo ocurrieron las transiciones durante la historia filogenética de los cocodrilianos, podría ayudar a estimar el tiempo en el que surgieron estas adaptaciones osmorregulatorias [25].

Este proyecto busca explorar las transiciones de hábitat dentro del clado *Crocodylia* e identificar en qué momento ocurrieron. Para ello, es necesario tener una hipótesis filogenética robusta, por lo que se busca resolver las relaciones filogenéticas de los *Crocodylia* a través de la integración de datos morfológicos, moleculares, estratigráficos. Ello, junto con la aplicación de datos paleoecológicos permitirá estimar cuándo ocurrieron las transiciones de hábitat entre ecosistemas marinos y de agua dulce y en qué linajes se dieron estas transiciones. Estudios previos reconocen la importancia de integrar evidencia paleontológica, paleoclimatológica y molecular para explorar las relaciones filogenéticas de los *Crocodylia* [14]. El uso de información molecular ha transformado el estudio de los cocodrilianos, en particular en las áreas de sistemática y evolución y se tiene disponibilidad tanto de marcadores nucleares y mitocondriales e incluso información de proteínas [13,21]. Por otro lado, el uso de datos paleoecológicos permiten tener un mejor entendimiento de los procesos que ocurrían en ecosistemas determinados en múltiples escalas espaciales y temporales [31] y pueden revelar los cambios en las comunidades del pasado, cambios en los hábitats, invasión de especies, extinciones y respuestas de las comunidades al cambio climático[32]. Integrando estos novedosos set de datos en esta investigación obtendremos conocimiento básico sobre la evolución del clado *Crocodylia*, generando una hipótesis filogenética robusta y llenando el vacío de conocimiento actual con respecto a las transiciones de hábitat entre ecosistemas dentro de este grupo.

II. Pregunta de investigación

¿Cuándo ocurrieron transiciones de hábitat en el clado Crocodylia y en qué clados se dieron?

III. Objetivos

i. Objetivo General

Comprender el proceso de transición de hábitat en el clado Crocodylia mediante el uso de datos morfológicos, moleculares, estratigráficos y paleoecológicos.

ii. Objetivos Específicos

- a. Elaborar una hipótesis filogenética y de tiempos de divergencia sustentada por datos morfológicos, moleculares y estratigráficos.
- b. Generar un análisis de reconstrucción de hábitat ancestral con datos paleoecológicos para conocer cuándo ocurrieron las transiciones de hábitat dentro del clado Crocodylia y en qué linajes.

IV. Materiales y Métodos

i. Generación de las bases de datos molecular y morfológica

El set de datos molecular de este trabajo se compone del gen mitocondrial 16S rRNA de 18 especies actuales de cocodrilianos recopilados por Pan et al. (2020) [14]. Las 18 especies seleccionadas también se encuentran en la matriz de caracteres morfológicos de Salas-Gismondi et al. (2022) [28]. Se descargaron las secuencias 16S rRNA usando sus números de acceso en Genbank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>). Los números de acceso de cada secuencia se encuentran en el Anexo 1.

La base de datos morfológica está compuesta por la matriz de caracteres morfológicos de Salas-Gismondi et al. (2022). Esta matriz presenta 233 caracteres de cráneo y postcráneo para 68 especies de cocodrilianos, de las cuales 18 son especies actuales y 60 son especies extintas. Revisando la matriz, se detectaron 7 caracteres que presentaban el mismo estado de caracteres para todas las especies. Estos caracteres

fueron eliminados debido a que el análisis de *tip-dating* no acepta estos caracteres no informativos, lo que dio un total de 226 caracteres para la matriz morfológica final.

ii. Alineamiento de secuencias

Las secuencias del gen 16S rRNA fueron alineadas con MAFFT [33], usando los ajustes por defecto y el código genético mitocondrial de vertebrados. Posteriormente, las regiones ambiguas del alineamiento fueron eliminadas usando los parámetros por defecto de Gblocks [34]. El alineamiento resultante fue visualizado en Geneious R7 [35] usando el código genético mitocondrial de vertebrados. La longitud final del alineamiento es de 1386 nucleótidos.

El alineamiento fue descargado en formato Nexus para continuar con su edición de forma manual. El alineamiento descargado tiene información molecular de 18 especies de cocodrilianos actuales puesto que no se tiene información molecular de las 50 especies extintas. Sin embargo, para el análisis de *tip-dating* es necesario tener la misma cantidad de taxones tanto en la matriz molecular como en la matriz morfológica. Debido a ello se colocaron los nombres de las 50 especies extintas y se agregaron 1386 caracteres gap (-) para cada una, reflejando así la ausencia de información para cada posición del alineamiento para estas 50 especies.

iii. Análisis filogenéticos

Para la reconstrucción del árbol filogenético se realizó el análisis bayesiano *tip-dating* en BEAST v2.6.7 [36]. Para este análisis se unió la matriz de caracteres morfológicos generada por Salas-Gismondi et al. (2022) y la matriz molecular compuesta por las secuencias del gen 16S rRNA. La matriz combinada incluye 18 especies actuales y 50 especies extintas de cocodrilianos, incluyendo a *Bernissartia fagessi* como grupo externo.

En este análisis se usó el modelo de sustitución Lewis MK para la matriz morfológica, pues es el modelo disponible para BEAST2. El modelo GTR se estimó para la matriz molecular con JModelTest 2 [37]. Debido a que se esperan variaciones en las tasas evolutivas, se utilizó un modelo de reloj molecular relajado (*Relaxed Clock Log Normal*). En la configuración de parámetros del árbol, se seleccionó el *Fossilized Birth-Death*

Model (FBD). Para calibrar la edad de los linajes, se asignó las edades estratigráficas más recientes (LAD) y antiguas (FAD) para cada especie fósil [28] y se colocó el valor 0 para las especies actuales. La edad asignada a los linajes (*tips*), fue el valor promedio de los valores LAD y FAD [38]. El valor inicial de los demás parámetros, así como sus rangos se encuentran en el Anexo 2. Se realizaron 4 repeticiones independientes del análisis con los siguientes parámetros: 20 millones de generaciones con muestreo cada 1000 generaciones. Posteriormente, se usó Tracer v1.6 [39] para evaluar el tamaño de muestra efectivo (ESS). Finalmente, se generó un árbol de máxima credibilidad en TreeAnnotator. Se asumió que las probabilidades posteriores mayores o iguales a 0.90 son evidencia significativa de soporte a los nodos.

iv. Reconstrucción de estados ancestrales

A cada especie de la matriz morfológica se le asignó una categoría discreta de ecosistema: no marino y marino costero. La clasificación de hábitats fue generada por Salas Gismondi et al. (2022) y se basó en el ambiente de depósito (datos tafonómicos) donde las especies fueron halladas. La categoría “marino costero” incluye taxones que han sido encontrados de forma consistente en depósitos que representan paleoambientes estuarinos, marino costeros o marinos; mientras que la categoría “no marino” incluye taxones que han sido encontrados consistentemente en depósitos que representan paleoambientes continentales, ribereños, lacustres y deltaicos.

Los estados ancestrales de distribución de los ancestros en estos ecosistemas fueron estimados por el modelo Mk (*continuous-time Markov chain model*) [40], aplicado a caracteres discretos, a través del paquete *phytools* de R. Este paquete cuenta con múltiples modelos de tasas de transición para la reconstrucción de estados ancestrales en los nodos, por lo que se generaron todos los modelos y mediante el *Likelihood ratio test* se determinó el modelo con mejor ajuste. El modelo seleccionado fue el ARD (*all-rates-different for permitted transitions*), un modelo que permite tener diferentes tasas de transición para cada dirección de cambio (no marino → marino costero | marino costero → no marino).

También se realizó un mapeo estocástico de caracteres, bajo un enfoque MCMC (*Markov chain Monte Carlo*) para el muestreo de la historia de los caracteres desde su

distribución de probabilidades posteriores. Este enfoque es similar al anterior, pero en este caso se obtuvieron historias no ambiguas de la evolución del carácter discreto hábitat en el árbol, en lugar de la distribución de probabilidad del carácter en los nodos. Para ello se generaron 1000 mapas estocásticos que, después de ser resumidos, permitieron la visualización de las probabilidades posteriores de cada estado a lo largo de todos los nodos y ramas del árbol mediante el método *densityMap* en R.

V. Resultados

i. Relaciones filogenéticas del clado Crocodylia

Las relaciones filogenéticas de los cocodrilianos fueron inferidas en base al gen 16S rRNA en conjunto con una matriz morfológica de caracteres del cráneo y post cráneo a través de un análisis de *tip-dating* (Figura 2). Se estimó que el ancestro común más reciente (TMRCA) del *crown-group* Crocodylia surgió hace 101 millones de años (Ma) [valor promedio, 95% de la densidad posterior más alta (HPD), 87.85-114.28 Ma]. La filogenia generada recupera los 3 clados del *crown-group* Crocodylia: Alligatoidea, Crocodyloidea (*crown-clade* Crocodylidae) y Gavialoidea. El clado Alligatoidea diverge aproximadamente hace 91.2 Ma, el clado Gavialoidea hace 63.2 Ma y el clado Crocodylidae hace 22.9 Ma. Se recupera al clado Longirostres (Crocodyloidea + Gavialoidea), definido por el último ancestro común de *Crocodylus niloticus* y *Gavialis gangeticus* [21,23], y se estima que surgió hace 69.54 Ma [95% HPD, 60.95-78.14 Ma].

Este análisis recupera a *Gavialis gangeticus* más cercanamente emparentado a *Tomistoma schlegelii* que a cualquier otro cocodriliano actual. El ancestro común más reciente de estas especies (nodo 79) tiene una edad estimada de 56.3 Ma [95% HPD, 50.36-62.61 Ma]. El pariente más cercano de *Gavialis* es *Aktiogavialis* y el de *Tomistoma* es *Maomingosuchus*. En el clado Crocodyloidea, el género *Crocodylus* se encuentra más estrechamente emparentado con *Mecistops* que con *Osteolaemus*. Asimismo, la edad inferida para el ancestro común más reciente de *Crocodylus* es de 10.9 Ma [95% HPD, 6.18-15.70 Ma]. Dentro del clado Alligatoidea, *Caiman* tiene como taxón hermano a *Melanosuchus* y *Paleosuchus* se encuentra más cercanamente emparentado a *Caiman* + *Melanosuchus* que a *Alligator*.

Fuera del *crown-group* Crocodylia se recupera al clado de los “toracosaurios” (*Thoracosaurus* + *Eothoracosaurus* + *Eosuchus*) + *Argochampsa*. Este clado presenta una edad aproximada de 90.4 Ma [95% HPD, 75.6-105.18 Ma] y tiene a *Borealosuchus* como taxón hermano.

ii. Exploración de las transiciones de hábitat entre ecosistemas del clado Crocodylia

La reconstrucción de estados ancestrales se realizó bajo el modelo ARD (*all-rates-different for permitted transitions*), al ser este el más conveniente según el *likelihood ratio test*. El número de parámetros de este modelo depende del número de estados de carácter. En este caso, el modelo tiene 2 parámetros según los 2 estados de ecosistemas: “marino costero” y “no marino”. Los resultados del análisis de reconstrucción ancestral para todos los nodos pueden ser visualizados en la Figura 3, en la que los colores de los círculos representan la probabilidad de la condición ancestral, es decir el tipo de ecosistema.

La reconstrucción de estado ancestral del hábitat revela que el *crown-group* Crocodylia tiene un origen no marino. El clado Alligatoroidea tiene un origen no marino y la predilección por hábitats no marinos se mantuvo en todas las especies de este clado. Por el contrario, se estima que el clado Longirostres tuvo un origen marino. A pesar de este origen marino costero, los cocodrilianos realizaron transiciones hacia hábitats no marinos y la única especie que retornó a hábitats marinos fue *Crocodylus porosus*. Se infiere que esta transición ocurrió durante Cuaternario, puesto que el registro fósil de *C. porosus* se registra desde hace 3.6 Ma, aproximadamente. El clado Gavialoidea tiene un origen marino costero en su totalidad y se observan 7 transiciones independientes hacia hábitats no marinos. Estas transiciones ocurren en los siguientes taxa: *Dollosuchoides densmorei*, *Tomistoma schlegelii*, *Maomingosuchus petrolica*, *Tomistoma coppensi*, *Gryposuchus*, *Dadagavialis gunai* y *Gavialis*. Las primeras transiciones de hábitat en ocurrir fueron las de *Dollosuchoides densmorei* y *Maomingosuchus petrolica* durante el Eoceno. Siguió las transiciones de *Tomistoma coppensi*, *Dadagavialis gunai* y el género *Gryposuchus* durante el Mioceno. Durante el

Plioceno ocurrió la transición del género *Gavialis* y a finales del Cuaternario ocurrió la de *Tomistoma schlegelii*.

Fuera del crown-group Crocodylia, el ancestro común entre *Borealosuchus* y los "toracosaurios" tiene un origen marino. Sin embargo, *Borealosuchus* transita hacia ambientes no marinos durante el Cretáceo tardío, mientras que los "toracosaurios" y *Argochampsa* mantienen su condición marino costera.

El mapeo estocástico de los caracteres se construyó bajo el modelo ARD, simulando la evolución de los estados de carácter en cada nodo del árbol filogenético. Esto implica que el mapeo estocástico no solo provee información sobre la probabilidad de un ancestro común de presentar un estado de carácter en particular, sino la probabilidad de que ese carácter se extienda a lo largo de la rama [41]. El mapeo estocástico se realizó 1000 veces y se generó el árbol resumen (Figura 4). En promedio, hay 16.11 transiciones entre estados en el árbol. De este valor, las transiciones de hábitat desde ecosistemas marino costeros hacia no marinos representan 10.829 de los cambios y las transiciones de hábitat desde ecosistemas no marinos hacia marino costeros 5.281. La proporción de tiempo que se pasa en cada estado es de 0.37 para el marino costero y 0.63 para no marino. Esto implica que para los cocodrilianos estudiados, la transición desde ecosistemas marino costeros hacia no marinos es 1 vez más probable que la transición desde ecosistemas no marinos hacia marino costeros. Asimismo, estos resultados brindan soporte al origen marino costero (>0.5) del clado Longirostres y las probabilidades posteriores para el estado ancestral marino costero en el clado Gavialoidea son incluso más cercanas a 1. La probabilidad de que el estado marino se extienda a lo largo de la rama que da origen al clado Crocodylidae es baja, lo que se evidencia en una pérdida de la intensidad del color azul conforme se acerca a los *tips* (probabilidad cercana a 0). Caso contrario sucede con el clado Gavialoidea, la intensidad creciente del color azul en las ramas (probabilidad cercana a 1), indica una elevada probabilidad de que el carácter marino se extienda en las ramas y solo se evidencia lo contrario en las ramas que dan origen a las taxa que transitan desde hábitats marino costeros a no marinos.

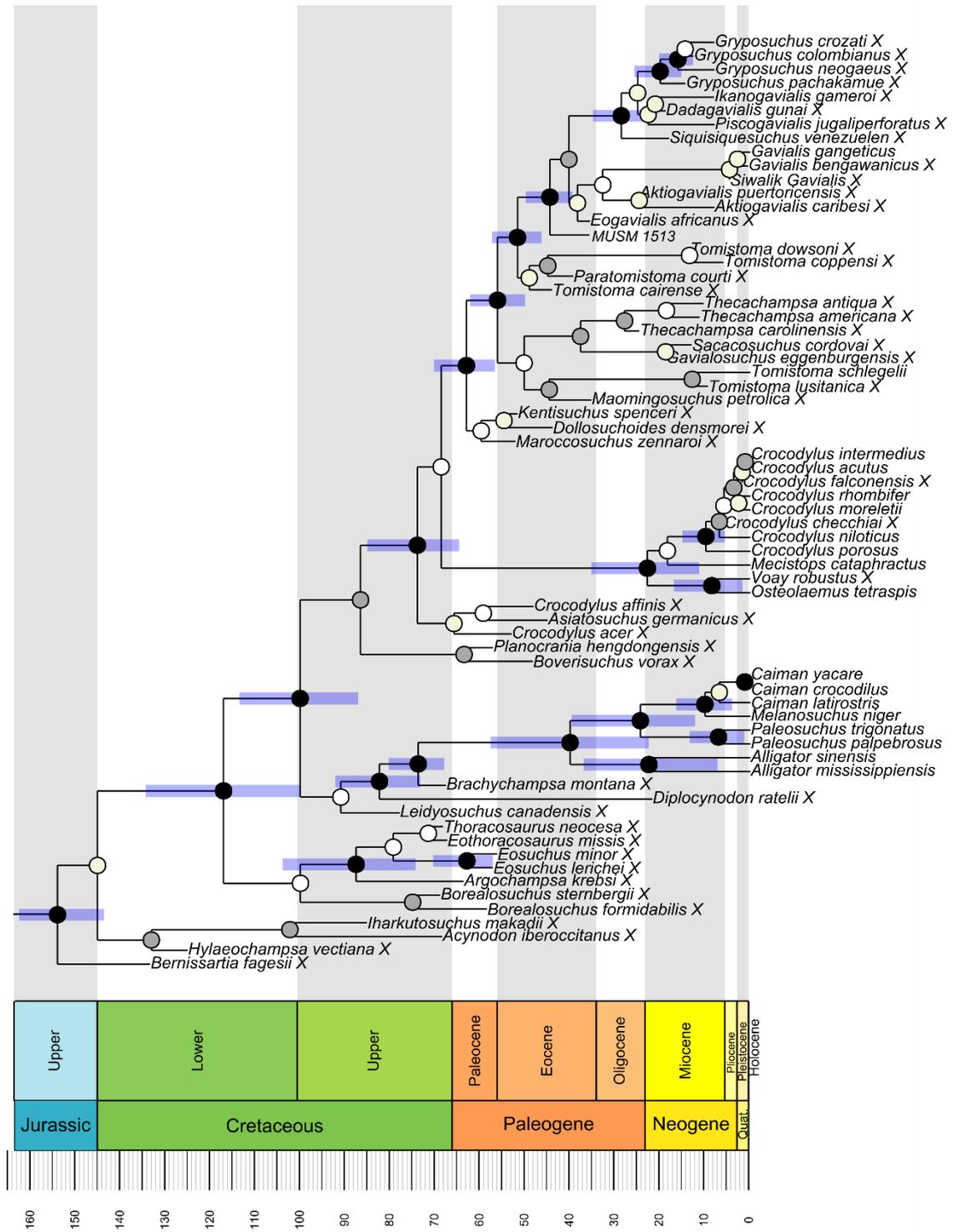


Figura 2: Tip-dating. Árbol de máxima credibilidad con la escala de tiempo geológico. Los taxones fósiles están indicados con una "X" al lado del nombre del taxón. Los nodos internos del árbol están indicados con círculos, en donde sus colores representan los valores de probabilidad posterior: ● ≥ 0.95 , 0.95 > ○ ≥ 0.75 , 0.75 > ○ ≥ 0.50 , 0.50 > ○ . Los intervalos de confianza al 95% para la edad de los nodos (*highest posterior density of the age of the node*) con probabilidad posterior ≥ 0.95 se muestran con barras transparentes.

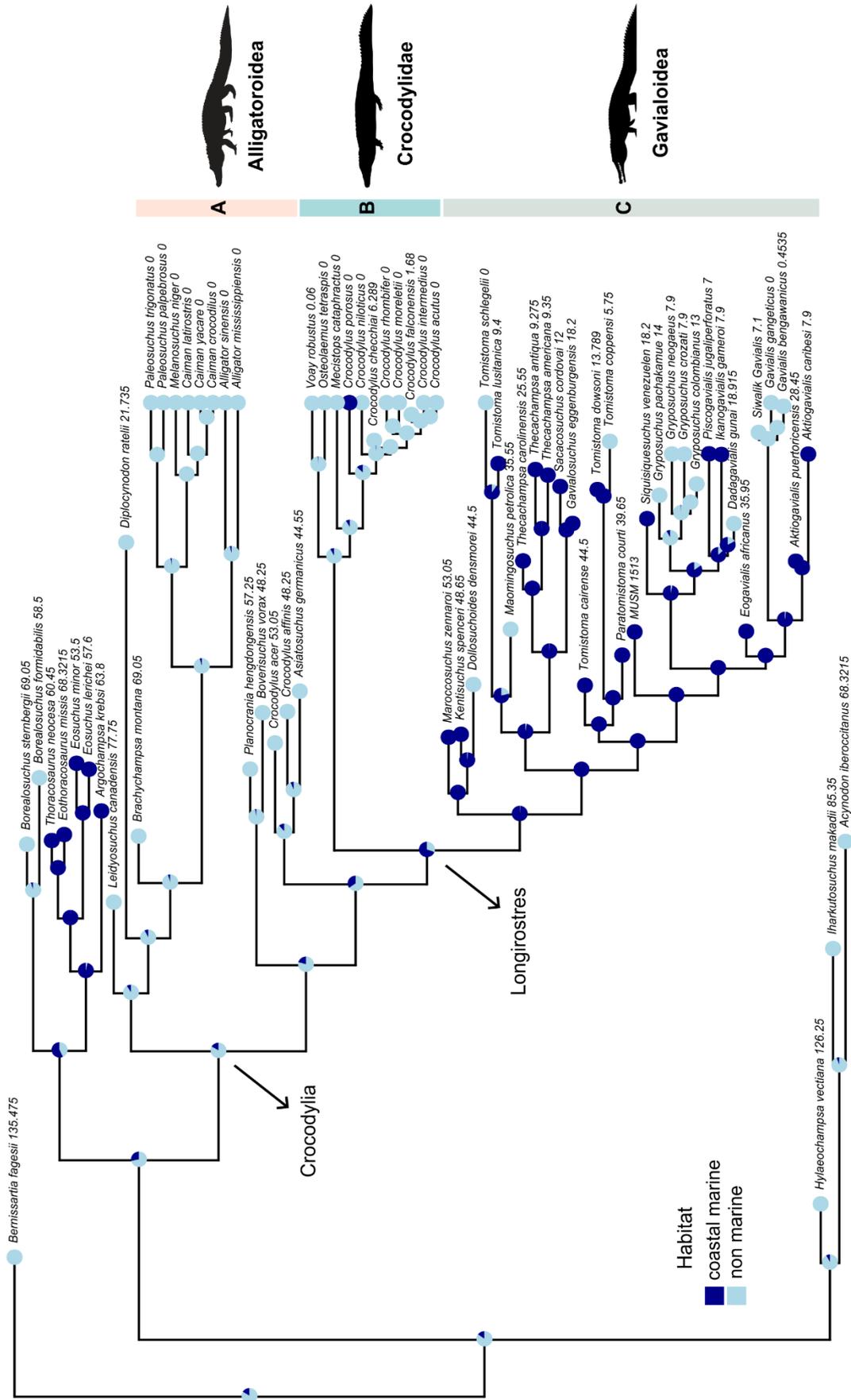


Figura 3: Relaciones evolutivas del clado Crocodylia y reconstrucción del estado ancestral del hábitat mediante el modelo ARD. Los valores al lado del nombre de cada taxón representan la edad promedio de los linajes.

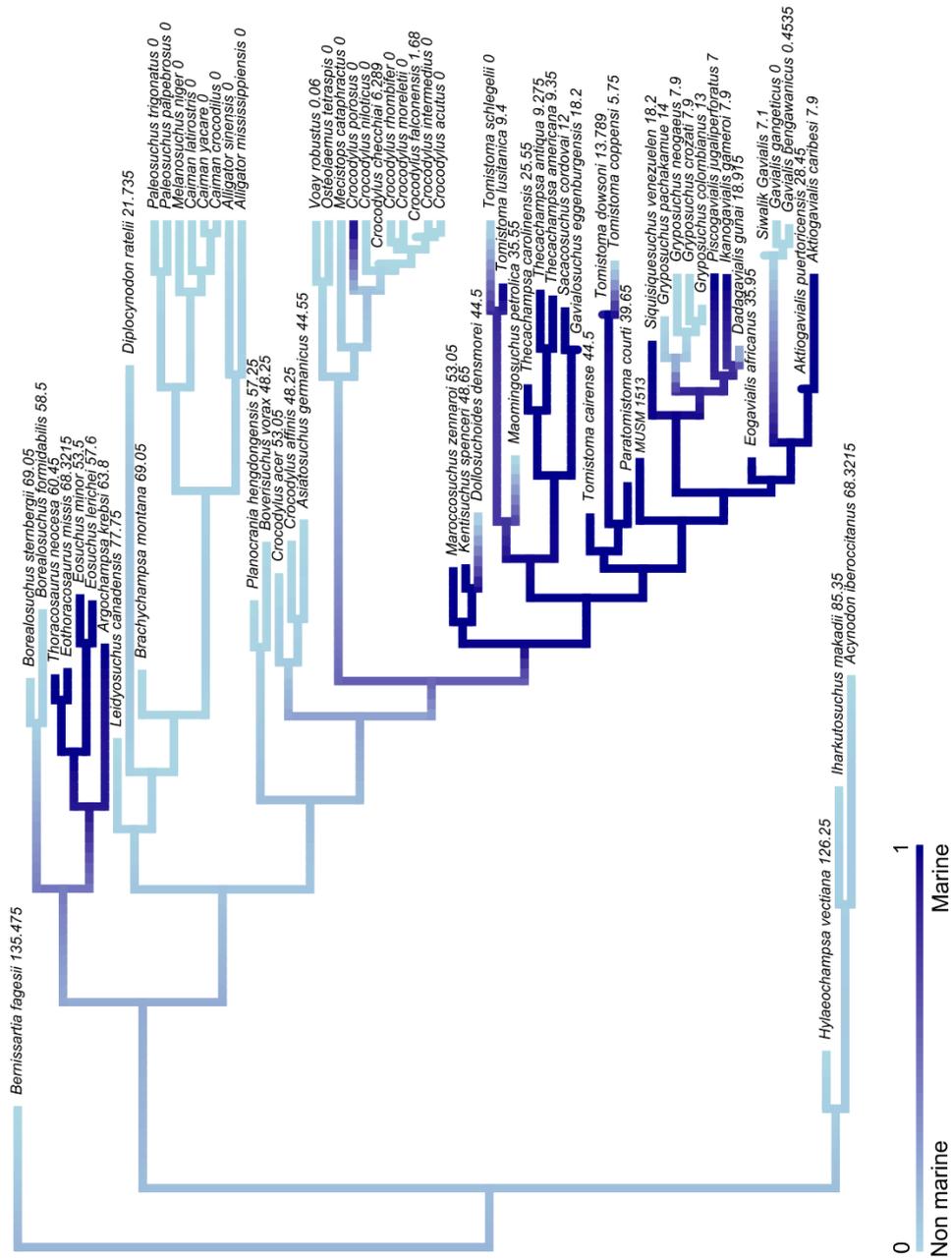


Figura 4: Mapeo estocástico de caracteres. Este mapa de densidad se generó mediante la simulación del mapeo estocástico de caracteres a través del árbol 1000 veces. La leyenda representa las probabilidades posteriores de cada estado.

VI. Discusión

i. Relaciones filogenéticas y tiempos de divergencia del clado Crocodylia

Durante las últimas tres décadas se ha realizado un gran avance en la resolución de las relaciones filogenéticas de los cocodrilianos [21]. A pesar de ello, persisten grandes problemas en la sistemática de los Crocodylia, siendo el más relevante la posición filogenética de *Gavialis gangeticus* ante los enfoques morfológico y molecular. [21,22,24,42,43]. Este estudio provee una hipótesis de relaciones filogenéticas basada en 1386 pares de bases del gen mitocondrial 16S rRNA, 233 caracteres morfológicos de cráneo y postcráneo, así como información estratigráfica, lo que permite generar una hipótesis con múltiples perspectivas para la evolución de los cocodrilianos extintos y actuales. Nuestros resultados presentan congruencia molecular, morfológica y estratigráfica, resolviendo las relaciones filogenéticas entre gavialoideos y toracosaurios por primera vez sin la necesidad de un *constraint* topológico e incluyendo a numerosos taxones de gaviales neotropicales.

Nuestro análisis recupera a los tres clados mayores del *crown-group* Crocodylia, Alligatorioidea, Crocodyloidea y Gavialoidea, con altos valores de probabilidad posterior (>0.95). Alligatorioidea ha sido uno de los clados más estables en Crocodylia en términos de contenido taxonómico y relaciones filogenéticas, con gran concordancia entre datos moleculares y morfológicos [21]. Nuestra filogenia soporta la monofilia del género *Caiman* y soportan su relación hermana con *Melanosuchus*. El clado formado por *Caiman* + *Melanosuchus* se encuentra más cercanamente emparentado a *Paleosuchus* que a *Alligator*, en concordancia con estudios moleculares previos [14,22]. En el clado Crocodylidae, *Crocodylus* se encuentra más cercanamente emparentados a *Mecistops* que a *Osteolaemus* lo que también se reporta en estudios morfológicos recientes [21,28]. Mis resultados proveen una buena resolución para las relaciones filogenéticas de las especies actuales. Sin embargo, se debe considerar que algunas especies

aceptadas por la taxonomía clásica están en revisión o necesitan revisión ante la presunta detección de nuevas especies o subespecies [14] y futuros estudios deben incluir estas nuevas especies en sus análisis filogenéticos.

En este estudio se recupera a Gavialoidea como un clado monofilético cuyo TMRCA data de hace 63 Ma, lo que es más reciente que lo estimado por Iijima & Kobayashi (2019), pero más antiguo que lo estimado por Lee & Yates, 2018 (~84 y ~59 Ma, respectivamente) [24,27]. Los gavialoideos más basales (i.e., stem Gavialoidea), es decir aquellos que quedaron fuera del *crown-clade* Gavialidae, fueron *Marccosuchus zennaroi* + (*Kentisuchus spenceri* + *Dollosuchoides densmorei*), de igual forma a lo reportado por Rio & Mannion, 2021 [21]. Estos taxa forman parte de los “tomistóminos morfológicos”, un grupo parafilético que empieza a diversificarse en el Paleoceno, e incluye también a *Maomingosuchus*, *Gavialosuchus*, *Thecachampsa*, *Tomistoma* y *Paratomistoma* [21,24]. Los tomistóminos (clado Tomistominae) forman un clado distante de los gavialinos (clado Gavialinae) acorde con la hipótesis morfológica tradicional. Sin embargo, ante la hipótesis filogenética molecular y las hipótesis morfológicas recientes, simplemente se considera que ambos grupos son parte del clado Gavialoidea y se usan los términos “tomistóminos morfológicos” y “gavialinos morfológicos” para resaltar sus diferencias anatómicas más evidentes [21,24]. Dentro de estos “tomistóminos morfológicos”, el actual *Tomistoma schlegelii* es indicado como especie hermana de *Tomistoma lusitanica* y ambos están más cercanamente emparentados a *Maomingosuchus* que a otros gavialoideos. Por otro lado, *Gavialis gangeticus* se encuentra anidado en un clado que incluye múltiples linajes de gavialoideos neotropicales como MUSM 1513 y *Gryposuchus*. Se recupera a *Aktiogavialis* como el taxón más cercanamente emparentado a *Gavialis*, lo que se contradice con la filogenia de Salas-Gismondi et al. (2022) [28], que recupera a *Eogavialis* del Eoceno de África en el lugar del neotropical *Aktiogavialis*. Nuestros resultados soportan la hipótesis que indica que la especie recientemente descrita *Sacacosuchus cordovai* está asociada a los “tomistóminos morfológicos” y tiene un origen independiente de *Aktiogavialis* y los gaviales griposuchinos [28]. Estas relaciones filogenéticas van acorde a la hipótesis biogeográfica que da origen a los gaviales en Peri-Tetis y propone la conquista de América mediante numerosos eventos de dispersión

transoceánica que dan origen a los gaviales neotropicales: *Aktiogavialis*, gryposuchinos y *Sacacosuchus* [28].

Los “toracosaurios” han sido asociados a los gaviales en análisis morfológicos tradicionales, en los que se recuperan dentro del clado Gavialoidea [19,24–26]. Incluso se recuperan como taxones anidados dentro de los Gavialidae en estudios morfológicos modernos, en los que se *Gavialis* está dentro del *crown-group* Crocodylia [21]. En este trabajo, los toracosaurios se encuentran fuera del *crown-group* Crocodylia sin la necesidad de usar una restricción filogenética, en concordancia con Salas-Gismondi et al. (2022). El agrupamiento de los “toracosaurios” dentro del clado Gavialoidea y dentro del *crown-clade* Gavialidae genera inconsistencias cronológicas en relación al origen del clado [27], pues supone que la divergencia debió ocurrir al inicio del Cretáceo tardío (~100 Ma), edades mucho más antiguas que lo sugerido por este (i.e., clado Gavialoidea que surge hace 63 Ma y el *crown-clade* Gavialidae hace 56 Ma) y estudios previos [14,22,24,27]. Ello sugiere que la presencia de hocicos angostos y elongados en los toracosaurios y gavialoideos son resultado de una homoplasia, en lugar de una homología [27].

Este estudio es topológicamente concordante con los árboles filogenéticos de datos moleculares al recuperar a *Gavialis gangeticus* más cercanamente emparentado a *Tomistoma schlegelii* que a cualquier otro cocodriliano actual. Esto implica que las características longirostras fueron adquiridas como una homología (i.e., heredados de un ancestro común) en lugar de haber sido adquiridos de manera independiente a través de una convergencia, como era hipotetizado por filogenias basadas en morfología tradicional (ver Figura 1). De esta manera, nuestros resultados contribuyen a resolver la incongruencia morfológico-molecular.

Con respecto a los tiempos de divergencia, estimamos que la edad estimada para el origen del clado Crocodylia, es de 101 Ma (límite entre Albiense y el Cenomaniense durante el Cretáceo). Esta estimación promedio es consistente con las estimaciones de Roos [44] y Lee & Yates [27] y sugiere que el tiempo de divergencia de los cocodrilianos ocurrió antes de lo estimado por análisis basados en datos moleculares (~87 Ma) [14,22] y otros análisis de evidencia total (95 Ma) [45]. Nuestros análisis de *tip-dating* también

es congruente con el registro fósil, considerando que los registros más antiguos para el clado *Crocodylia* son del Campaniense-Maastrichtiense en Norte América [46]. El registro más antiguo en Europa ha sido el de *Portugalosuchus azenhae*, que se ha propuesto como el taxón más antiguo dentro de *Crocodylia* y su edad (95 Ma) sugiere que el origen del clado *Crocodylia* fue previo al Cenomaniense o durante el Cenomaniense [46], lo que coincide con nuestros resultados. Darlim et al. [45] sugiere que, si *Portugalosuchus* se considera parte del clado *Crocodylia*, podría incrementar substancialmente la edad estimada del clado. Sin embargo, al no haber sido considerado en este análisis no se enfrenta este problema. La posición filogenética de *Portugalosuchus* se debate como taxón hermano de todos los cocodrilianos no gavialoideos o dentro del clado Gavialoidea [45]. Su posición dentro de Gavialoidea no sería estratigráficamente congruente con nuestros resultados y, en este caso, incrementaría la edad estimada clado. La ubicación taxonómica de *Portugalosuchus* debe continuar explorándose en futuros estudios, puesto que su posición dentro del clado *Crocodylia* carece de respaldo y no se puede descartar que sea un eusuquio no cocodriliano [45,46].

La edad estimada para el clado Longirostres (Gavialoidea + Crocodyloidea) es de 69 Ma, más antigua que la estimación de Lee & Yates, 2018 (~60 Ma), basada en una matriz combinada de datos morfológicos y moleculares [27]. La edad estimada para el *crown-clade* Gavialidae (el último ancestro común de *Gavialis gangeticus*, *Tomistoma schlegelii* y todos sus descendientes [21]), es de 56 Ma, al menos 20 Ma más antigua que las estimaciones de Oaks (2011) y Pan et al. (2021) (20-23 Ma); y 16 Ma más antigua que las estimaciones de Lee & Yates, 2018 (40 Ma) [27]. Es coherente que, tanto en los análisis de Oaks [22] y Pan [14], la edad estimada del clado Gavialidae sea tan reciente, debido a que ambos estudios proveen hipótesis evolutivas para especies actuales, en las que únicamente se consideran a dos taxones dentro de este clado. Es por ello que se sugiere que futuros estudios consideren integrar evidencia paleontológica, paleoclimatológica y estudios moleculares adicionales [14]. Por otro lado, Lee & Yates [27], al igual que este estudio, realizan un análisis de *tip-dating* que incluye datos moleculares, morfológicos y estratigráficos. Proponemos que nuestros resultados son diferentes por dos posibles razones. (1) A diferencia de este estudio, ellos usaron solo

información de la edad de los taxones (*tips*); mientras que, aquí adicionamos la calibración de cada taxón utilizando las edades stratigráficas más recientes (LAD) y antiguas (FAD) para cada especie en nuestros parámetros de análisis. (2) Sus análisis incluyen información de 19 especies de gavialoideos, de los cuales 14 forman parte del *crown-clade* Gavialidae y el taxón más antiguo para este clado tiene una edad de 18 Ma. En contraste, este análisis toma en cuenta 30 especies de gavialoideos, de los cuales 27 forman parte del *crown-clade* Gavialidae, definiendo a *Tomistoma cairensense* como el taxón más antiguo de este clado (con 45 Ma). De los 27 *crown* Gavialidae, más de la mitad son gaviales americanos y la edad más antigua entre ellos la tiene un nuevo gavial sudamericano de Perú aún no descrito: MUSM 1513, con una edad estimada en 36 Ma. El incluir estos taxones incrementa considerablemente la edad estimada de Gavialidae de 40 Ma [27] a 56 Ma (el presente estudio). Ello evidencia la necesidad de incluir la mayor cantidad de taxones que sea posible para hacer inferencias robustas sobre la edad estimada de un clado y se sugiere que futuros estudios incluyan más taxones de gaviales para generar estimaciones más exactas sobre la edad del clado Gavialidae, lo que a su vez permitiría nuevas estimaciones de la edad del emblemático clado Longirostres.

En general, todas las estimaciones promedio de tiempos de divergencia en este estudio son más antiguas que en investigaciones previas. La única excepción es para el joven clado Crocodylidae, que tiene una edad estimada de 23 Ma, más reciente que lo estimado por Pan et al. 2021 (31 Ma), pero acorde a lo estimado por Oaks, 2011 (22 Ma) [14,22]. Estimamos que *Crocodylus*, el género más diverso de este clado, surgió hace 11 Ma. Este resultado coincide con estimaciones previas que proponen que su origen ocurrió en el rango de 12.3 y 7.8 Ma [22]. En congruencia con estas estimaciones temporales, se observa que los representantes de *Crocodylus* aparecieron en el registro fósil recientemente y la mayoría continúan como especies vivientes [22]. La mayoría de especies extintas clasificadas como *Crocodylus* han sido recuperadas fuera del género al momento de realizar análisis filogenéticos [22] y se sugiere que múltiples especies fósiles asignadas *Crocodylus* no pertenecen a este género [47], lo que se observa en el caso de *Crocodylus affinis* y *C. acer* en este estudio.

ii. Transiciones de hábitat en el clado Crocodylia

Las transiciones de hábitat dentro del clado Crocodylia han sido poco exploradas. El único estudio que busca esclarecer el patrón y tiempo de las transiciones de hábitat dentro de diversos clados de Crocodylomorpha, incluyendo al clado Crocodylia, es el de Wilberg et al. (2019) [25]. El descubrimiento de nuevos fósiles de cocodrilianos durante los últimos años [19,28,48,49] requiere nuevas hipótesis filogenéticas, lo que puede alterar los puntos en los que ocurrieron las transiciones de hábitat previamente estimadas. En esta investigación se reconstruye la secuencia evolutiva de cambios dentro del *crown-group* Crocodylia a partir de una hipótesis filogenética basada en datos morfológicos, moleculares y estratigráficos junto con datos de distribución en ecosistemas marinos y no marinos.

El análisis de reconstrucción de estados ancestrales revela la ocurrencia de múltiples transiciones de hábitat dentro del clado Crocodylia y recupera un origen no marino para este clado, lo que coincide con estudios previos [25]. El estudio de Wilberg et al. (2019) reporta dos transiciones independientes desde hábitats de agua dulce a marinos dentro del clado Crocodylia: uno en la base del clado Gavialoidea durante el Cretáceo tardío (~94 Ma) y otro en la base del clado Tomistominae (sensu Brochu 2003) en el Eoceno (~66 Ma). Estos resultados suponen que ambos grupos de gaviales adquirieron de manera convergente adaptaciones anatómicas y fisiológicas que les permitieron invadir el ambiente marino y que únicamente hubo reversiones hacia ambientes de agua dulce en las ramas que dan origen a las especies vivientes *Gavialis gangeticus* y *Tomistoma schlegelii* durante el Mioceno [25]. Es importante resaltar que las relaciones filogenéticas estimadas por Wilberg et al. (2019) coinciden con la hipótesis de morfología tradicional, en la que *G. gangeticus* se ubica como especie hermana al resto de cocodrilianos y a *T. schlegelii* más cercanamente emparentado a los cocodriloideos que a los aligatoideos.

Por el contrario, nuestro análisis filogenético recupera al clado Longirostres en el que ocurren múltiples transiciones independientes de hábitat. La reconstrucción de estados ancestrales indica que la condición ancestral más probable de Longirostres es la de habitar ecosistemas marinos costeros. Ello implica que la transición al ecosistema marino

marino para los cocodrilianos ocurrió con el origen de este clado, hace 69 Ma durante del Cretáceo tardío.

El clado Gavialoidea tiene una probabilidad de origen 100% marino, por lo que se asume que heredó la capacidad de habitar ecosistemas marinos del ancestro común de Longirostres. Estudios previos han propuesto que, ancestralmente, los gavialoideos ocupaban ecosistemas marinos, lo que coincide con nuestros resultados [25,28]. Las hipótesis biogeográficas, proponen que los gavialoideos se dispersaron a través de las barreras marinas y se expandieron hacia ecosistemas de agua dulce en múltiples ocasiones en diferentes masas terrestres [21,28]. Nuestros análisis se alinean con ese planteamiento, al detectar siete eventos de transición de hábitat a ecosistemas no marinos. Estos resultados son consistentes con la presencia de glándulas de sal y cloaca queratinizada en los Longirostres vivos. Estos eventos incluyen las transiciones de hábitat independientes de los actuales *Gavialis gangeticus* y *Tomistoma schlegelii*, que transicionan desde ecosistemas marinos costeros hacia ecosistemas de agua dulce. Lo que coincide con la reconstrucción de estados ancestrales obtenida usando una hipótesis filogenética basada en morfológica tradicional [25].

El estado ancestral no marino del clado Crocodylidae sugiere que hubo una transición de hábitats desde ecosistemas marinos, ocupados por el ancestro de los Longirostres, hacia ecosistemas de agua dulce. Dentro del clado Crocodylidae, se detecta un evento de retorno al ecosistema marino por el cocodrilo de agua salada, *Crocodylus porosus*. Esta especie fue el único cocodriliano actual que se clasificó como marino costero en la matriz de hábitats utilizada en este análisis [28]. Por el contrario, Wilberg et al. (2019) clasifica a *C. porosus* como una especie de ambientes de agua dulce [25]. *Crocodylus* es el único género vivo con poblaciones que ingresan áreas marino costeras y se conoce que este taxón ha experimentado dispersión a través de barreras marinas en el pasado [28]. Sin embargo, la mayor parte de su registro fósil se ha recuperado de depósitos fluviales y lacustres (no marinos), incluso fósiles del cocodrilo de agua salada [28]. La condición marino costera de *C. porosus* implicaría una reversión en el carácter de hábitat y necesita más investigación, por lo que estos resultados deben interpretarse con cautela.

El retorno al mar implica una de las transiciones morfológicas mejor entendidas en la evolución de los vertebrados [50]. La capacidad de habitar marinos está basada en las adaptaciones para la tolerancia a agua salada y todos los cocodrilianos no aligatoideos las presentan [21,25]. La reducida tolerancia a la salinidad de los aligatoideos es consistente con su biogeografía histórica, la que muestra un menor número de eventos de dispersión a través de barreras marinas [21]. En contraste, se han popuesto varios eventos de dispersión transoceánicos asociados a la radiación de *Crocodylus*. Los cocodrilos verdaderos presentan glándulas de sal en la lengua, epitelio bucal queratinizado y una cloaca osmoregulatoria para tolerar ambientes hiperosmóticos [22]. A pesar de ello, se encuentran principalmente asociados a ecosistemas de agua dulce [51]. Incluso *C. porosus* y *C. acutus* que ingresan a entornos costeros [28], son principalmente estuarinos [51]. Las adaptaciones del clado Crocodylidae a condiciones salinas sugieren que derivaron de un ancestro marino [51], que en nuestros análisis se ubica en el nodo que da origen al clado Longirostres. A pesar de estar restringidos a ecosistemas de agua dulce, *T. schlegelii* y *G. gangeticus* también presentan adaptaciones para tolerar la salinidad [21,28,52]. Sin embargo, en *G. gangeticus* las glándulas de sal son escasas y se encuentran bastante reducidas [52], lo que puede ser interpretado como la retención vestigial de un carácter ancestral [21]. La presencia de estas glándulas en *Gavialis* y *Tomistoma* es consistente con su presencia en cocodriloideos, pues estas adaptaciones para tolerar la salinidad ya estaban presentes en el nodo que da origen al clado Longirostres (~68 Ma). En consecuencia, se sugiere que dichas adaptaciones aparecieron en el *crown-group* Crocodylia finalizando el Cretáceo tardío, posiblemente durante el Maastrichtiense.

Los gavialoideos presentan una forma craneal longirrostra (rostrum largo y esbelto), una condición que presenta una mayor eficiencia hidrodinámica al morder en el agua y un área de mordida relativamente incrementada para capturar presas pequeñas y de movimientos rápidos [18]. El clado Gavialoidea comparte la longirrostría como una adaptación convergente con otros grupos de cocodrilomorfos que también transitaron de hábitat de forma independiente al ecosistema marino, como los “toracosaurios”, Thalattosuchia, Dyrosauridae y Pholidosauridae [18,25,53]. Algunos de estos grupos han sido caracterizados como formas semiacuáticas costeras, mientras que otros eran linajes

posiblemente más pelágicos [54]. En contraste, se ha propuesto que los cocodrilianos marinos eran habitantes de zonas costeras someras y todos eran formas longirrostras [28]. Ningún miembro del género *Crocodylus* presenta la condición longirostra [28], por lo que se sugiere que en futuros análisis se categorice a *C. porosus* como un taxón no marino. Los patrones de longirostría no son exclusivos de taxones marinos y también se observan en gavialoideos de agua dulce, junto con otras morfologías óseas exclusivamente asociadas a ecologías de agua dulce [28].

También es importante tener en cuenta el patrón de las transiciones de hábitat y los cambios ambientales asociados a ellas. Las primeras transiciones en ocurrir fueron las de *Dollosuchoides densmorei* y *Maomingosuchus petrolica* durante el Eoceno, época en la que los cetáceos y sirénios invadieron el ambiente marino [50,55]. Esta época y el Oligoceno se caracterizaron por una baja diversidad de cocodrilianos en ambientes marinos, incluyendo un vacío en los gavialoideos después de un pico de diversidad posterior a su origen en el Paleoceno [21,28]. En la misma época, hubo un declive de otros cocodrilomorfos marinos, como los toracosaurios, asociado a cambios eustáticos del nivel del mar [20].

Posteriormente, ocurrieron las transiciones de *Tomistoma coppersi*, *Dadagavialis gunai* y la del género *Gryposuchus* en el Mioceno. Durante el Mioceno hubo una elevada tasa de especiación, lo que conllevó al pico más alto de riqueza de formas marinas en la historia de los cocodrilianos [28]. Este pico de diversidad coincidió con el Óptimo climático del Mioceno medio (~15 Ma) [20] y un enfriamiento global progresivo con pequeñas fluctuaciones del nivel del mar, a comparación del Oligoceno y Plioceno [28]. La gran radiación adaptativa de los gavialoideos en masas de tierra en las Américas y Peri-Tetis [28] que se dio en esta época puede estar asociada a las transiciones de hábitat hacia ecosistemas no marinos. El declive global de gavialoideos marinos empezó en el Mioceno tardío y continuó hasta su desaparición durante el Plioceno [20], época en la que se dio la transición de *Gavialis*. La última transición ocurre en *Tomistoma schelegelii* a finales del Cuaternario. Este declive en la diversidad de gavialoideos podría estar asociada a la extinción de la megafauna marina del Plioceno-Pleistoceno, durante la que se documenta una reducción global de los ecosistemas

costeros y alteraciones oceanográficas a nivel de productividad y circulación oceánica [56]. El rápido declive de los cocodrilianos marinos en el Plioceno coinciden con una baja temperatura superficial del mar, nivel del mar en disminución y una reducción drástica de los ecosistemas neríticos [28].

La restricción de los cocodrilianos marinos a ambientes someros sugiere que sus procesos de diversificación y extinción estaban ligados a la disponibilidad de ecosistemas costeros y a los cambios en el nivel del mar [28]. Mannion et al. (2015) encontraron asociaciones fuertes y significativas entre el conteo de géneros marinos y el nivel del mar eustático [20]. Sus resultados soportan estudios previos que indican que inundaciones continentales a través del cambio eustático del nivel del mar, moldearon la evolución de la biodiversidad de la plataforma marina, incluyendo la de los reptiles marino costeros [20]. Es así que las fluctuaciones en el nivel del mar se han identificado como el principal conductor de la diversificación de cocodrilomorfos en ecosistemas marinos [28]. Por ello, proponemos que las transiciones de hábitat detectadas en este estudio, se encuentran asociadas a periodos en los que la fluctuación del nivel del mar era elevada. Esto podría implicar que los ecosistemas no marinos ofrecían un nicho de mayor estabilidad para las especies, aunque esta hipótesis aún requiere exploración en investigaciones futuras.

VII. Conclusiones

Nuestros resultados proveen una hipótesis filogenética, obtenida con evidencia total, que coincide con las relaciones filogenéticas recientes obtenidas, por un lado, con datos molecular y, por otro lado, con datos morfológicos. Por primera vez, se reporta una congruencia temporal de las relaciones del clado Gavialoidea, incluyendo fósiles de gaviales neotropicales. Asimismo, reportamos tiempos de divergencia más antiguos que los previamente calculados para el clado Crocodylia en base a datos moleculares. Este es el primer estudio que explora las transiciones de hábitat de los cocodrilianos desde una hipótesis de relaciones filogenéticas de evidencia total. Se provee de una nueva interpretación de la historia evolutiva del clado Crocodylia a nivel de sus transiciones ecológicas a través de un modelo de transiciones múltiples desde ecosistemas marino costeros hacia ecosistemas no marinos. Estas múltiples transiciones se dieron en el

clado Gavialoidea durante el Eoceno, Mioceno, Plioceno y a finales del Cuaternario. Estos eventos probablemente estuvieron asociados a fluctuaciones en el nivel del mar, lo cual requiere ser explorado a profundidad en el futuro. De esta manera podemos usar la paleodiversidad para hacer predicciones de las condiciones ambientales y climáticas del planeta en el pasado.

VIII. Referencias bibliográficas

1. Proches S PGMDJ. K-Pg events facilitated lineage transitions between terrestrial and aquatic ecosystems. *Biol Lett*. 2014 May 21;10.
2. Corush JB. Evolutionary patterns of diadromy in fishes: More than a transitional state between marine and freshwater. *BMC Evol Biol*. 2019 Aug 14;19(1).
3. Vermeij GJ. The ecology of marine colonization by terrestrial arthropods. *Arthropod Struct Dev*. 2020 May 1;56.
4. Grosberg RK, Vermeij GJ, Wainwright PC. Biodiversity in water and on land. Vol. 22, *Current Biology*. 2012.
5. Vermeij GJ, Motani R. Land to sea transitions in vertebrates: The dynamics of colonization. *Paleobiology*. 2018 May 1;44(2):237–50.
6. Kelley JL, Brown AP, Therkildsen NO, Foote AD. The life aquatic: Advances in marine vertebrate genomics. Vol. 17, *Nature Reviews Genetics*. Nature Publishing Group; 2016. p. 523–34.
7. Houssaye A, Fish FE. Functional (secondary) adaptation to an aquatic life in vertebrates: An introduction to the symposium. In: *Integrative and Comparative Biology*. Oxford University Press; 2016. p. 1266–70.
8. Young VKH, Vest KG, Rivera ARV, Espinoza NR, Blob RW. One foot out the door: Limb function during swimming in terrestrial versus aquatic turtles. *Biol Lett*. 2017 Jan 1;13(1).
9. VERMEIJ GJ, DUDLEY R. Why are there so few evolutionary transitions between aquatic and terrestrial ecosystems? *Biological Journal of the Linnean Society*. 2000 Aug;70(4):541–54.
10. Motani R, Vermeij GJ. Ecophysiological steps of marine adaptation in extant and extinct non-avian tetrapods. *Biological Reviews*. 2021 Oct 1;96(5):1769–98.
11. Houssaye A, Botton-Divet L. From land to water: evolutionary changes in long bone microanatomy of otters (Mammalia: Mustelidae) [Internet]. Vol. 125, *Biological Journal of the Linnean Society*. 2018. Available from: <https://academic.oup.com/biolinnean/article/125/2/240/5079862>
12. Somaweera R, Brien ML, Platt SG, Manolis C, Webber BL. Direct and indirect interactions with vegetation shape crocodylian ecology at multiple scales. *Freshw Biol*. 2019;64(2):257–68.
13. Barban R, Patricia Z, Amavet S, Martins L, Izeni V, Farias P. Conservation Genetics of New World Crocodylians. *Conservation Genetics of New World Crocodylians*. 2021.
14. Pan T, Miao JS, Zhang H Bin, Yan P, Lee PS, Jiang XY, et al. Near-complete phylogeny of extant Crocodylia (Reptilia) using mitogenome-based data. *Zool J Linn Soc*. 2021;191(4):1075–89.

15. Ghosh A, Johnson MG, Osmanski AB, Louha S, Bayona-Vásquez NJ, Glenn TC, et al. A High-Quality Reference Genome Assembly of the Saltwater Crocodile, *Crocodylus porosus*, Reveals Patterns of Selection in Crocodylidae. *Genome Biol Evol.* 2019;12(1):3635–46.
16. Solórzano A, Núñez-Flores M, Rincón AD. *Gryposuchus* (Crocodylia, Gavialoidea) from the early Miocene of Venezuela. *PalZ.* 2018 Mar 1;92(1):121–9.
17. Solórzano A, Núñez-Flores M, Inostroza-Michael O, Hernández CE. Biotic and abiotic factors driving the diversification dynamics of Crocodylia. *Palaeontology.* 2020;63(3):415–29.
18. Stubbs TL, Pierce SE, Elsler A, Anderson PSL, Rayfield EJ, Benton MJ. Ecological opportunity and the rise and fall of crocodylomorph evolutionary innovation. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences.* 2021;288(1947).
19. Salas-Gismondi R, Moreno-Bernal JW, Scheyer TM, Sánchez-Villagra MR, Jaramillo C. New Miocene Caribbean gavialoids and patterns of longirostry in crocodylians. *J Syst Palaeontol.* 2019 Jun 18;17(12):1049–75.
20. Mannion PD, Benson RBJ, Carrano MT, Tennant JP, Judd J, Butler RJ. Climate constrains the evolutionary history and biodiversity of crocodylians. *Nat Commun.* 2015;6.
21. Rio JP, Mannion PD. Phylogenetic analysis of a new morphological dataset elucidates the evolutionary history of Crocodylia and resolves the long-standing gharial problem. *PeerJ.* 2021 Sep 6;9.
22. Oaks JR. A time-calibrated species tree of crocodylia reveals a recent radiation of the true crocodiles. *Evolution (N Y).* 2011 Nov;65(11):3285–97.
23. Harshman J, Huddleston CJ, Bollback JP, Parsons TJ, Braun MJ. True and false gharials: A nuclear gene phylogeny of Crocodylia. *Syst Biol.* 2003;52(3):386–402.
24. Iijima M, Kobayashi Y. Mosaic nature in the skeleton of East Asian crocodylians fills the morphological gap between “Tomistominae” and Gavialinae. *Cladistics.* 2019 Dec 1;35(6):623–32.
25. Wilberg EW, Turner AH, Brochu CA. Evolutionary structure and timing of major habitat shifts in Crocodylomorpha. *Sci Rep.* 2019;9(1):1–10.
26. Brochu CA. Phylogenetic approaches toward crocodylian history. *Annu Rev Earth Planet Sci.* 2003;31:357–97.
27. Lee MSY, Yates AM. Tip-dating and homoplasy: Reconciling the shallow molecular divergences of modern gharials with their long fossil record. In: *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences.* Royal Society Publishing; 2018.
28. Salas-Gismondi R, Ochoa D, Jouve S, Romero PE, Cardich J, Perez A, et al. Miocene fossils from the southeastern Pacific shed light on the last radiation of marine crocodylians. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences.* 2022;289(1974).

29. Brochu CA, Sumrall CD. REVIEW Modern cryptic species and crocodylian diversity in the fossil record [Internet]. Vol. 189, *Zoological Journal of the Linnean Society*. 2020. Available from: <https://academic.oup.com/zoolinnea/article/189/2/700/5836565>
30. Ramos EK da S, Freitas L, Nery MF. The role of selection in the evolution of marine turtles mitogenomes. *Sci Rep*. 2020 Dec 1;10(1).
31. Słowiński M, Lamentowicz M, Łuców D, Barabach J, Brykała D, Tyszkowski S, et al. Paleoecological and historical data as an important tool in ecosystem management. *J Environ Manage*. 2019 Apr 15;236:755–68.
32. Barak RS, Hipp AL, Cavender-Bares J, Pearse WD, Hotchkiss SC, Lynch EA, et al. Taking the long view: Integrating recorded, archeological, paleoecological, and evolutionary data into ecological restoration. *Int J Plant Sci*. 2016 Jan 1;177(1):90–102.
33. Katoh K, Toh H. Recent developments in the MAFFT multiple sequence alignment program. *Brief Bioinform*. 2008 Jul;9(4):286–98.
34. Talavera G, Castresana J. Improvement of Phylogenies after Removing Divergent and Ambiguously Aligned Blocks from Protein Sequence Alignments. 2007;56(4):564–77.
35. Kearse M, Moir R, Wilson A, Stones-havas S, Sturrock S, Buxton S, et al. Geneious Basic : An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. 2012;28(12):1647–9.
36. Bouckaert R, Vaughan TG, Barido-Sottani J, Duchêne S, Fourment M, Gavryushkina A, et al. BEAST 2.5: An advanced software platform for Bayesian evolutionary analysis. *PLoS Comput Biol*. 2019;15(4).
37. Darriba D, Taboada GL, Doallo R, Posada D. JModelTest 2: More models, new heuristics and parallel computing. Vol. 9, *Nature Methods*. 2012. p. 772.
38. Heath TA. Divergence Time Estimation using BEAST v2. * Dating Species Divergences with the Fossilized Birth-Death Process [Internet]. Available from: <http://groups.google.com/group/beast-users>.
39. Rambaut A, Suchard M, Xie D, Drummond A. Tracer v1.6. 2014.
40. Suchard MA, Weiss RE, Sinsheimer JS. Bayesian Selection of Continuous-Time Markov Chain Evolutionary Models. *Mol Biol Evol* [Internet]. 2001;18(6):1001–13. Available from: <https://academic.oup.com/mbe/article/18/6/1001/1046920>
41. Gold DA, Runnegar B, Gehling JG, Jacobs DK. Ancestral state reconstruction of ontogeny supports a bilaterian affinity for Dickinsonia. *Evol Dev*. 2015 Nov 1;17(6):315–24.
42. Kuzmin IT, Boitsova EA, Gombolevskiy VA, Mazur E V., Morozov SP, Sennikov AG, et al. Braincase anatomy of extant Crocodylia, with new insights into the development and evolution of the neurocranium in crocodylomorphs. *J Anat*. 2021 Nov 1;239(5):983–1038.
43. Wilberg EW. Investigating patterns of crocodyliform cranial disparity through the Mesozoic and Cenozoic [Internet]. Vol. 181, *Zoological Journal of the Linnean Society*.

2017. Available from:

<https://academic.oup.com/zoolinnean/article/181/1/189/3052429>

44. Roos J, Aggarwal RK, Janke A. Extended mitogenomic phylogenetic analyses yield new insight into crocodylian evolution and their survival of the Cretaceous-Tertiary boundary. *Mol Phylogenet Evol.* 2007;45(2):663–73.
45. Darlim G, Lee MSY, Walter J, Rabi M. The impact of molecular data on the phylogenetic position of the putative oldest crown crocodylian and the age of the clade. *Biol Lett.* 2022;18(2).
46. Mateus O, Puértolas-Pascual E, Callapez PM. A new eusuchian crocodylomorph from the Cenomanian (Late Cretaceous) of Portugal reveals novel implications on the origin of Crocodylia [Internet]. Vol. 186, *Zoological Journal of the Linnean Society*. 2019. Available from: <https://academic.oup.com/zoolinnean/article/186/2/501/5232234>
47. Brochu CA. Phylogenetic relationships and divergence timing of *Crocodylus* based on morphology and the fossil record. *Copeia*. 2000 Aug 4;(3):657–73.
48. Salas-Gismondi R, Flynn JJ, Baby P, Tejada-Lara J V., Claude J, Antoine PO. A new 13 million year old gavialoid crocodylian from proto-amazonian mega-wetlands reveals parallel evolutionary trends in skull shape linked to longirostry. *PLoS One*. 2016 Apr 1;11(4).
49. Salas-Gismondi R, Flynn JJ, Baby P, Tejada-Lara J V., Wesselingh FP, Antoine PO. A miocene hyperdiverse crocodylian community reveals peculiar trophic dynamics in proto-Amazonian mega-wetlands. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2015;282(1804).
50. McGowen MR, Gatesy J, Wildman DE. Molecular evolution tracks macroevolutionary transitions in Cetacea. Vol. 29, *Trends in Ecology and Evolution*. Elsevier Ltd; 2014. p. 336–46.
51. Wheatley P V., Peckham H, Newsome SD, Koch PL. Estimating marine resource use by the American crocodile *Crocodylus acutus* in southern Florida, USA. *Mar Ecol Prog Ser*. 2012 Feb 13;447:211–29.
52. Leslie AJ, Taplin LE. Recent developments in osmoregulation of crocodylians. In: *Crocodylian biology and evolution*. 2001. p. 265–79.
53. Groh SS, Upchurch P, Barrett PM, Day JJ. The phylogenetic relationships of neosuchian crocodiles and their implications for the convergent evolution of the longirostrine condition. *Zool J Linn Soc [Internet]*. 2019;1–34. Available from: <https://academic.oup.com/zoolinnean/advance-article-abstract/doi/10.1093/zoolinnean/zlz117/5601086>
54. Herrera Y, Leardi JM, Fernández MS. Braincase and endocranial anatomy of two thalattosuchian crocodylomorphs and their relevance in understanding their adaptations to the marine environment. *PeerJ*. 2018;2018(11).
55. Uhen MD. Evolution of marine mammals: Back to the sea after 300 million years. Vol. 290, *Anatomical Record*. 2007. p. 514–22.

56. Pimiento C, Griffin JN, Clements CF, Silvestro D, Varela S, Uhen MD, et al. The Pliocene marine megafauna extinction and its impact on functional diversity. *Nat Ecol Evol.* 2017 Aug 1;1(8):1100–6.
57. Revell LJ. phytools: An R package for phylogenetic comparative biology (and other things). *Methods Ecol Evol.* 2012 Apr;3(2):217–23.

Anexos

Anexo 1: Códigos de acceso a Genbank de 18 especies vivientes de cocodrilianos, seleccionadas para el análisis de *tip-dating*.

Clado	Especie	Número de acceso
Alligatoroidea	1. <i>Alligator sinensis</i>	AF511507
	2. <i>Alligator mississippiensis</i>	Y13113
	3. <i>Melanosuchus niger</i>	MT554039
	4. <i>Caiman latirostris</i>	MT554051
	5. <i>Caiman crocodilus</i>	AJ404872
	6. <i>Caiman yacare</i>	MT554042
	7. <i>Paleosuchus palpebrosus</i>	AM493870
	8. <i>Paleosuchus trigonatus</i>	AM493869
Crocodyloidea	9. <i>Crocodylus intermedius</i>	JF502242
	10. <i>Crocodylus acutus</i>	JF502241
	11. <i>Crocodylus rhombifer</i>	JF502247
	12. <i>Crocodylus moreletii</i>	HQ585889
	13. <i>Crocodylus niloticus</i>	DQ273697
	14. <i>Crocodylus porosus</i>	NC008143
	15. <i>Mecistops cataphractus</i>	NC010639
	16. <i>Osteolaemus tetraspis</i>	NC009728
Gavialoidea	17. <i>Tomistoma schlegelii</i>	AJ810455
	18. <i>Gavialis gangeticus</i>	AJ810454

Anexo 2: Priors para el análisis de *tip-dating*.

Prior	Distribución	Valor inicial	Rango
Diversification rate	Uniforme	0.01	[0.0-0.02]
Frecuence parameter	Normal	0.25	[0.0-1.0]
Gamma shape	Exponencial	1	[0.0-1000.0]
Kappa	Log Normal	2	[0.0-100.0]
Origin	Normal	160	[135.0-170.0]
Sampling proportion	Uniforme	0.5	[0.0-1.0]
Turnover	Uniforme	0.95	[0.9-0.98]
Ucld Mean	Uniforme	0.001	[0.0-0.005]
Ucld Stdev	Gamma	0.1	[0.0-∞]

Anexo 3: *Likelihood ratio test*

Modelo	N° de parámetros	Log-Likelihood	LRT (ARD)
ARD	2	-31.6946	
SYM	1	-34.22452	0.024
ER	1	-34.22452	0.024

Para determinar cuál es el modelo con mejor ajuste para la reconstrucción de estados ancestrales, se estimó el valor de *likelihood* para cada modelo (ERD, ARD, SYM) [57]. Se realizó el *Likelihood ratio test* (LRT) para comparar el modelo ARD con el modelo SYM y el ER. No se realizó la comparación entre los modelos SYM y ER debido a que tienen el mismo número de parámetros y el mismo nivel de complejidad. Para realizar el LRT se utilizó la siguiente función en R:

$1 - pchisq(2 * abs(\text{fitER}\$loglik - \text{fitARD}\$loglik), df)$, donde *df* es la diferencia en el número de parámetros entre los modelos.

El resultado del LRT es menor a 0.05, por lo que se considera que el modelo ARD tiene un ajuste significativamente mejor.