



A phylogeny and evolutionary natural history of mesoamerican toads (Anura: Bufonidae: *Incilius*) based on morphology, life history, and molecular data

JOSEPH R. MENDELSON III^{1,2,5}, DANIEL G. MULCAHY^{3,4}, TYLER S. WILLIAMS³ & JACK W. SITES JR.³

¹Department of Herpetology, Zoo Atlanta, 800 Cherokee Ave SE, Atlanta, GA, 30315, USA

²School of Biology, Georgia Institute of Technology, 301 Ferst Dr, Atlanta, GA, 30332, USA

³Department of Biology, Brigham Young University, Provo, UT, 84602, USA

⁴Current address: Smithsonian Institution, PO Box 37012, MRC 162, Washington, DC, 20013, USA

⁵Corresponding author. E-mail: jmendelson@zooatlanta.org

Abstract

We combine mitochondrial and nuclear DNA sequence data with non-molecular (morphological and natural history) data to conduct phylogenetic analyses and generate an evolutionary hypothesis for the relationships among nearly every species of Mesoamerican bufonid in the genus *Incilius*. We collected a total of 5,898 aligned base-pairs (bp) of sequence data from mitochondrial (mtDNA: 12S–16S, cyt b, ND2–CO1, including tRNAs^{TRP-TYR} and the origin of light strand replication; total 4,317 bp) and nuclear (CXCR4 and RAG1; total 1,581 bp) loci from 52 individual toads representing 37 species. For the non-molecular data, we collected 44 characters from 29 species. We also include *Crepidophryne*, a genus that has not previously been included in molecular analyses. We present results of parsimony and Bayesian analyses for these data separately and combined. Relationships based on the non-molecular data were poorly supported and did not resolve a monophyletic *Incilius* (*Rhinella marina* was nested within). Our molecular data provide significant support to most of the relationships. Our combined analyses demonstrate that inclusion of a considerably smaller dataset (44 vs. 5,898 characters) of non-molecular characters can provide significant support where the molecular relationships were lacking support. Our combined results indicate that *Crepidophryne* is nested within *Incilius*; therefore, we place the former in the synonymy of the latter taxon. Our study provides the most comprehensive evolutionary framework for Mesoamerican bufonids (*Incilius*), which we use as a starting point to invoke discussion on the evolution of their unique natural history traits.

Key words: Amphibia, *Crepidophryne*, natural history, phylogeny, taxonomy

Resumen

Combinamos datos moleculares de DNA mitocondrial y nuclear con datos morfológicos y de historia natural para realizar análisis filogenéticos y proponer hipótesis para esclarecer las relaciones filogenéticas entre especies de bufonidae dentro del género *Incilius* provenientes de Mesoamérica. Colectamos un total de 5,898 pares de bases (bp) de secuencias alineadas de loci mitocondriales (mtDNA: 12S–16S, cyt b, ND2–CO1, incluyendo tRNAs^{TRP-TYR} y el origen de la replicación de la cadena liviana; totales 4,317 bp) y nucleares (CXCR4 y RAG1; totales 1,581 bp), obtuvimos loci de 52 ejemplares de sapos que representan 37 especies. Para los datos no moleculares, registramos 44 caracteres de 29 especies. Incluimos al género *Crepidophryne*, que nunca ha sido usado en análisis moleculares previos. Presentamos los resultados de los análisis Bayesianos y de parsimonia que realizamos combinando los datos y luego separándolos. Las relaciones resultantes basadas sólo en datos no-moleculares no son claras y no presentan al género *Incilius* como un grupo monofilético (*Rhinella marina* resulta dentro del grupo). Nuestros datos moleculares muestran un soporte significativo para varias de las relaciones filogenéticas. Y la combinación de ambos datos demuestra que al incluir la pequeña base de datos (44 vs. 5,898 caracteres) de caracteres no-moleculares ayuda significativamente a hacer más fuertes las relaciones que parecían débiles en el análisis con solo datos moleculares. Los resultados del análisis combinado indican que *Crepidophryne* se incluye dentro de *Incilius*; además, proponemos esta forma como un sinónimo del taxón más reciente. Nuestro estudio proporciona el más comprensivo marco evolucionario para los bufonidos de Mesoamérica (*Incilius*), en el cual se empieza a discutir la importancia de la evolución de caracteres únicos de historia natural.