

**RELACIONES FILOGENÉTICAS E
HISTORIA EVOLUTIVA DEL GÉNERO
ECHINOSAURA (SQUAMATA:
GYMNOPHTHALMIDAE)**

Juan Jacobo Rodríguez Felizzola

Universidad de Caldas

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Ciencias Biológicas

Manizales, Colombia

2023

RELACIONES FILOGENÉTICAS E HISTORIA EVOLUTIVA DEL GÉNERO *ECHINOSAURA* (SQUAMATA: GYMNOPHTHALMIDAE)

Juan Jacobo Rodríguez Felizzola

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:

Biólogo

Director: Ph. D Ghennie Tatiana Rodríguez Rey

Codirector: Doctor (c) Guido Fabián Medina Rangel

Grupo de Investigación:

Grupo de Ecología y Diversidad de Anfibios y Reptiles (GEDAR)

Línea de Investigación:

Diversidad y distribución de anfibios y reptiles

Universidad de Caldas

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Ciencias Biológicas

Manizales, Colombia

2023

Dedicatoria

A mi madre y a mi abuela

Agradecimientos

A mi familia por el apoyo brindado durante los años de desarrollo de mi Pregrado.

A la docente Ghennie T. Rodríguez Rey por toda su colaboración, enseñanzas y guianza, durante este proceso.

A Guido F. Medina Rangel por toda su colaboración y cooperación en la realización de este trabajo de grado.

Resumen

La formación de cadenas montañosas se considera como un factor que favorece los procesos evolutivos. Un ejemplo de esto es Los Andes, cuyo levantamiento ha sido asociado con la diversificación de diferentes grupos taxonómicos. El género *Echinosaura* en la actualidad cuenta con ocho especies descritas, las cuales se distribuyen desde el noroeste de Panamá hasta el norte de Ecuador. Sobre su historia evolutiva se ha hipotetizado que se originó en los Andes del Norte, por lo cual, en este estudio se pretende evaluar si el levantamiento de los Andes influyó en la diversificación y actual distribución de las especies del género *Echinosaura*. Haciendo uso de los marcadores moleculares 12S, 16S, ND4 y C-mos, se infirieron las relaciones filogenéticas, se estimaron tiempos de divergencia y se reconstruyeron los rangos ancestrales. Se propone que el origen del género *Echinosaura* se dio durante el Oligoceno, y su diversificación fue paralela a la formación intensa de los Andes del Norte y el Istmo de Panamá. Adicionalmente, a partir de análisis moleculares, se presentan cinco posibles nuevas especies candidatas pertenecientes al género.

Palabras clave: Andes del Norte, diversificación, *Echinosaura*, especies candidatas, origen.

Abstract

The formation of mountain ranges is considered a factor that favors evolutionary processes. An example of this is Los Andes, whose uplift has been associated with the diversification of different taxonomic groups. The genus *Echinosaura* currently has eight described species, which are distributed from northwestern Panama to northern Ecuador. Regarding its evolutionary history, it has been hypothesized that it originated in the Northern Andes, therefore, in this study we intend to evaluate if the uplift of the Andes influenced the diversification and current distribution of the species of the genus *Echinosaura*. Using the molecular markers 12S, 16S, ND4, and C-mos, phylogenetic relationships were inferred, divergence times were estimated, and ancestral ranges were reconstructed. It is proposed that the origin of the genus *Echinosaura* occurred during the Oligocene, and its diversification paralleled the intense formation of the Northern Andes and the Isthmus of Panama. Additionally, from molecular analyses, five possible new candidate species belonging to the genus are presented.

Keywords: Candidate species, diversification, *Echinosaura*, Northern Andes, origin.

Tabla de contenido

1. Introducción.....	1
2. Metodología.....	5
2.1 Especímenes analizados.....	5
2.2 Extracción, amplificación y secuenciación de ADN.....	7
2.3 Análisis filogenéticos y delimitación de especies.....	8
2.4 Tiempos de divergencia y análisis biogeográficos.....	12
3. Resultados	14
3.1 Análisis Filogenéticos y delimitación de especies	14
3.2 Tiempos de divergencia y análisis biogeográfico	17
4. Discusión.....	21
5. Conclusiones y recomendaciones	25
6. Anexos	26
7. Referencias bibliográficas.....	29

1. Introducción

La biogeografía en su esencia por estudiar la distribución de los organismos en un espacio geográfico y en el tiempo, es una herramienta fundamental para la biología evolutiva, ya que facilita la comprensión de los procesos de radiación adaptativa y diversificación de las especies, entre otros (Wen *et al.* 2013). Estos últimos, pueden ser causados por factores geográficos (e.g. el surgimiento de barreras o colonización de nuevos nichos), ecológicos (e.g. la especialización a nuevos recursos) y etológicos (e.g. los apareamientos selectivos) (Soler 2002; Losos 2010; Hoorn *et al.* 2013). Considerando los factores geográficos, la formación de las cadenas montañosas al generar tanto cambios climáticos y de paisaje, así como alteraciones en los gradientes ecológicos y hábitats físicos, facilitan la evolución de las especies (Hoorn *et al.* 2013), ya que pueden aislar áreas y por ende poblaciones de especies (Weir & Price 2011) o por el contrario conectarlas y generar migraciones (Cody *et al.* 2010). Adicionalmente, los levantamientos de las montañas también traen consigo cambios en los patrones de drenaje (Castelltort *et al.* 2012), los cuales pueden ser barreras o puentes para las especies (Hayes & Sewlal 2004), cambios en la circulación atmosférica (Barnes *et al.* 2012) y en el ambiente marino (Hannisdal & Peters 2011). Un claro ejemplo es la cadena montañosa de Los Andes y el río Amazonas (Hoorn *et al.* 2013).

El levantamiento de los Andes Centrales y del Norte fue originado por un movimiento de subducción de la placa de Nazca a lo largo del margen del Pacífico durante el Paleógeno entre hace 65 y 34 Ma (Hoorn *et al.* 2010). Luego, la fragmentación de las placas en el Pacífico y su posterior colisión con las placas Sudamericana y del Caribe, intensificaron el levantamiento de los Andes del Norte, a finales del Oligoceno e inicios del Mioceno cerca de hace 23 Ma, con momentos más intensos en su orogénesis durante el Mioceno medio tardío (≈ 12 Ma) y el Plioceno temprano ($\approx 4,5$ Ma) (Hoorn *et al.* 2010; Mora *et al.* 2010). Finalmente, el reajuste de las placas tectónicas condujo al cierre del Istmo de Panamá, en

un evento geológico que iniciaría aproximadamente entre los 15 Ma y los 10 Ma, y finalizaría $\approx 3,5$ Ma, lo que permitiría el Gran Intercambio Biótico Americano (GABI) (Hoorn *et al.* 2010; Bacon *et al.* 2015; Montes *et al.* 2015). La formación de los Andes produjo un notable cambio en las condiciones geológicas, climáticas y de biodiversidad (Graham 2009; Fjeldså *et al.* 2012; Giarla & Jansa 2014; Ceccarelli *et al.* 2016; Esquerré *et al.* 2019), puesto que dicho proceso orogénico tuvo como impacto el surgimiento de nuevos hábitats tales como: páramos, selvas tropicales, altiplanos y valles, que facilitaron la adaptación y diversificación de la flora y la fauna (Graham 2009; Ceccarelli *et al.* 2016).

Como resultado de lo anterior, los Andes han presentado algunas de las tasas de diversificación más altas datadas hasta el momento (Lagomarsino 2016; Madriñán *et al.* 2013; McGuire *et al.* 2014). Estos procesos evolutivos han sido documentados para diferentes grupos taxonómicos: en plantas (Luebert *et al.* 2011; Antonelli & Sanmartín 2011), escorpiones (Mattoni *et al.* 2012; Ceccarelli *et al.* 2016), arañas (Salgado-Roa *et al.* 2018), saltamontes (Pocco *et al.* 2013), abejas (Dick *et al.* 2004), mariposas (Elias *et al.* 2009), mamíferos (Patterson & Costa 2012), aves (Sedano & Burns 2010) y anfibios (Hutter *et al.* 2013; Castroviejo-Fisher *et al.* 2014; Muñoz-Ortiz *et al.* 2014; Mendoza *et al.* 2015). De igual manera, algunos estudios plantean que la formación de los Andes jugó un papel importante en la diversificación de reptiles, por ejemplo, en la familia Liolaemidae (Esquerré *et al.* 2019) y en los géneros *Liolaemus* (Schulte *et al.* 2000), *Pristidactylus* (Albino 2011) y *Stenocercus* (Torres-Carvajal 2009; Teixeira *et al.* 2016).

El clado Cercosaurinae (familia Gymnophthalmidae), al cual pertenece *Echinosaura*, tiene una edad estimada de 60 Ma (Torres-Carvajal *et al.* 2016), la cual es congruente con las primeras etapas de levantamiento de los Andes Centrales y del Norte (Hoorn *et al.* 2010). Aunque la distribución del ancestro común más reciente de Cercosaurinae aún es incierta, Torres-Carvajal *et al.* (2016) sugieren que probablemente se originaron e irradiaron en los Andes del Norte antes de llegar a los Andes Centrales en Perú. Así mismo, los autores sugieren que los linajes más basales de este clado para el norte de los Andes (*Echinosaura*, *Riama* y *Gelanesaurus*) tienen aproximadamente entre 23 y 27 Ma, por lo que la intensificación en la elevación de los Andes del Norte habría tenido una gran incidencia en

su diversificación. De otra parte, Marques-Souza *et al.* (2018) mencionan que *Echinosaura* habría comenzado a diversificarse durante el Eoceno medio.

Echinosaura Boulenger, 1890 (Squamata: Gymnophthalmidae) es un género de lagartos espinosos y ribereños, que hasta el momento cuenta con ocho especies descritas (Uetz *et al.* 2023): *E. brachycephala* Köhler, Böhme & Schmitz, 2004; *E. centralis* Dunn, 1944; *E. fischerorum* Yáñez-Muñoz, Torres-Carvajal, Reyes-Puig, Urgiles-Merchán & Koch 2021; *E. horrida* Boulenger, 1890; *E. keyi* (Fritts & Smith, 1969); *E. orcesi* Fritts, Almendáriz & Samec, 2002; *E. palmeri* Boulenger, 1911; y *E. panamensis* Barbour, 1924. En cuanto a su historia natural se sabe que estos individuos generalmente se encuentran cerca de arroyos (Uzzell 1965), y tienen hábitos semiacuáticos por lo cual han desarrollado características propias para estos ambientes como: escamación dorsal heterogénea, doble cresta caudal y un cuerpo aerodinámico (Marques-Souza *et al.* 2018). Además, se han observado debajo de hojarasca, troncos y rocas, y con hábitos tanto diurnos como nocturnos (Dunn 1944; Breder 1946; Uzzell 1965). Sobre su reproducción, Uzzell (1965) reportó para una hembra de *E. horrida* y una hembra *E. panamensis*, la presencia de un solo huevo por oviducto en cada una. Este grupo cuenta con una distribución que va desde el Noroeste de Panamá hasta el Noroeste de Ecuador (Vásquez-Restrepo *et al.* 2020). Vásquez-Restrepo *et al.* (2020) mencionan que aún no hay claridad en cuanto a la evolución del género *Echinosaura*, ni de como las especies obtuvieron sus distribuciones actuales. Por esto, se plantea a *Echinosaura* como un buen modelo para evaluar cómo los procesos del levantamiento de los Andes del Norte han afectado la diversificación de los linajes.

La extensión de los Andes del Norte ha sido definida en Jaillard *et al.* (2000), desde el extremo este de Venezuela hasta el norte de Perú, implicando así un área bastante amplia y generando una dificultad al establecer con precisión áreas ancestrales y patrones de diversificación de los taxones distribuidos en la región. Por lo tanto, en la presente investigación se evaluaron las relaciones filogenéticas de las especies del género *Echinosaura* empleando datos moleculares, con el fin de reconstruir las áreas ancestrales teniendo en cuenta la regionalización de la región tropical definida en Morrone (2014), determinar los tiempos de divergencia y evaluar el papel del levantamiento de los Andes del Norte dentro del origen y diversificación del género.

Objetivos

Objetivo general: Evaluar si el levantamiento de los Andes influyó en la diversificación y actual distribución de las especies del género *Echinosaura*.

Objetivos específicos:

1. Inferir las relaciones filogenéticas y evaluar la delimitación de especies del género *Echinosaura* empleando los marcadores moleculares 12S, 16S, ND4 y C-mos.
2. Reconstruir los rangos ancestrales y determinar los tiempos de divergencia de las especies del género *Echinosaura*.

2. Metodología

2.1 Especímenes analizados

Los tejidos de los individuos del género *Echinosaura* analizados en este estudio fueron facilitados por Guido Fabián Medina-Rangel (GFM), en el marco del proyecto “Diversidad de Anfibios y Reptiles del departamento del Chocó”, el cual se llevó a cabo entre los años 2012 y 2016. Las localidades de colecta se ubican en varios municipios del departamento del Chocó (Tabla 1; Fig. 1). Se empleó el método de búsqueda libre intensiva por encuentro visual cronometrado y revisando cuidadosamente todos los diferentes microhábitats donde potencialmente se pueden encontrar las especies de reptiles. Cada muestreo duró mínimo 4 horas a través de una distancia promedio de 2 km. Los muestreos diurnos se desarrollaron entre las 8:00 y 12:00 horas, mientras que los muestreos nocturnos se realizaron entre las 18:00 y 22:00 horas. Los especímenes de cada especie colectados fueron sacrificados por inyección de roxicaina directamente al corazón, etiquetados, fijados con formol al 10% y preservados posteriormente en alcohol al 70%. Adicionalmente, se tomaron muestras de tejidos como musculo o hígado y se conservaron en etanol absoluto al 99%.

Tabla 1. Localidades de colecta de los especímenes de *Echinosaura*. Las siglas GFM corresponden al código de colecta de los mismos.

Código	Localidad	Latitud X	Longitud Y
GFM634	Corregimiento Nauca, Reserva Indígena Río Nauca, Alto Baudó, Chocó	5,60899	-77,06084
GFM675	Corregimiento de Titumate, vereda Parcelas Capitán, Reserva de la Sociedad Civil Ormuz, Unguía, Chocó	8,26241	-77,09792

GFM703	Corregimiento de Capurgana, Vereda El Brillante, Finca Las Palomas, Acandí, Chocó	8,57737	-77,39787
GFM772	Corregimiento de Titumate, Finca Nueva Esperanza, Unguía, Chocó	8,19955	-77,10249
GFM845	Corregimiento de Tanela, vereda Titiza, Límites entre los municipios de Acandí y Unguía (Carretera entre Unguía y Acandí), Serranía de Tripoandi, Acandí, Chocó	8,30847	-77,20654
GFM858	Corregimiento de Titumate, vereda Parcelas Capitán, Reserva de la Sociedad Civil Ormuz, Unguía, Chocó	8,26241	-77,09792
GFM1009	Corregimiento Gilgal, Unguía, Chocó	8,19861	-77,06838
GFM1742	Corregimiento Pavarando Grande, Finca don Alonso, Riosucio, Chocó	7,24235	-76,55584
GFM1744	Corregimiento Pavarando Grande, Finca don Alonso, Riosucio, Chocó	7,24235	-76,55584
GFM2501	Corregimiento el Siete, El Carmen de Atrato, Chocó	5,87417	-76,21713

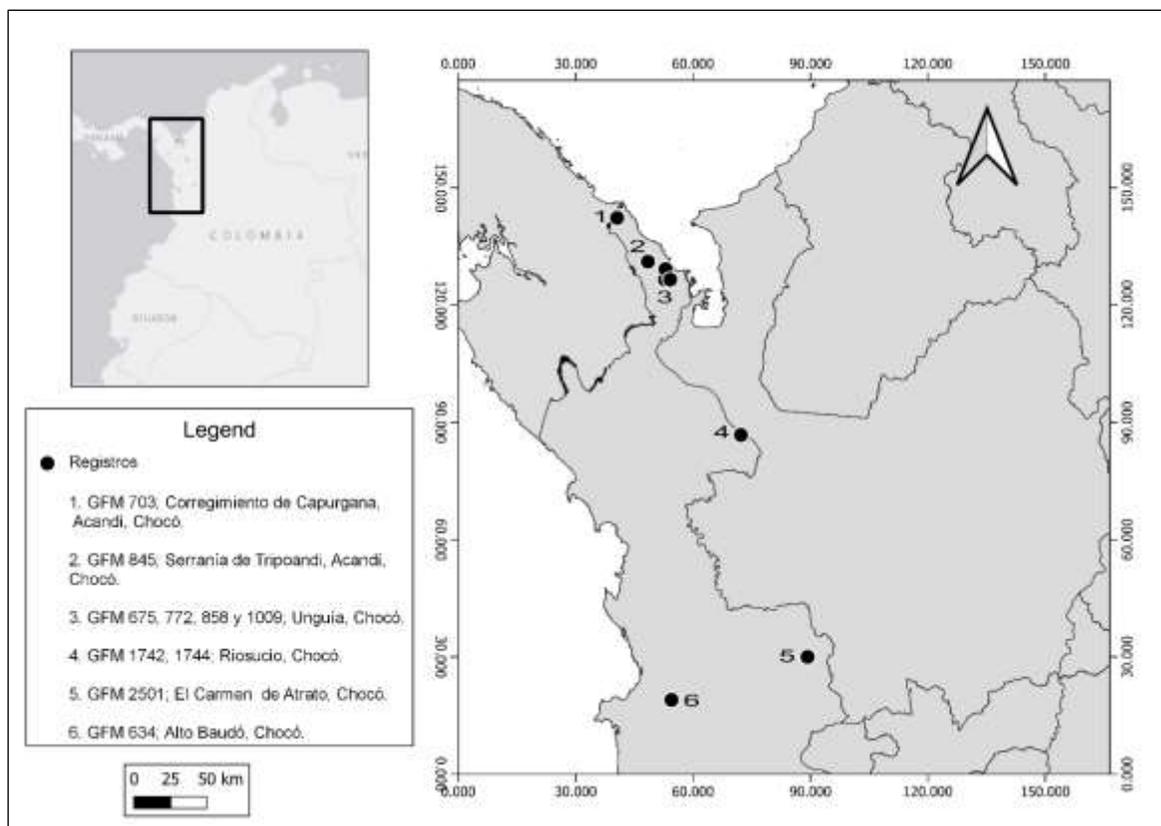


Figura 1. Localidades de colecta de los especímenes.

2.2 Extracción, amplificación y secuenciación de ADN

La extracción de ADN genómico (ADNg) se realizó siguiendo el protocolo de Miller *et al.* (1988), a partir de los tejidos de músculo e hígado almacenados en etanol al 99%. Posteriormente, los extractos de ADNg fueron cuantificados empleando un espectrofotómetro Thermo Scientific™ NanoDrop 2000/2000c y normalizados a 50 ng/μl. De allí, se amplificaron fragmentos de dos genes mitocondriales, el gen de la subunidad mayor del ARNr (16S) y la subunidad IV de la NADH deshidrogenasa (ND4), empleando los siguientes iniciadores: 16Sa (5' ATG TTT TTG ATA AAC AGG CG 3') y BR-R (5' CCG GTC TGA ACT CAG ATC ACG T 3') (Palumbi *et al.* 1991) para el gen 16S y, ND412931L

(5' CTA CCA AAA GCT CAT GTA GAA GC 3') (Blair *et al.* 2009) y ND413824H (5' CAT TAC TTT TAC TTG GAT TTG CAC CA 3') (Arévalo *et al.* 1994) para el gen ND4. Las reacciones de amplificación incluyeron 2 μ L de ADNg, 1-1,25 U de Go Taq G2 flexi ADN polimerasa, 1X de buffer de reacción, 200 μ M de dNTP Mix, 2,5 mM de MgCl₂ y 0,30 μ M de cada primer, en un volumen final de 20 μ L. Las reacciones en cadena de la polimerasa (PCR) se realizaron siguiendo los protocolos presentados en la Tabla 2, y se emplearon controles negativos para descartar probables contaminaciones en las reacciones. Tras finalizar la amplificación, los productos fueron visualizados mediante electroforesis en gel de agarosa al 1,5% teñido con Midori Green, y se usó el marcador de peso molecular 100bp DNA Ladder RTU para confirmar el tamaño del producto amplificado. Los productos con la concentración adecuada se enviaron a Macrogen, Inc (Corea del Sur) para su respectiva purificación y secuenciación en ambas direcciones. La edición de las secuencias se realizó con el programa SeqMan 7.0.0 (DNASTAR Inc).

Tabla 2. Condiciones de termociclado utilizadas para la amplificación.

GEN	PROTOCOLO
ND4	1 ciclo: 5 min 95 °C 40 ciclos: 1 min 95 °C, 30s 56 °C, 40s 72 °C 1 ciclo: 7 min 72 °C, 2 min 10 °C
16S	1 ciclo: 5 min 95 °C 40 ciclos: 1 min 95 °C, 30s 56 °C, 50s 72 °C 1 ciclo: 7 min 72 °C, 2 min 10 °C

2.3 Análisis filogenéticos y delimitación de especies

Para evaluar el estatus taxonómico de las especies del género, además de las secuencias mitocondriales generadas en este estudio para 10 especímenes, se incluyeron secuencias genéticas disponibles en el GenBank de los genes mitocondriales 16S, ND4 y 12S

(subunidad menor del ARNr), y del gen nuclear C-mos (oncogén de copia única) para las especies del género *Echinosaura* y *Riama yumborum*, especie empleada como grupo externo (Tabla 3). Los alineamientos para cada gen se llevaron a cabo en el programa MEGAX (Kumar *et al.* 2018) haciendo uso del algoritmo *Muscle* y fueron verificados manualmente para detectar posibles desajustes. Dos conjuntos de datos concatenados (16S/ND4 y 16S/ND4/12S/C-mos) fueron obtenidos empleando Mesquite 2.74 (Maddison & Maddison 2011). Posteriormente, se seleccionó según el criterio de información Bayesiano (BIC) el mejor modelo de sustitución posible en el programa ModelFinder (Kalyaanamoorthy *et al.* 2017). Estos modelos fueron: para los genes 12S y 16S, TIM2 + F + I + G4, para el ND4, TPM2uf + F + I + G4, y el gen C-mos K2P + G4, por último, para ambos conjuntos de datos concatenados, TIM2 + F + I + G4.

Los análisis filogenéticos se realizaron empleando Inferencia Bayesiana (IB) y Máxima Verosimilitud (ML). El análisis de IB se llevó a cabo en MrBayes 3.2.7a (Ronquist *et al.* 2012) a través de la plataforma de CIPRES Science Gateway (Miller *et al.* 2010). Debido a que MrBayes no implementa los modelos de sustitución TIM2 y TPM2uf, estos fueron modificados por el modelo GTR, siguiendo a Lecocq *et al.* (2013). Para este análisis, se hicieron dos corridas independientes de cuatro cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC), cada una de 15 x 10⁶ generaciones y una frecuencia de muestreo de 1.000 generaciones, además, de un *burnin* de 0,25%. Una vez obtenidos los resultados, se evaluó la convergencia de las cadenas en Tracer 1.7 (Rambaut *et al.* 2018). El análisis de ML se realizó en IQ-Tree (Trifinopoulos *et al.* 2016; <http://iqtree.cibiv.univie.ac.at/>) haciendo uso de un *bootstrap* ultrarrápido de 1.000 réplicas (Hoang *et al.* 2018). Los árboles filogenéticos fueron visualizados en FigTree 1.3.1 (Rambaut 2010).

Género	Especie	Voucher	16S	ND4	12S	C-mos	Ref
<i>Echinosaura</i>	<i>brachycephala</i>	QCAZ 10824	KU902218	KU902293	KU902137	KU902055	Torres-Carva
<i>Echinosaura</i>	<i>horrida</i>	QCAZ 6666	KU902219	KU902294	KU902138	KU902056	Torres-Carva
<i>Echinosaura</i>	<i>horrida</i>	QCAZ 8788	KU902220	KU902295	KU902139	KU902057	Torres-Carva
<i>Echinosaura</i>	<i>keyi</i>	QCAZ 8074	KU902221	KU902296	KU902140	KU902058	Torres-Carva
<i>Echinosaura</i>	<i>keyi</i>	QCAZ 12485	KU902222	KU902297	KU902141	KU902059	Torres-Carva
<i>Echinosaura</i>	<i>orcesi</i>	QCAZ 6299	KU902223	KU902298	KU902142	KU902060	Torres-Carva
<i>Echinosaura</i>	<i>orcesi</i>	QCAZ 10022	KU902224	KU902299	KU902143	KU902061	Torres-Carva
<i>Echinosaura</i>	<i>centralis</i>	MHUAR12387	MN275481	MN606049	MN275473	MN606045	Vásquez-Re 2020
<i>Echinosaura</i>	<i>centralis</i>	MHUAR12583	MN275482	MN606050	MN275474	MN606046	Vásquez-Re 2020
<i>Echinosaura</i>	<i>centralis</i>	MHUAR13332	MN275483	MN606051	MN275475	MN606047	Vásquez-Re 2020
<i>Echinosaura</i>	<i>palmeri</i>	CD4163	MN275484	MN606052	MN275476	—	Vásquez-Re 2020
<i>Echinosaura</i>	<i>palmeri</i>	MHUAR12671	MN275485	MN606053	MN275477	MN606048	Vásquez-Re 2020
<i>Echinosaura</i>	<i>panamensis</i>	CH5345	MH140720	MN606054	—	—	Mulcahy et al
<i>Echinosaura</i>	<i>panamensis</i>	CH8482	MH140722	MN606055	—	—	Mulcahy et al
<i>Echinosaura</i>	<i>fisherorum</i>	DHMECN15208	MW525212	MW512699	MW525209	MW512701	Yáñez-Muñoz
<i>Echinosaura</i>	<i>fisherorum</i>	DHMECN14058	MW525211	MW512698	MW525208	MW512700	Yáñez-Muñoz
<i>Riama</i>	<i>yumborum</i>	QCAZ10827	KJ948142	KJ948170	KJ948195	KJ948216	Aguirre-Peña

Tabla 3. Secuencias del GenBank empleadas en los análisis filogenéticos y de delimitación de especies

La delimitación de especies se realizó tanto para los genes 16S y ND4 individualmente, como para el conjunto de datos concatenados formado por estos dos genes. Con el fin de establecer las *MOTUs* (*Molecular Operational Taxonomic Units*), se emplearon dos métodos de distancias: Automatic Barcode Gap Discovery (ABGD) (Puillandre *et al.* 2012) y Assemble Species by Automatic Partitioning (ASAP) (Puillandre *et al.* 2021), los cuales se basan en las distancias genéticas intraespecíficas e interespecíficas que permiten detectar el gap que genera la delimitación. Para estos métodos, se usó la distancia de Kimura 2-parámetros (K2P) y sus correspondientes plataformas web (<https://bioinfo.mnhn.fr/abi/public/abgd/abgdweb.html>, <https://bioinfo.mnhn.fr/abi/public/asap/asapweb.html>). De igual manera, se emplearon métodos basados en coalescencia y cladogénesis, como Poisson Tree Processes model (bPTP) (Zhang *et al.* 2013) y Generalized Mixed Yule Coalescent (GMYC) (Fujisawa & Barraclough 2013). bPTP es un análisis basado en filogenias no ultramétricas, el cual delimita las especies que presentan más de un linaje genético; para esto se utilizó el árbol de ML generado, además, de 1 x 10⁵ generaciones de MCMC en la plataforma <https://species.h-its.org/ptp/>. En el caso de GMYC, que se apoya en filogenias ultramétricas (calibradas) y determina las especies detectando los cambios en la tasa de ramificación entre la coalescencia y la cladogénesis, el árbol de ML fue transformado en un árbol ultramétrico empleando el paquete ape (Paradis & Schliep 2019) y, posteriormente, se implementó la prueba de delimitación mediante el paquete splits (método = umbral múltiple) (Fujisawa & Barraclough 2013) del programa estadístico R Core Team (2021). Finalmente, se implementó el método Species Tree And Classification Estimation (STACEY) (Jones 2017) del programa BEAST 2.7.3 (Bouckaert *et al.* 2019), que se basa en un modelo coalescente de múltiples especies, y es usado para varios genes o locis (Jones 2017), como el conjunto de datos concatenados usado en este trabajo. Para este análisis, el archivo de entrada fue generado en BEAUti de BEAST 2.7.3, usando como prior del árbol de especies el modelo Yule [priors: collapse height = 0,0001; collapse weight = 0,5 usando un beta *prior* (Alpha = 1,0, Beta = 1,0); bdcGrowthRate = log normal (M = 4,6, S = 2,0); popPriorScale = log normal (M = 1,0, S = 1,25); relativeDeathRate = uniform (lower = -0,5, upper = 0,5); Ploidy = 0,5] y se precisó un reloj molecular relajado (Drummond *et al.* 2006). Se corrieron

1 x 10¹² generaciones de MCMC con una frecuencia de muestreo de 50.000 generaciones, a través de la plataforma de CIPRES Science Gateway. Luego se evaluó la convergencia de las cadenas en Tracer 1.7, y los archivos de salida generados, fueron procesados en el programa Species Delimitation Analyser (Jones *et al.* 2015) para poder revisar la delimitación de las MOTUs. Igualmente haciendo uso de MEGAX, se calcularon las distancias genéticas intra e inter MOTUs con el modelo K2P para los genes 16S y ND4.

2.4 Tiempos de divergencia y análisis biogeográficos

Para la estimación de los tiempos de divergencia se utilizaron las secuencias para los genes 12S, 16S, ND4 y C-mos de la Tabla 1 en el trabajo de Torres-Carvajal *et al.* (2016, p. 66-69), al igual que las secuencias obtenidas en este estudio. Tres calibraciones secundarias de Zheng & Wiens (2016) usadas por Torres-Carvajal *et al.* (2016) fueron empleadas: a) Nodo Cercosaurinae: *prior* normal, media = 59,23 Ma, SD = 1; b) Divergencia entre Placosoma y Neusticurus: *prior* normal, media = 44,36 Ma, SD = 1; y c) Clado Anadia, Cercosaura, Macroholidus, Oresosaurus, Petracola, Pholidobolus, Proctoporus, Potamites, *unamedclade2*, y *unamedclade3*: *prior* normal, media = 36,55 Ma, SD = 1. Además, se usaron nueve calibraciones secundarias para los géneros obtenidas por Torres-Carvajal *et al.* (2016): d) Cercosaura: *prior* normal, media = 26,35 Ma, SD = 1; e) Gelanesaurus: *prior* normal, media = 23,19 Ma, SD = 1; f) Macroholidus: *prior* normal, media = 15,6 Ma, SD = 1; g) Neusticurus: *prior* normal, media = 26,38 Ma, SD = 1; h) Petracola: *prior* normal, media = 15,66 Ma, SD = 1; i) Pholidobolus: *prior* normal, media = 17,25 Ma, SD = 1; j) Placosoma: *prior* normal, media = 16,8 Ma, SD = 1; k) Potamites: *prior* normal, media = 16,76 Ma, SD = 1; l) Riama: *prior* normal, media = 26,28 Ma, SD = 1. El archivo de entrada fue generado en BEAUti de BEAST 1.10.4 (Suchard *et al.* 2018), usando como modelos de sustitución GTR + F + I + G4 para los genes 16S y ND4, TIM2 + F + I + G4 para 12S, y K2P + G4 para C-mos. Se empleó un reloj relajado no correlacionado con distribución lognormal (Drummond *et al.* 2006), y el modelo *Birth-Death Process* (Gernhard 2008) fue implementado como prior del árbol. Se definieron 1,2 x10⁸ generaciones de MCMC, con una frecuencia de muestreo de cada 1.000 generaciones y un *burnin* del 10%.

Dos análisis fueron corridos en la plataforma CIPRES Science Gateway y, después de verificar la convergencia de las cadenas en Tracer 1.7, los archivos de salida fueron combinados empleando LogCombiner de BEAST 1.10.4. Posteriormente, el árbol de *Maximum clade credibility* (MCC) fue obtenido en TreeAnnotator de BEAST 1.10.4., y el cronograma fue editado en R Core Team (2021) empleando el paquete *strap* (Bell & Lloyd 2015) para generar la escala geológica.

Por último, a partir de los árboles de IB se ejecutó un análisis de rangos ancestrales en RASP 3.2 (Yu *et al.* 2015), haciendo uso del análisis estadístico *Bayesian Binary* MCMC (BBM), con 1 x 10⁶ generaciones de MCMC y un *burnin* del 10%. Para el análisis, se establecieron 7 provincias geográficas siguiendo la regionalización de la región tropical sugerida por Morrone (2014). La provincia del Cauca fue dividida en Cauca Colombia y Cauca Ecuador, con el fin de obtener mayor exactitud en los análisis. Para asignar las provincias a las especies, se revisó la distribución de cada una y se siguió la asignación realizada por Vásquez-Restrepo *et al.* (2020).

3. Resultados

3.1 Análisis Filogenéticos y delimitación de especies

Se obtuvo un alineamiento de 1939 pares de bases (pb), distribuidos de la siguiente manera: 532 pb del 16S, 651 pb del ND4, 370 pb del 12S, y 386 pb del el C-mos. Los análisis de Máxima Verosimilitud (ML) (Fig. S1 del material suplementario) e Inferencia Bayesiana (IB) (Fig. 2) presentaron topologías similares en términos generales y se evidencia una división en dos clados: clado norte y clado sur. El clado sur está conformado por *Echinosaura orcesi*, *E. keyi*, *E. brachycephala*, *E. horrida* y *E. fischerorum*, mientras que el clado norte contiene a *E. palmeri*, *E. EC4*, *E. centralis*, *E. EC5*, *E. panamensis*, *E. EC3*, *E. EC2* y *E. EC1*. Además, es importante destacar que la relación de *E. panamensis* con las otras especies dentro del clado norte es aún incierta, ya que se recuperó en posiciones diferentes en ambos árboles y los soportes estadísticos fueron bajos (Fig. 2, Fig. S1). Esto también se evidenció con *E. brachycephala*, la cual varió su posición entre el análisis de tiempo de divergencia y los árboles de ML e IB, para estos últimos, se recuperó en la misma posición, aunque con soportes estadísticos bajos (Fig. 2 y 3).

Para los análisis de delimitación de especies se encontró que todos los individuos evaluados en este trabajo conforman cuatro MOTUs diferentes con altos soportes estadísticos (Fig. 2). Tres MOTUs próximamente relacionadas: la MOTU 1 conformada por seis individuos colectados en la región del Darién al norte del Chocó en los Municipios de

Acandí y Unguía (GFM 772, 703, 858, 675, 1009 y 845), la MOTU 2 integrada por dos individuos del Municipio de Riosucio al norte del Chocó en la región del Darién (GFM 1742 y 1744), y la MOTU 3 representada por una única muestra (GFM 2501) del oriente del Chocó en el Municipio de El Carmen de Atrato. Por último, la MOTU 8 que contiene a GFM 634,

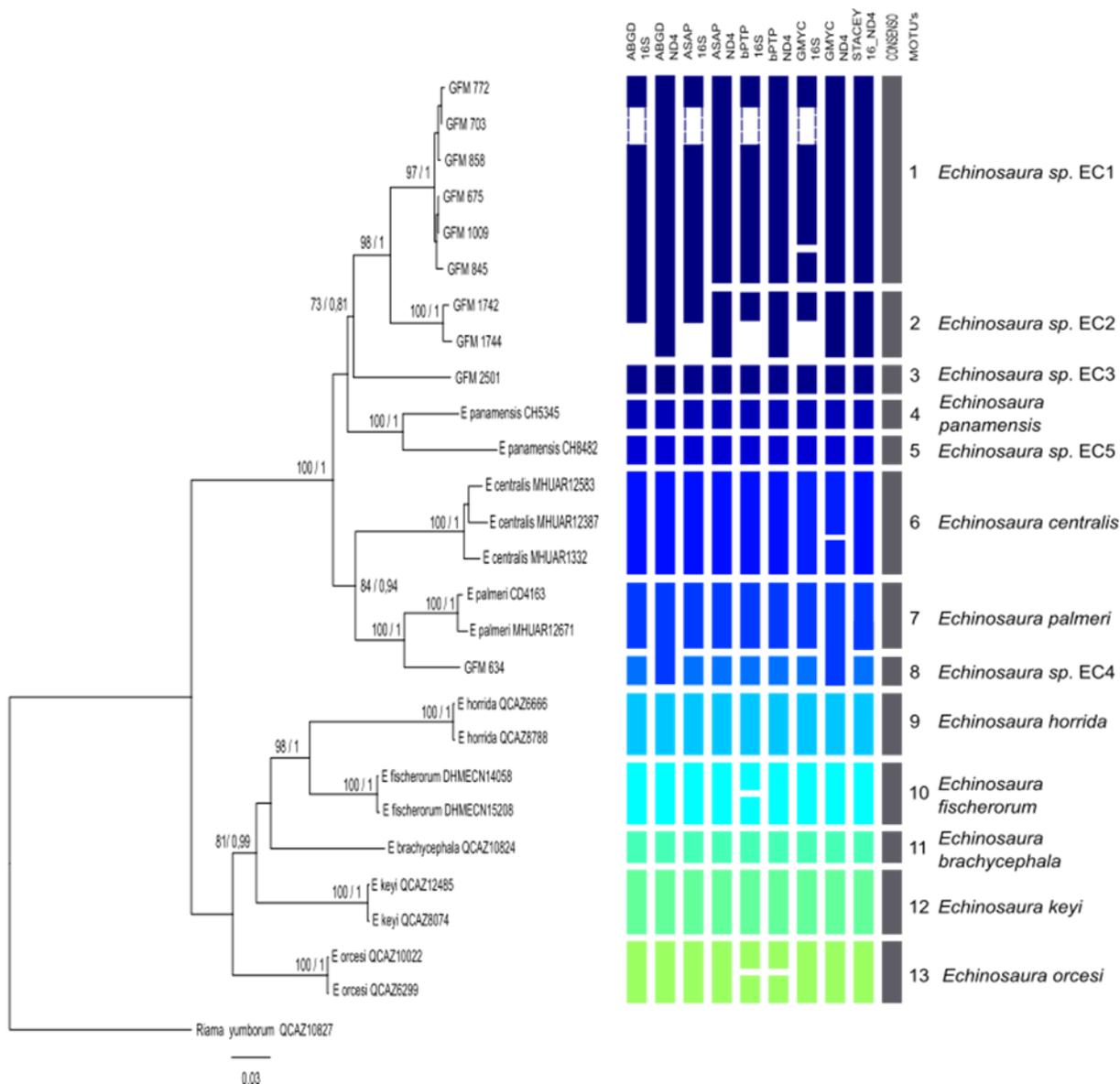


Figura 2. Filogenia de Inferencia Bayesiana de *Echinosaurella* basada en el conjunto de datos concatenado. Se indican los valores superiores al 70% de ML e IB respectivamente. Se presentan los análisis de delimitación de especies por ABGD, ASAP, bPTP, GMYC y

STACEY, al igual que el consenso que muestra las MOTUs finales obtenidas de los análisis de delimitación. Las especies candidatas nuevas son representadas por EC.

colectado en el Municipio Alto Baudó en la región centro sur del Chocó, se recuperó como linaje hermano de *E. palmeri*. Estas MOTUs fueron denominadas como posibles especies candidatas (*Echinosaurea* EC1, *Echinosaurea* EC2, *Echinosaurea* EC3 y *Echinosaurea* EC4, respectivamente) (Fig. 4). Adicionalmente, las especies identificadas por Mulcahy *et al.* (2022) como *E. panamenis* se separaron en dos MOTUs (MOTUs 4 y 5), por lo cual se decide dejar la muestra más próxima a la localidad tipo de la especie como *E. panamenis* y, la otra muestra se define como una posible especie candidata (*Echinosaurea* EC5) (Fig. 2).

Las distancias genéticas InterMOTUs para el gen ND4 varían entre 9,47% y 31,80%, mientras que para el gen 16S las mismas distancias van desde 1,68% hasta 14,94% (Tabla 4). Las posibles especies candidatas definidas en este trabajo presentan distancias genéticas considerables. Para el gen ND4 la MOTU 1 presenta distancias de 9,47% y 14,91% respecto a las MOTUs 2 y 3, la MOTU 8 presenta una distancia de 11,13% respecto a su especie hermana (*E. palmeri*), y la distancia entre la MOTU 5 y *E. panamensis* es de 14,80%. En el caso del gen 16S la MOTU 1 presenta distancias de 1,68% y 7,46% con las MOTUs 2 y 3, por su parte la MOTU 8 y *E. palmeri* presenta una distancia de 4,68%, y la MOTU 5 y *E. panamenis* se distancian en un 4,12% (Tablas S1 y S2 del material suplementario).

Tabla 4. Rangos de distancias genéticas Intra e Inter MOTUs (%), para los genes 16S y ND4.

	16S	ND4
Distancia intra MOTUs	(0 – 1,62)	(0 – 3,83)
Distancia inter MOTUs	(1,68 – 17,72)	(9,47 – 31,80)

3.2 Tiempos de divergencia y análisis biogeográfico

El género *Echinosaura* probablemente se originó en el Oligoceno hace $\approx 27,29$ Ma (HPD = 22,56 – 32,20) en la provincia de Cauca en la región de Ecuador (probabilidad del área de 0,77) (Fig. 3; Tabla 5). Posteriormente, durante el Mioceno temprano y medio ocurrieron diferentes diversificaciones ($\approx 21,81$ – 11,41 Ma) dentro de la misma región que dieron origen a las especies del clado sur compuesto por *E. orcesi*, *E. keyi*, *E. brachycephala*, *E. fischerorum* y *E. horrida*. Así mismo, algunas de estas especies dispersaron hacia el norte en la parte sur de la provincia Chocó-Darién, y al sur hacia el norte de la provincia Ecuador-Occidental dando como resultado las distribuciones actuales de las especies mencionadas para el clado. Por otro lado, durante este mismo periodo probablemente ocurrió un evento de dispersión hacia la provincia Chocó-Darién que dio origen al ancestro del clado norte compuesto por *E. EC4*, *E. palmeri*, *E. centralis*, *E. panamensis*, *E. EC5*, *E. EC3*, *E. EC2* y *E. EC1* hace $\approx 15,29$ Ma (HPD = 11,97 – 18,80; probabilidad del área de 0,36). El ancestro del clado diversificó principalmente durante el Mioceno medio y tardío tanto en el área ancestral (Chocó-Darién) como en la región de Colombia de la provincia Cauca ($\approx 13,48$ – 6,24 Ma). No obstante, dentro de este clado también se presentaron dispersiones probablemente desde la provincia Chocó-Darién hacia la provincia del Magdalena, generando la diversificación de *E. centralis*, y desde la provincia Cauca en Colombia hacia la provincia Guatuso Talamanca en Panamá, dando origen al ancestro común de *E. panamensis* y *E. EC5*. Todas las áreas ancestrales y edades de los nodos pueden ser consultadas en la Fig. 3 y en la Tabla 5.

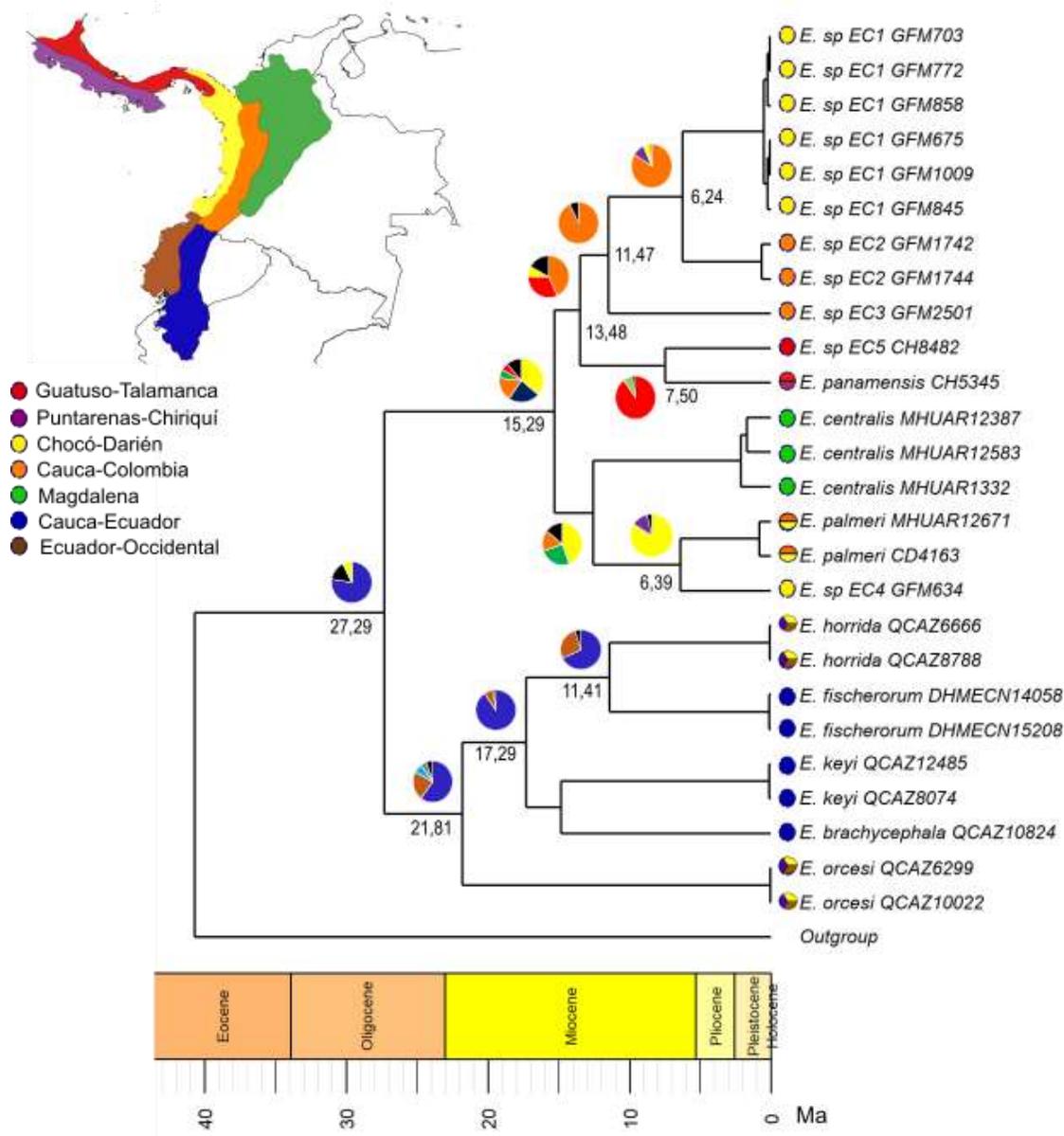


Figura 3. Tiempos de divergencia y reconstrucción de áreas ancestrales para *Echinosauro*. Árbol de máxima credibilidad del clado basado en el conjunto de datos concatenado. Las áreas biogeográficas más probables se muestran en los círculos de los nodos (el área en cada torta es proporcional a la probabilidad máxima). Las distribuciones actuales de las especies se muestran en los círculos de las puntas de cada rama, al lado del nombre de cada especie. Los colores correspondientes a las diferentes distribuciones geográficas se muestran en el mapa. Las otras especies empleadas en el análisis fueron removidas *a posteriori* para mayor claridad.

Tabla 5. Tiempos de divergencia para los nodos representativos de *Echinosaura*. Se presentan las edades estimadas en Ma y el intervalo de confianza (95% HPD). Las edades son las presentadas en la Fig. 4. A: Provincia Guatuso-Talamanca, B: Provincia Puntarenas-Chiriquí, C: Provincia Chocó-Darién, D: Provincia Cauca-Colombia, E: Provincia Magdalena, F: Provincia Ecuador-Occidental, G: Provincia Cauca-Ecuador y H: Otros.

Clado	Edad nodo		Probabilidades	
	Edad	95% HPD	Posterior	Área Ancestral
<i>Echinosaura</i>	27,29	22,56 – 32,20	1	G = 0,78; C = 0,07; H = 0,15
<i>E. fischerorum</i> , <i>E. horrida</i> , <i>E. brachycephala</i> , <i>E. keyi</i> , <i>E. orcesi</i> .	21,81	16,80 – 26,90	0,97	G = 0,60; FG = 0,22; CG = 0,07 H=
<i>E. fischerorum</i> , <i>E. horrida</i> , <i>E. brachycephala</i> , <i>E. keyi</i> .	17,29	12,98 – 22,20	1	G = 0,90; FG = 0,08; H= 0,02
<i>E. brachycephala</i> , <i>E. keyi</i> .	14,83	10,09 – 19,70	0,83	–
<i>E. EC1</i> , <i>E. EC2</i> , <i>E. EC3</i> , <i>E. EC4</i> , <i>E. EC5</i> , <i>E. palmeri</i> , <i>E. centralis</i> , <i>E. panamensis</i> .	15,29	11,97 – 18,80	1	C = 0,36; G = 0,23; D = 0,17; H = 0
<i>E. EC1</i> , <i>E. EC2</i> , <i>E. EC3</i> , <i>E. EC5</i> , <i>E. panamensis</i> .	13,48	10,14 – 16,90	0,41	D = 0,43; A = 0,32; C = 0,08; H = 0
<i>E. EC4</i> , <i>E. palmeri</i> , <i>E. centralis</i> .	12,56	9,08 – 16,10	0,83	C = 0,44; E = 0,25; D = 0,16; H = 0
<i>E. EC1</i> , <i>E. EC2</i> , <i>E. EC3</i>	11,47	7,80 – 15,30	0,94	D = 0,93; H = 0,07
<i>E. fischerorum</i> , <i>E. horrida</i> .	11,41	7,09 – 15,90	1	G = 0,68; FG = 0,28; H = 0,04
<i>E. EC5</i> , <i>E. panamensis</i> .	7,50	4,36 – 10,87	1	A = 0,90; AB = 0,08; H = 0,02
<i>E. EC4</i> , <i>E. palmeri</i> .	6,39	3,67 – 9,34	1	C = 0,84; CD = 0,12; H = 0,3
<i>E. EC1</i> , <i>E. EC2</i> .	6,24	3,47 – 9,24	1	D = 0,84; CD = 0,09; C = 0,6; H =

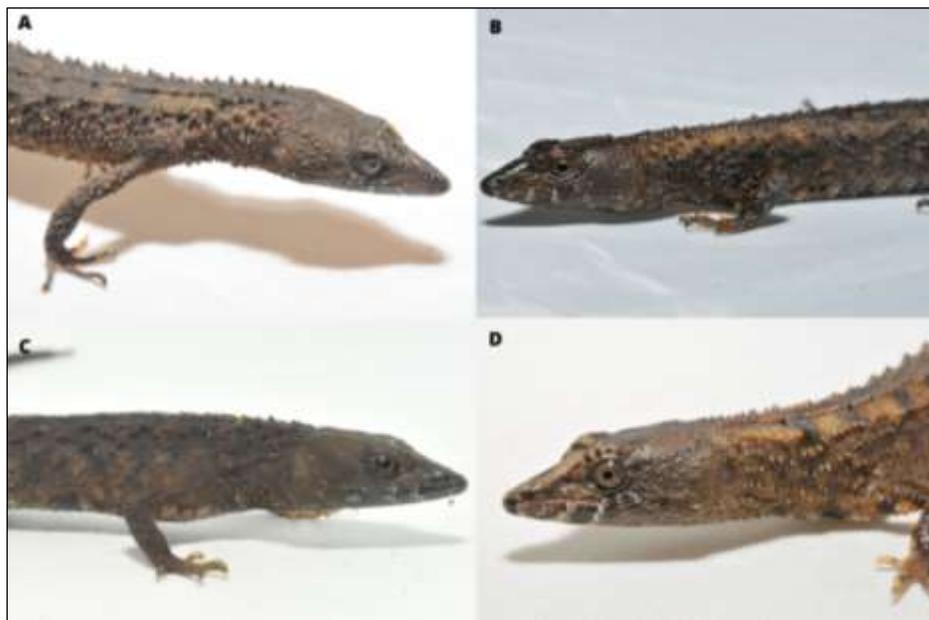


Figura 4. Especímenes de *Echinosauro* propuestos como posibles especies candidatas. A. *E. EC1* GFM 772, B. *E. EC2* GFM 1744, C. *E. EC3* GFM 2501 y D. *E. EC4* GFM 634. Fotos: Guido Fabián Medina Rangel.

4. Discusión

Las relaciones filogenéticas de los lagartos del grupo Cercosaurinae han sido evaluadas por diferentes autores durante los últimos años. Trabajos como los de Goicoechea *et al.* (2012), Torres-Carvajal *et al.* (2015), Torres-Carvajal *et al.* (2016), Sánchez-Pacheco *et al.* (2017), Marques-Souza *et al.* (2018), Moravec *et al.* (2018), Murphy *et al.* (2020) y Vásquez-Restrepo *et al.* (2020), han permitido no sólo dilucidar las relaciones filogenéticas de la subfamilia, sino también de géneros como *Cercosaura*, *Bachia*, *Echinosaura*, *Proctoporus* y *Riama*, adicionalmente, esto ha contribuido a establecer nuevos grupos como: *Andinosaura*, *Centrosaura*, *Oreosaurus*, *Rheosaurus* y *Selvasaura*. Para el caso de *Echinosaura*, Vásquez-Restrepo *et al.* (2020) y Yáñez-Muñoz *et al.* (2021) presentan filogenias congruentes entre sí, que prueban la monofilia del grupo. En el presente estudio, si bien los análisis filogenéticos obtenidos (ML e IB) fueron semejantes, algunas relaciones con bajo soporte estadístico generan incertidumbre. Para el análisis de ML, el clado (*E. panamensis*, *E. EC5*) se recuperó como grupo hermano de (*E. centralis*, (*E. palmeri*, *E. EC4*)) al igual que en Vásquez-Restrepo *et al.* (2020) y Yáñez-Muñoz *et al.* (2021), mientras que para el análisis de IB y tiempos de divergencia, se presentó como grupo hermano de (*E. EC3*, (*E. EC2*, *E. EC1*)). Por otro lado, *E. brachycephala* según los análisis de ML e IB es el linaje hermano de (*E. fischerorum*, *E. horrida*), lo que es semejante al resultado obtenido en IB por Yáñez-Muñoz *et al.* (2021) y al de ML de Vásquez-Restrepo *et al.* (2020). No obstante, según el análisis de tiempos de divergencia *E. brachycephala* es la especie hermana de *E. keyi*, resultado similar al obtenido por Torres-Carvajal *et al.* (2016). Finalmente, en los análisis filogenéticos *E. orcesi* siempre se observó, con bajo soporte estadístico, como el linaje hermano de (*E. keyi*, (*E. brachycephala*, (*E. fischerorum*, *E. horrida*))) como en el árbol de ML de Torres-Carvajal *et al.* (2016). Sin embargo, este resultado es diferente a lo presentado por Vásquez-Restrepo *et al.* (2020) y Yáñez-Muñoz *et al.* (2021), donde *E. orcesi* es el linaje hermano de (*E. panamensis*, (*E. centralis*, *E. palmeri*)). Las incertidumbres en las relaciones mencionadas en este trabajo pueden deberse a la inclusión de muestras de linajes crípticos antes no evaluados, que están generando nuevas relaciones filogenéticas dentro del grupo. Igualmente, es necesario aumentar los datos moleculares de los nuevos linajes, obteniendo secuencias de los genes

12S y C-mos, para así reconstruir hipótesis mejor soportadas y ayudar a clarificar las relaciones filogenéticas.

En cuanto a la delimitación de especies, los resultados aquí presentados demuestran la existencia de diversidad críptica dentro de *Echinosaura*, como fue sugerido por Yáñez-Muñoz *et al.* (2021). Las distancias genéticas entre las especies candidatas propuestas y sus especies hermanas varió entre 1,68 – 7,46% para el gen 16S y entre 9,47 – 16,97% para el gen ND4. Aunque algunas de estas distancias genéticas son inferiores a las reportadas por Vásquez-Restrepo *et al.* (2020) y Yáñez-Muñoz *et al.* (2021) (16S: 5,6 – 12,6 % y 6 – 14% respectivamente; ND4: 17,2 – 25,4 % y 20 – 35% respectivamente), son semejantes a las reportadas para el género *Cercosaura* (Gymnophthalmidae) por Torres-Carvajal *et al.* (2015) (16S: 4,3 – 10,5 %; ND4: 8,4 – 29,3 %), validando así algunos valores bajos que se obtuvieron para las especies candidatas propuestas. Además, como lo mencionó Vásquez-Restrepo *et al.* (2020), las especies que se distribuyen en el norte (clado norte) tienen menores distancias genéticas interespecíficas (16S: 1,68 – 9,91 % y ND4: 9,47 – 23,71 % en este estudio; 16S: 5,6 – 8,2 % y ND4: 17,6 – 17,9 % para el estudio de Vásquez-Restrepo *et al.*) que las especies distribuidas en el sur (16S: 5,91 – 9,38 % y ND4: 18,44 – 23,70 % en este estudio; 16S: 6,5 – 8,2 % y ND4: 17,2 – 19,2 % para el estudio de Vásquez-Restrepo *et al.*). Por lo anterior, aparte de completar los datos moleculares de las especies candidatas, es preciso revisar la morfología de los individuos, evaluando los caracteres propios del género expuestos en Vásquez-Restrepo *et al.* (2020) y, la osteología del cráneo y la cintura pélvica como lo proponen Yáñez-Muñoz *et al.* (2021) con el fin de realizar un análisis integrativo para la delimitación de dichas especies.

Por otra parte, debido a la presencia de posibles especies nuevas candidatas presentadas en este trabajo, las distribuciones de *E. palmeri* y *E. panamensis* deben ser revisadas, puesto que las especies candidatas fueron colectadas en zonas donde habitualmente los registros son asociados a dichas especies. De igual manera, la distribución parapátrica de las especies del norte (*E. centralis*, *E. palmeri* y *E. panamensis*) mencionada en Vásquez-Restrepo *et al.* (2020) se debe reevaluar, ya que existe la posibilidad de que estas estén co-distribuidas con las especies candidatas.

Con respecto al origen del género *Echinosaura*, estudios previos han propuesto dos posibles escenarios empleando calibraciones semejantes. Torres-Carvajal *et al.* (2016) sugieren que el origen de este género ocurrió durante el Oligoceno hace $\approx 27,68$ Ma (HPD = 21,41 – 34,11) en los Andes del Norte, mientras que Marques-Souza *et al.* (2018) indican que *Echinosaura* comenzó a diversificarse durante el Eoceno medio, entre hace 47 – 41 Ma aproximadamente. Los resultados del presente estudio concuerdan con que el origen de los echinosauros ocurrió durante el Oligoceno, y es probable que la datación más antigua obtenida por Marques-Souza *et al.* (2018) pudo haberse visto influenciada por la inclusión de *E. apodema*, actualmente reconocida como *Centrosaura apodema* (Vásquez-Restrepo *et al.* 2020).

Según, Hoorn *et al.* (2010) y Mora *et al.* (2010) desde el Paleógeno han existido diferentes periodos de levantamiento intensificado de los Andes. Uno de ellos, que ocurrió durante el Oligoceno coincide con el origen del género. Mientras que el momento más intenso de formación de los Andes del Norte, durante el Mioceno medio tardío y el Plioceno temprano, coincide con la etapa de mayor diversificación dentro del género *Echinosaura* (Tabla 5). Es probable que los movimientos orogénicos mencionados anteriormente y que se dieron entre los 33 Ma y 4,5 Ma, hayan generado barreras que permitieran la diversificación y la distribución tanto de los ancestros como de las especies actuales del género. Dichas barreras probablemente estén asociadas al ambiente físico del Chocó biogeográfico, donde a lo largo del mismo se pueden encontrar distintos valores de precipitación, temperatura y humedad, además, de diferentes hábitats (Poveda *et al.* 2004). Teixeira *et al.* (2016), también reportan una diversificación del género *Stenocercus* (familia Tropiduridae) asociada con la fase más intensa del levantamiento de los Andes, el cual presenta una distribución más amplia que *Echinosaura*, pues se encuentra desde Venezuela hasta el centro de Argentina.

Las diversificaciones más recientes dentro del género corresponden a especies del clado norte. Entre estas se encuentra la presentada por *E. EC5* y *E. panamensis*, cuyo ancestro se ubica en la provincia Guatuso Talamanca en Panamá $\approx 7,5$ Ma (HPD = 4,36 – 10,87), y el cual probablemente proviene de un evento de dispersión y colonización desde la provincia Cauca en Colombia hace ≈ 13.48 Ma. En esta región, uno de los eventos

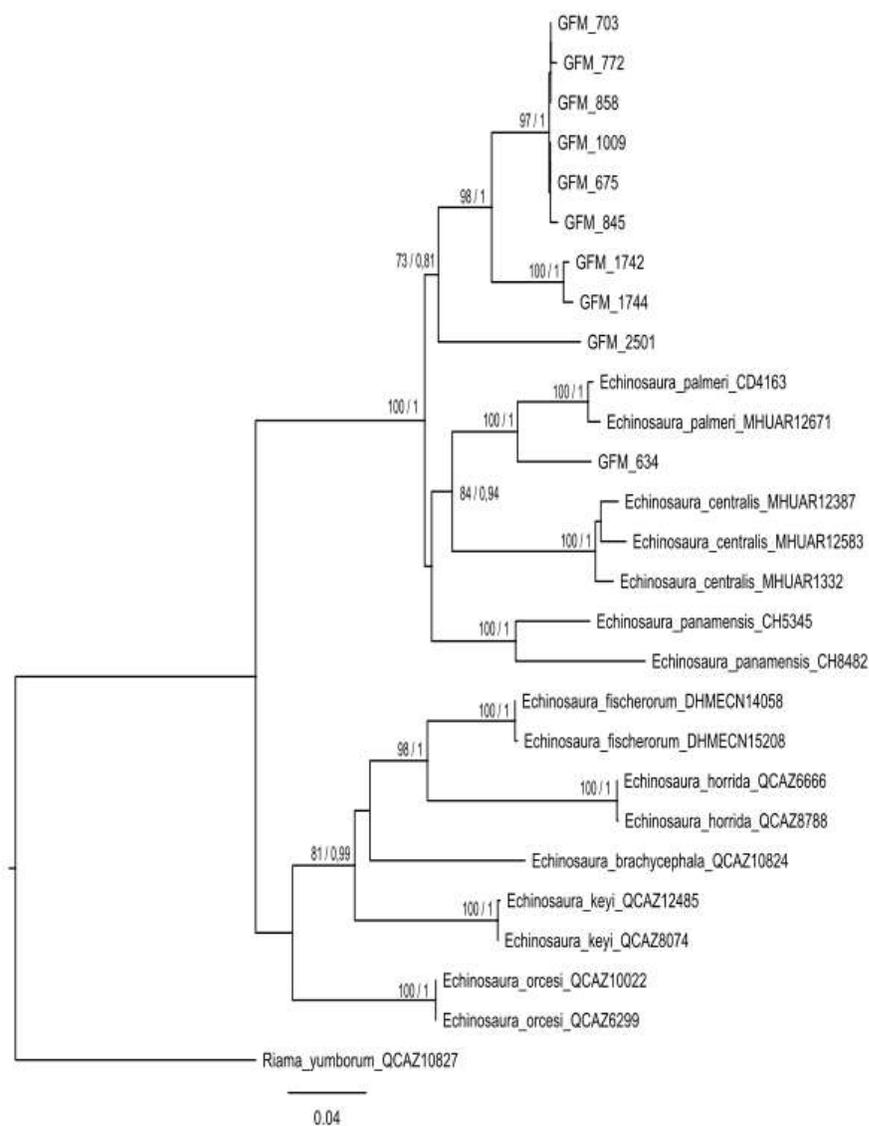
geológicos que ocurrió durante el Mioceno y que influyó en los patrones de diversificación de los linajes fue el proceso de formación y cierre del istmo de Panamá. Según Montes *et al.* (2015), entre los 15 – 10 Ma ocurrió una disminución en el intercambio de aguas profundas e intermedias entre el Caribe y el Pacífico, probablemente relacionada con la elevación del volcán El Valle que solo permitió el intercambio de aguas poco profundas y someras. Esto condujo a la conexión de tierra firme entre Suramérica y Centroamérica durante el Mioceno medio, a través del puente del Baudó el cual conectaba las serranías de San Blas-Darién y del Baudó (Campbell *et al.* 2000; Kirby & MacFadden 2005; Montes *et al.* 2015; Pelegrin *et al.* 2018). Finalmente, el cierre del Istmo se daría hace \approx 3,5 Ma durante el Plioceno dando paso al Gran Intercambio Biótico Americano (GABI) (Hoorn *et al.* 2010). No obstante, múltiples procesos de intercambio de fauna y flora han sido establecidos durante Mioceno antes del GABI, como podría ser el caso del ancestro común de las especies más al norte de *Echinosaura*, ya que son individuos semiacuáticos y seguramente aguas poco profundas y tranquilas no serían una barrera infranqueable para estos. Bacon *et al.* (2015), mencionan la dispersión de organismos terrestres en distintas épocas entre los 20 Ma – 6 Ma. El intercambio de fauna antes del cierre del Istmo se ha reportado en ambos sentidos. De Norteamérica a Suramérica, Weir *et al.* (2009) reportan el paso de aves Icteridae y Mimidae entre 6,4 \square 8,4 Ma, y Forasiepi *et al.* (2014) el paso de mamíferos prociénidos hace 9 Ma. Y de Suramérica a Norteamérica, Weir *et al.* (2009) reportan el paso de aves Thraupidae hace 8,4 Ma, y Laurito & Valerio (2012) el de mamíferos, los Megalonychidae entre 6,5 \square 8,5 Ma. Por otro lado, Cody *et al.* (2010) mencionan que las anguilas (Synbranchidae), los roedores (Sigmodontinae) y los murciélagos (Balantiopteryx) migraron antes de los 10 Ma. Adicionalmente, Kirby & MacFadden (2005) analizando los molares de mamíferos terrestres determinaron la conexión de tierra firme entre las dos partes del continente en el Mioceno medio. Por último, con respecto a anfibios y reptiles, Estes & Baéz (1985) contemplan un intercambio de Suramérica a Norteamérica durante el Mioceno temprano-medio para *Leptodactylus*, *Anolis* y *Cnemidophorus*. Y para el sentido contrario, reportan durante el Mioceno tardío la migración de *Tryonix*, *Charactosuchus* y colúbridos a Suramérica.

5. Conclusiones y recomendaciones

En conclusión, el género *Echinosaura* se originó y diversificó a la par del levantamiento de los Andes del Norte y de la formación del Istmo de Panamá, lo cual pudo haber determinado la distribución de las especies que lo componen. Sin embargo, es necesario revisar la morfología, ecología y complementar los datos moleculares (obtener secuencias de los genes 12S y C-mos) de las posibles especies nuevas candidatas para esclarecer algunas relaciones filogenéticas que a su vez darán mayor certeza sobre la historia evolutiva del grupo. Además, considerando que es probable que los individuos distribuidos entre el oriente y occidente de Panamá corresponden a linajes diferentes, como lo demuestran los resultados de este trabajo, es importante obtener datos moleculares de la localidad tipo y a lo largo de la distribución de *E. panamensis* que permitan evaluar la presencia de especies crípticas. Por último, ya que el gradiente altitudinal en la familia Gymnophthalmidae parece ser un factor importante en la especiación del grupo (e.g. *Cercosaura*, *Oreosaurus* o *Riama*) (Torres-Carvajal *et al.* 2015; Sánchez-Pacheco *et al.* 2017) es importante considerar la obtención de una mayor cantidad de ejemplares secuenciados que abarquen la distribución de las especies *E. palmeri* o *E. centralis*, las cuales presentan amplias distribuciones y extensos rangos de altura, con el fin de reunir mayor y mejor evidencia sobre la variabilidad genética de dichas especies.

6. Anexos

Anexo 1: Figura 1S. Filogenia de Máxima Verosimilitud de *Echinosaura* basada en el conjunto de datos concatenado. Se indican los valores superiores al 70% de ML e IB respectivamente.



Anexo 2: Tabla S1. Distancias Kimura-2-parámetros (%) para las especies de *Echinosaura* a partir del fragmento 16S. Número de especímenes indicado entre paréntesis.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. <i>E. EC1</i> (6)	0,49											
2. <i>E. EC2</i> (2)	1,68	–										
3. <i>E. EC3</i> (1)	7,46	5,18	–									
4. <i>E. EC4</i> (1)	7,59	4,02	9,91	–								
5. <i>E. brachycephala</i> (1)	11,73	10,03	14,94	16,10	–							
6. <i>E. centralis</i> (3)	6,73	5,57	8,77	7,99	12,00	1,62						
7. <i>E. fischerorum</i> (2)	11,60	8,16	14,54	16,51	5,91	11,57	0					
8. <i>E. horrida</i> (2)	12,47	9,41	14,77	17,72	7,65	11,59	7,82	0				
9. <i>E. keyi</i> (2)	13,01	8,78	14,24	16,93	8,86	12,76	7,62	9,38	0			
10. <i>E. orcesi</i> (2)	9,77	8,57	11,82	13,34	8,59	10,26	7,91	8,47	8,38	0		
11. <i>E. palmeri</i> (2)	5,72	3,39	6,70	4,68	12,60	5,49	11,44	13,14	12,35	9,06	0,59	
12. <i>E. panamensis</i> (1)	5,28	3,97	7,12	8,24	12,25	6,94	10,53	13,34	12,13	10,54	6,03	–
13. <i>E. EC5</i> (1)	7,40	4,14	8,75	7,82	12,85	7,75	12,52	14,03	13,79	11,03	6,39	4,12

Anexo 3: Tabla S2. Distancias Kimura-2-parámetros (%) para las especies de *Echinosaura* a partir del fragmento ND4. Número de especímenes indicado entre paréntesis.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. <i>E. EC3</i> (1)	–											
2. <i>E. EC1</i> (6)	14,91	0,21										
3. <i>E. EC2</i> (2)	16,97	9,47	1,14									
4. <i>E. EC4</i> (1)	18,89	17,14	16,43	–								
5. <i>E. fischerorum</i> (2)	26,91	21,34	21,13	24,42	0,31							
6. <i>E. EC5</i> (1)	23,30	17,93	17,13	19,20	29,55	–						
7. <i>E. panamensis</i> (1)	21,46	16,97	19,28	19,73	23,91	14,80	–					
8. <i>E. palmeri</i> (2)	15,84	18,88	16,39	11,13	22,91	23,71	18,15	1,47				
9. <i>E. centralis</i> (3)	21,03	20,44	20,89	21,05	29,51	21,59	19,69	20,71	3,83			
10. <i>E. orcesi</i> (2)	27,00	24,79	24,86	24,80	23,70	25,38	22,36	25,72	27,13	0		
11. <i>E. keyi</i> (2)	25,76	24,67	24,15	25,46	18,62	29,01	24,76	28,09	31,80	20,20	0,32	
12. <i>E. horrida</i> (2)	27,36	23,58	24,60	23,84	18,44	28,06	23,98	25,10	28,67	22,62	21,20	0,16
13. <i>E. brachycephala</i> (1)	23,81	25,78	24,87	25,31	20,29	26,87	26,42	25,44	27,83	22,67	20,04	22,03

7. Referencias bibliográficas

- Aguirre-Penafiel, V., Torres-Carvajal, O., Nunes, P.M.S., Peck, M.R. & Maddock, S.T. (2014). A new species of *Riama* Gray, 1858 (Squamata: Gymnophthalmidae) from the tropical Andes. *Zootaxa*, 3866(2), 246-260.
- Albino, A.M. (2011). Evolution of Squamata reptiles in Patagonia based on the fossil record. *Biological Journal of the Linnean Society*, 103(2), 441-457.
- Antonelli, A. & SanMartín, I. (2011). Why are there so many plant species in the Neotropics? *Taxon*, 60(2), 403-414.
- Arévalo, E., Davis, S.K. & Sites Jr, J. W. (1994). Mitochondrial DNA sequence divergence and phylogenetic relationships among eight chromosome races of the *Sceloporus grammicus* complex (Phrynosomatidae) in central Mexico. *Systematic Biology*, 43(3), 387-418.
- Bacon, C. D., Silvestro, D., Jaramillo, C., Smith, B. T., Chakrabarty, P. & Antonelli, A. (2015). Biological evidence supports an early and complex emergence of the Isthmus of Panama. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(19), 6110-6115.
- Barbour, T. 1924. Two noteworthy new lizards from Panama. *Proceedings of the New England Zoological Club*, 9, 7-10.
- Barnes, J. B., Ehlers, T. A., Insel, N., McQuarrie, N. & Poulsen, C. J. (2012). Linking orography, climate, and exhumation across the central Andes. *Geology*, 40(12), 1135-1138.
- Bell, M. A. & Lloyd, G. T. (2015). strap: an R package for plotting phylogenies against stratigraphy and assessing their stratigraphic congruence. *Paleontology*, 58, 379-389.

- Blair, C., Méndez de La Cruz, F.R., Ngo, A., Lindell, J., Lathrop, A. & Murphy, R.W. (2009). Molecular phylogenetics and taxonomy of leaf-toed geckos (Phyllodactylidae: *Phyllodactylus*) inhabiting the peninsula of Baja California. *Zootaxa*, 2027(1), 28-42.
- Bouckaert, R., Vaughan, T.G., Barido-Sottani, J., Duchêne, S., Fourment, M., Gavryushkina, A., *et al.* (2019) BEAST 2.5: An advanced software platform for Bayesian evolutionary analysis. *PLoS computational biology*, 15(4), e1006650.
- Boulenger, G.A. 1890. First report on additions to the lizard collection in the British Museum (Natural History). *Proceeding of the Scientific Meetings of the Zoological Society of London*, 1890, 77–86.
- Boulenger, G.A. 1911. Descriptions of new reptiles from the Andes of South America, preserved in the British Museum. *Annals and Magazine of Natural History, Including Zoology, Botany and Geology*, 7, 19–25.
- Breder, C. M. JR. (1946). Amphibians and rep-tiles of the Rio Chucunaque drainage, Darien, Panama, with notes on their life histories and habits. *Bulletin American Museum of Natural History*, 86, 375-436.
- Campbell, K.E. Jr., Frailey, C.D. & Romero-Pittman, L. (2000). The late Miocene gomphothere *Amahuacatherium peruvium* (Proboscidea: Gomphotheriidae) from Amazonian Peru: implications for the Great American Faunal Interchange. *Instituto de Geológico Minero y Metalúrgico, Serie D: Estudios Regionales*, 23 (1), 1–152.
- Castelltort, S., Goren, L., Willett, S. D., Champagnac, J. D., Herman, F. & Braun, J. (2012). River drainage patterns in the New Zealand Alps primarily controlled by plate tectonic strain. *Nature Geoscience*, 5(10), 744-748.
- Castroviejo-Fisher, S., Guayasamin, J.M., Gonzalez-Voyer, A. & Vilà, C. (2014). Neotropical diversification seen through glassfrogs. *Journal of Biogeography*, 41(1), 66-80.
- Ceccarelli, F.S., Ojanguren-Affilastro, A.A., Ramírez, M.J., Ochoa, J.A., Mattoni, C.I. & Prendini, L. (2016). Andean uplift drives diversification of the bothriurid scorpion genus *Brachistosternus*. *Journal of Biogeography*, 43(10), 1942-1954.
- Cody, S., Richardson, J. E., Rull, V., Ellis, C. & Pennington, R. T. (2010). The great American biotic interchange revisited. *Ecography*, 33(2), 326-332.

- Dick, C.W., Roubik, D.W., Gruber, K.F. & Bermingham, E. (2004). Long-distance gene flow and cross-Andean dispersal of lowland rainforest bees (Apidae: Euglossini) revealed by comparative mitochondrial DNA phylogeography. *Molecular Ecology*, 13(12), 3775-3785.
- Drummond, A.J., Ho, S.Y.W., Phillips, M.J. & Rambaut, A. (2006). Relaxed phylogenetics and dating with confidence. *PLoS biology*, 4(5), e88.
- Dunn, E. R. (1944). The lizard genus *Echinosaura* (Teiidae) in Colombia. *Caldasia*, 2, 397–398.
- Dunn, E.R. (1944). Notes on Colombian herpetology, II. The lizard genus *Echinosaura*. *Caldasia*, 2, 397-405.
- Elias, M.J.B.P., Joron, M., Willmott, K., Silva-Brandão, K.L., Kaiser, V., Arias, C.F., ... & Jiggins, C. D. (2009). Out of the Andes: patterns of diversification in clearwing butterflies. *Molecular Ecology*, 18(8), 1716-1729.
- Esquerré, D., Brennan, I.G., Catullo, R.A., Torres-Pérez, F. & Keogh, J.S. (2019). How mountains shape biodiversity: The role of the Andes in biogeography, diversification, and reproductive biology in South America's most species-rich lizard radiation (Squamata: Liolaemidae). *Evolution*, 73(2), 214-230.
- Estes, R. & Baez, A. (1985). Herpetofaunas of North and South America during the Late Cretaceous and Cenozoic: evidence for interchange? *In*: Stehli, F. G. & Webb, S. D. (Eds), *The great American biotic interchange* Springer US: Boston, MA, pp. 139-197.
- Fjeldså, J., Bowie, R.C. & Rahbek, C. (2012). The role of mountain ranges in the diversification of birds. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 43, 249-265.
- Forasiepi, A. M., Soibelzon, L. H., Gomez, C. S., Sánchez, R., Quiroz, L. I., Jaramillo, C. & Sánchez-Villagra, M. R. (2014). Carnivorans at the Great American Biotic Interchange: new discoveries from the northern neotropics. *Naturwissenschaften*, 101, 965-974.
- Fritts, T.H. & Smith, H.M. (1969). A new teiid lizard genus from western Ecuador. *Transactions of the Kansas Academy of Science (1903-)*, 72(1), 54-59.

- Fritts, T.H., Almendáriz, A. & Samec, S. (2002). A new species of *Echinosaura* (Gymnophthalmidae) from Ecuador and Colombia with comments on other members of the genus and *Teuchocercus keyi*. *Journal of Herpetology*, 36(3), 349-355.
- Fujisawa, T. & Barraclough, T. G. (2013). Delimiting species using single-locus data and the Generalized Mixed Yule Coalescent approach: a revised method and evaluation on simulated data sets. *Systematic biology*, 62(5), 707-724.
- Fujisawa, T., & Barraclough, T.G. (2013). Delimiting species using single-locus data and the Generalized Mixed Yule Coalescent approach: a revised method and evaluation on simulated data sets. *Systematic biology*, 62(5), 707-724.
- Gernhard, T. (2008). The conditioned reconstructed process. *Journal of theoretical biology*, 253(4), 769-778.
- Giarla, T.C., & Jansa, S.A. (2014). The role of physical geography and habitat type in shaping the biogeographical history of a recent radiation of Neotropical marsupials (*Thylamys*: Didelphidae). *Journal of Biogeography*, 41(8), 1547-1558.
- Goicoechea, N., Padial, J.M., Chaparro, J.C., Castroviejo-Fisher, S. & De la Riva, I. (2012). Molecular phylogenetics, species diversity, and biogeography of the Andean lizards of the genus *Proctoporus* (Squamata: Gymnophthalmidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 65(3), 953-964.
- Graham, A. (2009). The Andes: a geological overview from a biological perspective. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 96(3), 371-385.
- Hannisdal, B. & Peters, S. E. (2011). Phanerozoic Earth system evolution and marine biodiversity. *science*, 334(6059), 1121-1124.
- Hayes, F. E. & Sewlal, J. A. N. (2004). The Amazon River as a dispersal barrier to passerine birds: effects of river width, habitat and taxonomy. *Journal of Biogeography*, 31(11), 1809-1818.
- Hoang, D. T., Chernomor, O., Von Haeseler, A., Minh, B. Q. & Vinh, L. S. (2018). UFBoot2: improving the ultrafast bootstrap approximation. *Molecular biology and evolution*, 35(2), 518-522.
- Hoorn, C., Mosbrugger, V., Mulch, A. & Antonelli, A. (2013). Biodiversity from mountain building. *Nature Geoscience*, 6(3), 154-154.

- Hoorn, C., Wesselingh, F.P., Ter Steege, H., Bermudez, M.A., Mora, A., Sevink, J., ... & Antonelli, A. (2010). Amazonia through time: Andean uplift, climate change, landscape evolution, and biodiversity. *science*, 330(6006), 927-931.
- Hutter, C.R., Guayasamin, J.M. & Wiens, J.J. (2013). Explaining Andean megadiversity: the evolutionary and ecological causes of glassfrog elevational richness patterns. *Ecology letters*, 16(9), 1135-1144.
- Jaillard, E., Hérail, G., Monfret, T., Díaz-Martínez, E., Baby, P., Lavenu, A. & Dumont, J.F. (2000). Tectonic evolution of the Andes of Ecuador, Peru, Bolivia and northernmost Chile. In: Cordani, U.G., Milani, E.J., Thomaz-Filho, A. & Campos, D.A. (Eds.), *Tectonic Evolution of South America. Brazilian Academy of Science*, Brazil, Rio de Janeiro, pp. 481–559.
- Jones, G. (2017). Algorithmic improvements to species delimitation and phylogeny estimation under the multispecies coalescent. *Journal of mathematical biology*, 74, 447-467.
- Jones, G., Aydin, Z. & Oxelman, B. (2015). DISSECT: an assignment-free Bayesian discovery method for species delimitation under the multispecies coalescent. *Bioinformatics*, 31(7), 991-998.
- Kalyaanamoorthy, S., Minh, B.Q., Wong, T.K., Von Haeseler, A. & Jermini, L.S. (2017) ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nature methods*, 14(6), 587-589.
- Kirby, M. X. & MacFadden, B. (2005). Was southern Central America an archipelago or a peninsula in the middle Miocene? A test using land-mammal body size. *Palaeogeography, palaeoclimatology, palaeoecology*, 228(3-4), 193-202.
- Köhler, G., Böhme, W. & Schmitz, A. (2004). A new species of *Echinosaura* (Squamata: Gymnophthalmidae) from Ecuador. *Journal of Herpetology*, 38(1), 52-60.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018) MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35, 1547-1549.

- Lagomarsino, L.P., Condamine, F.L., Antonelli, A., Mulch, A. & Davis, C.C. (2016). The abiotic and biotic drivers of rapid diversification in Andean bellflowers (Campanulaceae). *New Phytologist*, 210(4), 1430-1442.
- Laurito, C.A. & Valerio, A.L. (2012). Primer registro fósil de *Pliometanastes* sp. (Mammalia, Xenarthra, Megalonychidae) para el Mioceno Superior de Costa Rica, América Central. Una Nueva Pista en la Comprensión del Pre-GABI. *Revista Geológica de América Central*, 47, 95-108.
- Lecocq, T., Vereecken, N.J., Michez, D., Dellicour, S., Lhomme, P., Valterova, I., ... & Rasmont, P. (2013) Patterns of genetic and reproductive traits differentiation in mainland vs. Corsican populations of bumblebees. *PLoS One*, 8(6), e65642.
- Losos, J. B. (2010). Adaptive radiation, ecological opportunity, and evolutionary determinism: American Society of Naturalists EO Wilson Award address. *The American Naturalist*, 175(6), 623-639.
- Luebert, F., Hilger, H.H. & Weigend, M. (2011). Diversification in the Andes: age and origins of South American Heliotropium lineages (Heliotropiaceae, Boraginales). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 61(1), 90-102.
- Maddison, W.P. & Maddison, D.R. (2011). Mesquite: A modular system for evolutionary analysis. Versión 2.74. <http://mesquiteproject.org>
- Madriñán, S., Cortés, A.J. & Richardson, J.E. (2013). Páramo is the world's fastest evolving and coolest biodiversity hotspot. *Frontiers in genetics*, 4, 192.
- Marques-Souza, S., Prates, I., Fouquet, A., Camacho, A., Kok, P.J., Nunes, P.M., ... & Rodrigues, M.T. (2018). Reconquering the water: Evolution and systematics of South and Central American aquatic lizards (Gymnophthalmidae). *Zoologica Scripta*, 47(3), 255-265.
- Mattoni, C. I., Ochoa, J. A., Ojanguren Affilastro, A. A. & Prendini, L. (2012). *Orobothriurus* (Scorpiones: Bothriuridae) phylogeny, Andean biogeography, and the relative importance of genitalic and somatic characters. *Zoologica Scripta*, 41(2), 160-176.
- McGuire, J. A., Witt, C. C., Remsen, J. V., Corl, A., Rabosky, D. L., Altshuler, D. L. & Dudley, R. (2014). Molecular phylogenetics and the diversification of hummingbirds. *Current Biology*, 24(8), 910-916.

- Mendoza, Á.M., Ospina, O.E., Cárdenas-Henao, H. & García-R, J.C. (2015). A likelihood inference of historical biogeography in the world's most diverse terrestrial vertebrate genus: Diversification of direct-developing frogs (Craugastoridae: Pristimantis) across the Neotropics. *Molecular phylogenetics and evolution*, 85, 50-58.
- Miller, M.A., Pfeiffer, W. & Schwartz, T. (2010) Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. *Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop*, 1, 1–8.
- Miller, S., Dykes, D. & Polesky, H. (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic acids res*, 16(3), 1215.
- Montes, C., Cardona, A., Jaramillo, C., Pardo, A., Silva, J. C., Valencia, V., ... & Niño, H. (2015). Middle Miocene closure of the Central American seaway. *Science*, 348(6231), 226-229.
- Mora, A., Baby, P., Roddaz, M., Parra, M. & Brusset, S. (2010). Tectonic history of the Andes and sub-Andean zones: implications for the development of the Amazon drainage basin. *In*: Hoorn, C. & Wesselingh, F.P. (Eds), *Amazonia, Landscape and Species Evolution*. Wiley, Oxford, pp. 38-60.
- Moravec, J., Šmíd, J., Štundl, J. & Lehr, E. (2018). Systematics of Neotropical microteiid lizards (Gymnophthalmidae, Cercosaurinae), with the description of a new genus and species from the Andean montane forests. *ZooKeys*, (774), 105.
- Morrone, J.J. (2014). Biogeographical regionalisation of the Neotropical region. *Zootaxa*, 3782(1), 1-110.
- Mulcahy, D.G., Ibáñez, R., Jaramillo, C.A., Crawford, A.J., Ray, J.M., Gotte, S.W., ... & de Queiroz, K. (2022) DNA barcoding of the National Museum of Natural History reptile tissue holdings raises concerns about the use of natural history collections and the responsibilities of scientists in the molecular age. *Plos one*, 17(3), e0264930.
- Muñoz-Ortiz, A., Velásquez-Álvarez, Á.A., Guarnizo, C.E. & Crawford, A.J. (2014). Of peaks and valleys: testing the roles of orogeny and habitat heterogeneity in driving allopatry in mid-elevation frogs (Aromobatidae: Rheobates) of the northern Andes. *Journal of Biogeography*, 42(1), 193-205.

- Murphy, J. C., Salvi, D., Santos, J. L., Braswell, A. L., Charles, S. P., Borzée, A. & Jowers, M. J. (2019). The reduced limbed lizards of the genus *Bachia* (Reptilia, Squamata, Gymnophthalmidae); biogeography, cryptic diversity, and morphological convergence in the eastern Caribbean. *Organisms Diversity & Evolution*, 19, 321-340.
- Palumbi, S.R., Martin, A., Romano, S., Owen, W., Stice, L., Grabowski, G. (1991). *The simple fool's guide to PCR*. Department of Zoology, University of Hawaii: Honolulu. 45pp.
- Paradis, E. & Schliep, K. (2019). ape 5.0: an environment for modern phylogenetics and evolutionary analyses in R. *Bioinformatics*, 35(3), 526-528.
- Patterson, B. D., & Costa, L. P. (Eds.). (2019). *Bones, clones, and biomes: the history and geography of recent neotropical mammals*. University of Chicago Press. Chicago, USA, 432 pp.
- Pelegrin, J. S., Gamboa, S., Menéndez, I. & Fernández, M. H. (2018). El gran intercambio biótico Americano: una revisión paleoambiental de evidencias aportadas por mamíferos y aves neotropicales. *Ecosistemas*, 27(1), 5-17.
- Pocco, M.E., Posadas, P., Lange, C.E. & Cigliano, M.M. (2013). Patterns of diversification in the high Andean *Ponderacris* grasshoppers (Orthoptera: Acrididae: Melanoplinae). *Systematic Entomology*, 38(2), 365-389.
- Poveda, I. C., Rojas, C. A., Rudas, A. & Rangel, J. O. (2004). El Chocó Biogeográfico: Ambiente físico. In: Rangel, J. O. (Eds), *Diversidad Biótica IV. El chocó Biogeográfico/Costa Pacífica*. Universidad Nacional de Colombia, Instituto de Ciencias Naturales, Conservación Internacional. Bogotá, D.C, pp. 1–22.
- Puillandre, N., Brouillet, S. & Achaz, G. (2021). ASAP: assemble species by automatic partitioning. *Molecular Ecology Resources*, 21(2), 609-620.
- Puillandre, N., Lambert, A., Brouillet, S. & Achaz, G. (2012) ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery form primary species delimitation. *Molecular Ecology*, 21, 1864–1877.
- R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

- Rambaut, A. (2010) FigTree v1.3.1. Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh, Edinburgh. Available from: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>
- Rambaut, A., Drummond, A.J., Xie, D., Baele, G. & Suchard, M.A. (2018) Posterior summarisation in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic Biology*, 67, 901–904.
- Ronquist, F., Teslenko, M., Van der Mark, P., Ayres, D.L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, M.A. & Huelsenbeck, J.P. (2012) MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*, 61, 539–542.
- Salgado-Roa, F.C., Pardo-Díaz, C., Lasso, E., Arias, C.F., Solferini, V.N. & Salazar, C. (2018). Gene flow and Andean uplift shape the diversification of *Gasteracantha cancriformis* (Araneae: Araneidae) in Northern South America. *Ecology and Evolution*, 8(14), 7131-7142.
- Sánchez-Pacheco, S. J., Torres-Carvajal, O., Aguirre-Peñafiel, V., Nunes, P. M. S., Verrastro, L., Rivas, G. A. ... & Murphy, R. W. (2017). Phylogeny of *Riama* (Squamata: Gymnophthalmidae), impact of phenotypic evidence on molecular datasets, and the origin of the Sierra Nevada de Santa Marta endemic fauna. *Cladistics*, 34(3), 260-291.
- Schulte, J.A., Macey, J R., Espinoza, R.E. & Larson, A. (2000). Phylogenetic relationships in the iguanid lizard genus *Liolaemus*: multiple origins of viviparous reproduction and evidence for recurring Andean vicariance and dispersal. *Biological Journal of the Linnean Society*, 69(1), 75-102.
- Sedano, R.E. & Burns, K.J. (2010). Are the Northern Andes a species pump for Neotropical birds? Phylogenetics and biogeography of a clade of Neotropical tanagers (Aves: Thraupini). *Journal of Biogeography*, 37(2), 325-343.
- Soler, M. (2002). *Evolución: la base de la biología*. Proyecto Sur, Granada, España, 552 pp.
- Suchard, M.A., Lemey, P., Baele, G., Ayres, D.L., Drummond, A.J., & Rambaut, A. (2018). Bayesian phylogenetic and phylodynamic data integration using BEAST 1.10. *Virus evolution*, 4(1), vey016.

- Teixeira Jr, M., Prates, I., Nisa, C., Silva-Martins, N.S.C., Strüssmann, C. & Rodrigues, M. T. (2016). Molecular data reveal spatial and temporal patterns of diversification and a cryptic new species of lowland *Stenocercus* Duméril & Bibron, 1837 (Squamata: Tropiduridae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 94, 410-423.
- Torres-Carvajal, O. (2009). Sistemática filogenética de las lagartijas del género *Stenocercus* (Squamata: Iguania) de los Andes del norte. *Revista mexicana de biodiversidad*, 80(3), 727-740.
- Torres-Carvajal, O., Lobos, S. E., & Venegas, P. J. (2015). Phylogeny of Neotropical *Cercosaura* (Squamata: Gymnophthalmidae) lizards. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 93, 281-288.
- Torres-Carvajal, O., Lobos, S.E., Venegas, P.J., Chávez, G., Aguirre-Peñafiel, V., Zurita, D. & Echevarría, L.Y. (2016). Phylogeny and biogeography of the most diverse clade of South American gymnophthalmid lizards (Squamata, Gymnophthalmidae, Cercosaurinae). *Molecular phylogenetics and evolution*, 99, 63-75.
- Trifinopoulos, J., Nguyen, L.T., Von Haeseler, A. & Minh, B. Q. (2016). W-IQ-TREE: a fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis. *Nucleic acids research*, 44(W1), W232-W235.
- Uetz, P., Freed, P, Aguilar, R., Reyes, F. & Hošek, J. (eds.) (2023). The Reptile Database, <http://www.reptile-database.org>, accessed [01/05/2023]
- Uzzell, T. M. (1965). Teiid lizards of the genus *Echinosaura*. *Copeia*, 1965, 82–89.
- Vásquez-Restrepo, J.D., Ibáñez, R., Sánchez-Pacheco, S.J. & Daza, J.M. (2020). Phylogeny, taxonomy and distribution of the Neotropical lizard genus *Echinosaura* (Squamata: Gymnophthalmidae), with the recognition of two new genera in Cercosaurinae. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 189(1), 287-314.
- Weir, J. T. & Price, M. (2011). Andean uplift promotes lowland speciation through vicariance and dispersal in *Dendrocincla* woodcreepers. *Molecular Ecology*, 20(21), 4550-4563.
- Weir, J. T., Bermingham, E. & Schluter, D. (2009). The great American biotic interchange in birds. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(51), 21737-21742.

- Wen, J., Ree, R.H., Ickert-Bond, S.M., Nie, Z. & Funk, V. (2013). Biogeography: where do we go from here? *Taxon*, 62(5), 912-927.
- Yáñez-Muñoz, M.H., Torres-Carvajal, O., Reyes-Puig, J.P., Urgiles-Merchán, M.A., & Koch, C. (2021). A new and very spiny lizard (Gymnophthalmidae: *Echinosaura*) from the Andes in northwestern Ecuador. *PeerJ*, 9, e12523.
- Yu, Y., Harris, A.J., Blair, C. & He, X. (2015). RASP (Reconstruct Ancestral State in Phylogenies): a tool for historical biogeography. *Molecular phylogenetics and evolution*, 87, 46-49.
- Zhang, J., Kapli, P., Pavlidis, P. & Stamatakis, A. (2013). A general species delimitation method with applications to phylogenetic placements. *Bioinformatics*, 29(22), 2869-2876.
- Zheng, Y. & Wiens, J. J. (2016). Combining phylogenomic and supermatrix approaches, and a time-calibrated phylogeny for squamate reptiles (lizards and snakes) based on 52 genes and 4162 species. *Molecular phylogenetics and evolution*, 94, 537-547.