

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR**

**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES**

**ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**Filogenia y conservación de las lagartijas andinas del género *Riama* (Squamata:  
Gymnophthalmidae) de Ecuador**

**Disertación previa a la obtención del título de Licenciada en Ciencias Biológicas**

**VANESSA ANDREA AGUIRRE PEÑAFIEL**

**QUITO, 2012**

Certifico que la disertación de Licenciatura de Ciencias Biológicas de la candidata Vanessa Andrea Aguirre Peñafiel ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para las calificaciones pertinentes.

Dr. Omar Torres Carvajal

Director de la Disertación

29 de Junio del 2012

*Porque lo importante no es solo soñar, sino realizarlo.*

*Gracias por apoyarme.*

*A mi familia y amigos.*

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Omar Torres Carvajal, director de la disertación, por sus valiosas enseñanzas, apoyo constante y por haberme brindado su confianza desde un inicio.

A Santiago Ron y Andrés Merino por sus comentarios, ayuda y consejos. A María Eugenia Ordoñez, Charlie Barnes, Ítalo Tapia, David Salazar, Diego Páez-Moscoso, Marcel Carminer, Mario Yáñez-Muñoz, Paulina Santiana y compañeros del museo y laboratorio de molecular del QCAZ por sus aportes en la elaboración del presente trabajo. A Simon Maddock y Mika Peck (Earthwatch Institute), William Chamorro, Juan Pablo Reyes (EcoMinga Foundation y FOER) por su contribución en la fase de campo. A Luis A. Coloma por colaborar con material fotográfico y por sus consejos a lo largo de toda la carrera.

A Paola Mafla, Gabriela Bautista, Andrea Rodríguez, Fernando Ayala, Simón Lobos, Diego Paucar, Estefanía Boada, Amaranta Carvajal, Silvia Aldás y Andrea Narváez por compartir sus conocimientos, brindarme su ayuda y amistad en todo momento. A mi familia y amigos, que con su apoyo, preocupación y amor me dieron fuerzas para jamás darme por vencida.

Finalmente, a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador y al proyecto SENESCYT N° PIC-08-00470, titulado “Inventario y Caracterización genética y morfológica de la diversidad de anfibios, aves y reptiles de los Andes del Ecuador”, por el financiamiento en esta investigación.

## TABLA DE CONTENIDOS

AGRADECIMIENTOS.....	V
TABLA DE CONTENIDOS.....	VI
LISTA DE FIGURAS.....	IX
LISTA DE TABLAS.....	X
LISTA DE ANEXOS.....	XII
1. RESUMEN.....	1
2. ABSTRACT.....	2
3. INTRODUCCIÓN.....	3
3.1. ANTECEDENTES.....	7
3.2. OBJETIVOS.....	9
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	10
4.1. COLECCIÓN DE MATERIAL.....	10
4.2. ANÁLISIS MOLECULARES.....	11
4.2.1. EXTRACCIÓN, AMPLIFICACIÓN Y SECUENCIAMIENTO DEL ADN.....	11
4.2.2. ENSAMBLAJE, EDICIÓN Y ALINEAMIENTO DE LAS SECUENCIAS DE ADN.....	12

4.3. ANÁLISIS FILOGENÉTICOS.....	13
4.4. DISTANCIAS GENÉTICAS.....	15
4.5. DIVERSIDAD FILOGENÉTICA Y PRIORIDADES DE CONSERVACIÓN.....	16
5. RESULTADOS.....	18
5.1. COLECCIÓN DE MATERIAL.....	18
5.2. MODELOS DE EVOLUCIÓN.....	18
5.3. RELACIONES FILOGENÉTICAS Y LÍMITES DE ESPECIES.....	19
5.4. ÍNDICES DE DIVERSIDAD FILOGENÉTICA.....	22
6. DISCUSIÓN.....	25
6.1. RELACIONES FILOGENÉTICAS Y LÍMITES ENTRE ESPECIES.....	25
6.2. BIOGEOGRAFÍA.....	31
6.3. PRIORIDADES DE CONSERVACIÓN.....	34
6.4. CONCLUSIONES.....	37
7. LITERATURA CITADA.....	39
8. FIGURAS.....	51
9. TABLAS.....	70
10. ANEXOS.....	93

## LISTA DE FIGURAS

1. Especies de <i>Riama</i> de Ecuador.....	52
2. Mapa de Distribución de las localidades de colección de las especies de <i>Riama</i> .....	55
3. Árbol filogenético del análisis de Máxima Verosimilitud del gen 12S.....	56
4. Filograma de consenso del análisis de Inferencia Bayesiana del gen 12S.....	57
5. Árbol filogenético del análisis de Máxima Verosimilitud del gen 16S.....	58
6. Filograma de consenso del análisis de Inferencia Bayesiana del gen 16S.....	59
7. Árbol filogenético del análisis de Máxima Verosimilitud del gen ND4.....	60
8. Filograma de consenso del análisis de Inferencia Bayesiana del gen ND4.....	61
9. Árbol filogenético del análisis de Máxima Verosimilitud de la matriz combinada ADNmt.....	62
10. Filograma de consenso del análisis de Inferencia Bayesiana de la matriz combinada ADNmt.....	63
11. Árbol filogenético del análisis de Máxima Verosimilitud del gen CMOS.....	64
12. Filograma de consenso del análisis de Inferencia Bayesiana del gen CMOS.....	65
13. Árbol filogenético del análisis de Máxima Verosimilitud de la matriz combinada ADNmt+ADNn (ocho particiones).....	66
14. Filograma de consenso del análisis de Inferencia Bayesiana de la matriz combinada ADNmt+ADNn (ocho particiones).....	67

15. Árboles filogenéticos y Prioridades de conservación, ED y EDGE.....68
16. Árboles filogenéticos y Prioridades de conservación, HED y HEDGE.....69

## LISTA DE TABLAS

1. Lista de genes y cebadores utilizados en el estudio.....	71
2. Protocolos de PCR utilizados en el presente estudio.....	72
3. Estrategias de partición de genes y matrices combinadas usadas en los análisis filogenéticos.....	73
4. Estrategias de partición, número de nucleótidos y modelos evolutivos obtenidos en JModel Test .....	74
5. Modelos de sustitución de nucleótidos de los genes 12S, 16S, ND4 y CMOS obtenidos en MEGA 5.....	75
6. Ln del Factor Bayes.....	76
7. Distancias genéticas intraespecíficas del gen 16S, calculadas en MEGA 5.....	77
8. Distancias genéticas intraespecíficas del gen 12S, calculadas en MEGA 5.....	78
9. Distancias genéticas intraespecíficas del gen ND4, calculadas en MEGA 5.....	79
10. Distancias genéticas intraespecíficas del gen CMOS, calculadas en MEGA 5.....	80
11. Distancias genéticas interespecíficas corregidas del gen16S calculadas en MEGA 5.....	81
12. Distancias genéticas interespecíficas no corregidas del gen16S calculadas en MEGA 5. ....	82
13. Distancias genéticas interespecíficas corregidas del gen12S calculadas en MEGA 5. ....	83
14. Distancias genéticas interespecíficas no corregidas del gen12S calculadas en MEGA 5.....	84

15. Distancias genéticas interespecíficas corregidas del gen ND4 calculadas en MEGA 5.....	85
16. Distancias genéticas interespecíficas no corregidas del gen ND4 calculadas en MEGA 5.....	86
17. Distancias genéticas interespecíficas corregidas del gen CMOS calculadas en MEGA 5.....	87
18. Distancias genéticas interespecíficas no corregidas del gen CMOS calculadas en MEGA 5.....	88
19. Categorías de Riesgo de Extinción y Probabilidades de Extinción de <i>Riama</i> de Ecuador.....	89
20. Medidas de Prioridades de Conservación, calculadas en el módulo de Tuatara del programa Mesquite.....	91

## LISTA DE ANEXOS

1. Lista de especímenes utilizados en el presente estudio.....	94
2. Protocolo de extracción de ADN con Tiacianato de Guanidina.....	98
a. Lisis de células y desnaturalización de la RNASA.....	98
b. Precipitación de proteínas.....	98
c. Precipitación de ADN.....	98
d. Tratamiento con NaOAc, rehidratación y almacenamiento de ADN.....	99
3. Protocolo de electroforesis en gel de agarosa y tinción de ADN con Sybr Safe.....	101

## 1. RESUMEN

El género *Riama* (Squamata: Gymnophthalmidae) de Ecuador presenta una gran diversidad de especies con amplia distribución a lo largo de la Cordillera Occidental y Oriental de los Andes y cadenas montañosas aisladas (Guacamayo, Cutucú y Cóndor). Análisis filogenéticos (Máxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana) basados en tres genes mitocondriales (12S, 16S y ND4) y un gen nuclear (CMOS) permitieron inferir las relaciones filogenéticas entre las especies de *Riama* de Ecuador. Estos análisis soportan la presencia de dos súper Clados, A y B, en los cuales las relaciones filogenéticas están bastante claras. El Clado A se distribuye en la Cordillera Occidental y cadenas montañosas al suroccidente, mientras que el Clado B en la Cordillera Oriental y Occidental, valles interandinos y las cadenas montañosas adjuntas. Los cálculos de las distancias genéticas intraespecíficas e interespecíficas, en conjunto con los análisis filogenéticos, sugieren la existencia de ocho posibles especies candidatas en taxones de amplia distribución. Finalmente, los Índices de Diversidad Filogenética calculados a partir de un árbol filogenético de genes combinados (ADNmt y ADNn) y probabilidades de extinción, revelan que *Riama vieta* y *R. vespertina* de Loja son las especies para las cuales se deben emplear mayores esfuerzos de conservación.

**Palabras claves:** Análisis filogenéticos, Distancias genéticas, Ecuador, Índices de Diversidad Filogenética, *Riama*.

## 2. ABSTRACT

The genus *Riama* (Squamata: Gymnophthalmidae) in Ecuador has a high diversity of species widely distributed along the Western and Eastern Cordilleras of the Andes and isolated mountain chains (Guacamayos, Cutucú and Condor). Phylogenetic analyses (Maximum Likelihood and Bayesian Inference) based on three mitochondrial genes (12S, 16S and ND4) and one nuclear gene (CMOS) were used to infer the phylogenetic relationships among species of *Riama* of Ecuador. These analyses support the presence of two major Clades, A and B, in which phylogenetic relationships are quite clear. Clade A is distributed in the Western Cordillera, while Clade B lies in the Eastern and Western Cordilleras, Inter-Andean Valleys and isolated mountain ranges. Calculations of intraspecific and interspecific genetic distances, in conjunction with phylogenetic analyses, suggest the existence of eight possible candidate species within widely distributed taxa. Finally, Phylogenetic Diversity Indices measured from the combined phylogenetic tree (mtDNA and nDNA) and the extinction probabilities show that *Riama vieta* and *R. vespertina* of Loja represent the species for which greater conservation efforts should be applied.

**Keywords:** Ecuador, Genetic Distances, Phylogenetic Analysis, Phylogenetic Diversity Indices, *Riama*.

### 3. INTRODUCCIÓN

Los Andes Tropicales son un centro importante de biodiversidad, con un alto nivel de endemismo y diversidad taxonómica en plantas y vertebrados a nivel mundial (Küper *et al.*, 2004; Soejima *et al.*, 2008; Guarnizo *et al.*, 2009; Sedano y Burns, 2010). Esta región se extiende desde el oeste de Venezuela hasta el norte de Chile y Argentina, e incluye los Andes del Norte y Andes del Centro (Conservation International, 2007; Smith *et al.*, 2008).

Eventos geológicos y climáticos, como el extenso levantamiento en el Plioceno temprano–medio y las glaciaciones del Pleistoceno, han promovido la diversificación de varios organismos en los Andes del Norte (Guarnizo *et al.*, 2009; Torres–Carvajal, 2009; Hoorn *et al.*, 2010; Sedano y Burns, 2010; Chavez *et al.*, 2011). Por una parte, el origen de esta diversidad se debe a la presencia de montañas con gradientes altitudinales que proveen de una gran variedad de hábitats (Smith *et al.*, 2005; Brumfield y Edwards, 2007; Guarnizo *et al.*, 2009). Por otra parte, las montañas y valles interandinos actúan como barreras geográficas que limitan la distribución y flujo genético (Bernal *et al.*, 2005; Sedano y Burns, 2010; Chaves *et al.*, 2011).

Así, en Ecuador, existe una gran variedad de hábitats y ecosistemas debido a la presencia de los Andes, que incluyen la Cordillera Occidental, Cordillera Oriental y la Cuenca Interandina (Dangles *et al.*, 2009; Duellman, 1979). Por otro lado, cadenas montañosas adjuntas y relativamente aisladas como Los Guacamayos, Cutucú y Cóndor también han influenciado en gran parte la diversificación de algunos grupos de organismos (Cisneros–Heredia y Morales–Mite, 2008). Además, la Depresión de Huacabamba, en el extremo sur de los Andes del Norte, actúa como una barrera

geográfica que impide la dispersión latitudinal de varias especies andinas (Lehr *et al.*, 2007).

Para poder explicar el origen de la biodiversidad presente en estas regiones y su importancia para la conservación, estudios evolutivos de grupos de amplia distribución son necesarios (Sedano y Burns, 2010; Siedschlag *et al.*, 2010). Las filogenias basadas en secuencias de ADN representan una herramienta prometedora para inferir el tiempo de divergencia de los linajes y reconstruir la historia de biomas muy diversos (Pellegrino *et al.*, 2011; Siedschlag *et al.*, 2010). Por otra parte, distancias genéticas basadas en ADN mitocondrial y nuclear son una herramienta útil para identificar la diversidad dentro de un grupo (e.g., Fouquet *et al.*, 2007; Funk *et al.*, 2011; Geurgas y Rodrigues, 2010). Así, tomando en cuenta que las especies son linajes de metapoblaciones desarrolladas independientemente (de Queiroz, 2007), los análisis filogenéticos y distancias genéticas son métodos operacionales que proveen de líneas de evidencia de propiedades biológicas (e.g., incompatibilidad reproductiva, diferenciación morfológica, especialización ecológica) que permiten definir los límites entre especies (Padial *et al.*, 2008; Wiens, 2007; de Queiroz, 2007).

Aparte de revelar relaciones evolutivas, las filogenias contienen información útil para definir prioridades de conservación (Faith, 2008a; Kuntner *et al.*, 2010). Según Faith (2008), las longitudes de las ramas de los árboles filogenéticos pueden ser estimadores de la magnitud relativa del cambio de caracteres en diferentes linajes; por lo cual proveen de información sobre la historia evolutiva compartida o específica de cada taxón (Kuntner *et al.*, 2010). Así, en base a medidas de biodiversidad, como la diversidad filogenética y la distinción evolutiva (evolutionary distinctiveness, ED), se puede cuantificar la historia evolutiva representada por una especie y la pérdida de su historia

si esta especie se extinguiera (Maddison y Mooers, 2007; Faith, 2008a; Kuntner *et al.*, 2010; May–Collado y Agnarsson, 2011). Además, para conocer las especies prioritarias para la conservación, se puede calcular medidas como el HEDGE y EDGE, que consideran la distinción evolutiva y el riesgo de extinción de cada especie (May–Collado y Agnarsson, 2011). Sin embargo, actualmente en Ecuador hay muy pocos estudios filogenéticos que revelen la historia evolutiva de grupos diversos, entre ellos algunos taxones de reptiles (e.g., Torres–Carvajal, 2007, 2009; Mafla, 2011; Castañeda y de Queiroz, 2011).

Las lagartijas andinas del género *Riama* Gray, son organismos ideales para estudios evolutivos en los Andes, debido a su amplia distribución en esta región y adaptación a diversos hábitats, como páramo, subpáramo, bosque montano, bosque premontano, bosque húmedo y bosque seco que les proveen de una variedad de ecosistemas que han influido en su gran diversidad (Doan, 2003; Doan y Schargel, 2003; Rivas *et al.*, 2005; Sánchez–Pacheco, 2010 a, b). Hasta la fecha, se han descrito 28 especies de *Riama* que se extienden a lo largo de los Andes del Centro al norte de Perú, Andes del Norte, Cordillera de la Costa de Venezuela y las Islas Trinidad y Tobago (Doan y Castoe, 2005; Rivas *et al.*, 2005; Sánchez–Pacheco, 2010a).

Este género se reconoce por la combinación de los siguientes caracteres: escamas de la cabeza lisas y sin estriaciones o rugosidades; una sola escama frontonasal; escamas frontoparietales y parietales en pares; escamas prefrontales ausentes; escamas dorsales cuadrangulares o hexagonales, alargadas, lisas, estriadas, rugosas o quilladas, yuxtapuestas, formando series únicamente transversales; escamas ventrales alargadas, lisas, cuadrangulares, yuxtapuestas, formando series longitudinales y transversales; párpados móviles, el inferior con un disco translúcido dividido en varias

escamas; aberturas del oído presentes; poros femorales presentes en machos y hembras; poros preanales presentes o ausentes en machos y hembras; cola cilíndrica (Kizirian y Coloma, 1991; Doan y Castoe, 2005). Actualmente no se conoce de alguna sinapomorfía morfológica de *Riama* (Doan y Castoe, 2005; Sánchez–Pacheco, 2010b). La ausencia de escamas prefrontales que se consideraba como un rasgo particular de este grupo, es un carácter compartido por otros géneros tales como *Petracola* y algunas especies de *Pholidobolus* (Kizirian y Coloma, 1991; Doan, 2003; Doan y Castoe, 2005; Sánchez–Pacheco, 2010a). Además, que hasta la fecha se ha registrado un individuo de *R. stellae* con escamas prefrontales (Sánchez–Pacheco, 2010b).

En los Andes ecuatorianos se han reportado 17 especies de este género: *Riama anatoloros*, *R. balneator*, *R. cashcaensis*, *R. colomaromani*, *R. crypta*, *R. hyposticta*, *R. labionis*, *R. meleagris*, *R. oculata*, *R. orcesi*, *R. petrorum*, *R. raneyi*, *R. simotera*, *R. stigmatorial*, *R. unicolor*, *R. vespertina* y *R. vieta* (Kizirian, 1996; Sánchez–Pacheco *et al.*, 2011) (Figura 1). Todas estas especies, excepto *R. hyposticta* y *R. simotera* que también están presentes en Colombia, son endémicas de Ecuador (Kizirian, 1996; Sánchez–Pacheco *et al.*, 2011). La mayoría de las especies tienen distribuciones restringidas (Figura 2) y ocupan rangos altitudinales estrechos (Doan, 2003; Kizirian, 1996; Maddock *et al.*, 2011a, 2011b; Sánchez–Pacheco *et al.*, 2011). No obstante el género se encuentra distribuido altitudinalmente a partir de los 777–3400 m (Kizirian, 1996; Doan, 2003; Sánchez–Pacheco *et al.*, 2011). *R. anatoloros* se encuentra en las laderas orientales de los Andes del Ecuador, volcán Sumaco y cadenas montañosas de Cutucú y Cóndor; *R. cashcaensis*, *R. labionis*, *R. vieta* y *R. crypta* se encuentran en las laderas occidentales de los Andes del centro del Ecuador; *R. colomaromani*, *R. oculata* y *R. hyposticta* se distribuyen en las laderas del occidentales en el norte de Ecuador; *R. meleagris* y *R. balneator* se encuentran en las laderas orientales de los Andes del centro

Ecuador, específicamente cerca del Volcán Tungurahua; *R. orcesi* y *R. raneyi* se distribuyen en las laderas de la orientales de los Andes del norte de Ecuador y volcán Sumaco; *R. simotera* ocurre en los valles interandinos al norte de Ecuador y sur de Colombia; *R. stigmatorial* y *R. petrorum* ocurren en las laderas orientales de los Andes al sur del Ecuador; *R. unicolor* se encuentra en los valles interandinos del norte de Ecuador y laderas occidentales de los Andes del norte de Ecuador; *R. vespertina* se distribuye en las laderas occidentales de los Andes del sur del Ecuador (Figura 2) (Kizirian,1996; Sánchez–Pacheco *et al.*, 2011). Muchas de estas especies han sido encontradas bajo rocas, troncos, pastizales, bajo tierra (Kizirian, 1996) y en plantaciones (Maddock *et al.*, 2011a).

### 3.1. ANTECEDENTES

El género *Riama* (Gymnophthalmidae) fue propuesto por Gray (1858), con *R. unicolor* como la especie tipo. Más tarde, Boulenger (1885) lo sinonimizó con *Proctoporus* (Doan y Castoe, 2005).

Kizirian (1996) fue el primero en publicar una revisión taxonómica de las especies de *Proctoporus* en Ecuador, basada en caracteres morfológicos. Sin embargo, Kizirian (1996) reconoció que probablemente subestimó la diversidad de algunas especies como *R. anatoloros*, *R. hyposticta* y *R. orcesi*, debido a la ausencia de material en ciertas áreas geográficas o a un tamaño pequeño de muestras.

Por otra parte, un estudio basado en caracteres moleculares de la familia Gymnophthalmidae (Pellegrino *et al.*, 2001) aportó con valiosa información sobre su historia evolutiva, distribución y ecología. Su filogenia incluyó a varias especies de la

mayoría de géneros de la familia, excepto *Proctoporus* que incluía a varias especies del actual género *Riama*, lo cual dejó sin resolver las relaciones evolutivas de este género con otros integrantes de Gymnophthalmidae.

El primer estudio filogenético del género *Proctoporus* se basó en caracteres morfológicos de 27 especies que incluían especies de *Proctoporus sensu* Kizirian (1996). En este estudio se concluyó que *Proctoporus* era monofilético (Doan, 2003). Sin embargo, un posterior estudio basado en secuencias de ADN (Castoe *et al.*, 2004), que incluyó varias especies de *Riama*, demostró que *Proctoporus* (*sensu* Kizirian 1996) era polifilético. En consecuencia, Doan y Castoe (2005), bajo los principios de la taxonomía filogenética dividieron a *Proctoporus sensu lato* en tres géneros monofiléticos: *Proctoporus sensu stricto* (Perú y Bolivia; Doan *et al.*, 2005), *Riama* Gray (centro de Perú, Ecuador, Colombia, Venezuela y las Islas Trinidad y Tobago), y *Petracola* Doan & Castoe (norte y centro de Perú; Doan y Castoe, 2005; Sánchez–Pacheco, 2010a). Sin embargo, estos trabajos solo incluyeron a cinco especies del género *Riama* (*R. orcesi*, *R. cashcaensis*, *R. colomaromani*, *R. simotera* y *R. unicolor*), por lo cual la asignación del resto de especies a *Riama* requiere verificación.

A más de los aportes de Kizirian (1996), Castoe *et al.* (2004) y Doan y Castoe (2005), no se han realizado estudios moleculares que permitan conocer las relaciones filogenéticas entre las especies de *Riama* de Ecuador (Sánchez–Pacheco, 2010a). Estudios de sistemática molecular podrían revelar la existencia de especies crípticas, lo cual ya se ha sugerido (Kizirian, 1996).

En el presente estudio, se pretende inferir las relaciones filogenéticas entre las especies de *Riama* de Ecuador, en base a tres genes mitocondriales (12S, 16S, ND4) y un gen nuclear (CMOS). Además, se calculará las distancias genéticas intraespecíficas e

interespecíficas corregidas y no corregidas para explorar la existencia de posibles especies candidatas. Finalmente, se calcularán medidas de prioridades de conservación que permitirían priorizar los esfuerzos de conservación.

### 3.2. OBJETIVOS

- **General:**
  - Inferir las relaciones filogenéticas, variabilidad genética y prioridades de conservación en un contexto filogenético para el género *Riama* en Ecuador.
- **Específicos:**
  - Inferir las relaciones filogenéticas entre las especies de *Riama* de Ecuador en base a tres genes mitocondriales y un gen nuclear, y varios métodos de reconstrucción filogenética.
  - Analizar las distancias genéticas para inferir los límites entre las especies de *Riama*.
  - Evaluar la existencia de posibles especies candidatas.
  - Determinar prioridades de conservación en el género *Riama* a través de índices de diversidad filogenética.

## 4. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1. COLECCIÓN DE MATERIAL

Los especímenes examinados en el presente estudio (Anexo 1) fueron colectados en los Andes del Ecuador entre los 1000–3400 msnm, en varias localidades citadas por Kizirian (1996) y otras que presentaban hábitats ideales para la ocurrencia de especies del género *Riama* (Figura 1 y 2). Además, se utilizó material del Museo de Zoología de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (QCAZ). Casi todos los especímenes utilizados en el presente estudio fueron identificados en base a las descripciones morfológicas presentadas por Kizirian (1996) y Sánchez–Pacheco *et al.* (2011), excepto el individuo QCAZ9282 el cual fue identificado en base a las secuencias y análisis filogenéticos.

Los métodos de muestreo fueron trampas de caída con cercas de desvío y búsquedas en microhábitats preferidos por las diferentes especies, para lo cual se levantó piedras, troncos u hojarasca y en algunas ocasiones incluso se escavó en terrenos húmedos. Los especímenes colectados fueron preservados en etanol al 75%, y depositados en el Museo de Zoología de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (QCAZ), bajo el permiso de colección N° 001–10 IC–FAU–DNB/MA. Además, se extrajo tejido (hígado, músculo o cola) que fue conservado en etanol al 95% y almacenado en ultracongeladoras a –80°C del QCAZ.

## 4.2. ANÁLISIS MOLECULARES

Se obtuvieron secuencias de ADN mitocondrial de los genes de la subunidad 4 de la NADH–deshidrogenasa (ND4), la subunidad pequeña 12S ARNr y la subunidad grande 16S ARNr. El gen nuclear secuenciado fue el factor de maduración del oocito (CMOS).

Para el grupo interno se secuenciaron 74 especímenes (Anexo 1) de 15 de las 17 especies de *Riama* reportadas para el Ecuador (*R. anatoloros*, *R. balneator*, *R. cashcaensis*, *R. colomaromani*, *R. crypta*, *R. labionis*, *R. meleagris*, *R. oculata*, *R. orcesi*, *R. raneyi*, *R. simotera*, *R. stigmatorial*, *R. unicolor*, *R. vespertina* y *R. vieta*) (Figura 1). Además, se secuenciaron dos especímenes colectados en Santa Lucía de Nanegal, Pichincha, que presentaban varias diferencias morfológicas con las diferentes especies de *Riama*, por lo cual se los denominó como *R. sp1*. Como grupos externos se escogieron *Pholidobolus montium* y *Petracola ventrimaculata* (Anexo 1), pertenecientes a la tribu Cercosaurini de la familia Gymnophthalmidae (Castoe *et al.*, 2004 y Doan y Castoe, 2005). No se obtuvieron muestras de *R. hyposticta* y *R. petrorum*, y para *R. raneyi* no se obtuvo la secuencia del gen CMOS, a pesar de los esfuerzos en la amplificación.

### 4.2.1. EXTRACCIÓN, AMPLIFICACIÓN Y SECUENCIAMIENTO DEL ADN

El ADN genómico se extrajo de tejido (hígado o músculo) congelado de acuerdo al protocolo de Precipitación de Sales (M. Fujita, datos no publicados), con modificaciones por M.E. Ordoñez (Anexo 2). La amplificación de ADN se realizó usando los cebadores ND412931L (Blair *et al.*, 2009) y Leu (Arevalo *et al.*, 1994) ó ND4F y ND4R (Arevalo *et al.*, 1994) para el gen ND4; 16SL y 16SH (Harris *et al.*,

1998) ó 16SF.0 y 16SR.0 (A. S. Whiting) para el gen 16S; 12Sa y 12Sb (Harris *et al.*, 1998) para el gen 12S; y G73 y G74 (Saint *et al.*, 1998) para el gen CMOS. Se usó la técnica de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) por medio de una mezcla (volumen final de 25 µl) que contenía 18.25 µl de dH<sub>2</sub>O, 2.5 µl de Buffer PCR 10X, 1.5 µl de MgCl<sub>2</sub> 50mM, 0.5 µl de cebador derecha 10uM, 0.5 µl de cebador inversa 10uM 0.5 µl de dNTPs 10mM, 0.25 µl de Taq polimerasa y 1–1.5 µl de ADN (concentración aproximada de 20–25 ng/µl). Los protocolos utilizados y secuencias de cada cebador se presentan en las Tablas 1 y 2. Los productos PCR fueron visualizados en geles de agarosa al 1% (Anexo 3) y teñidos con SybrSafe (Invitrogen). Los productos de amplificación fueron purificados por medio del kit ExoSap–IT (GE Healthcare) para degradar los cebadores y dNTPs no incorporados. La secuenciación de los productos se realizó en Macrogen de Seúl, Corea.

#### 4.2.2. ENSAMBLAJE, EDICIÓN Y ALINEAMIENTO DE LAS SECUENCIAS DE ADN

El ensamblaje y edición de las secuencias de ambos cebadores (derechas y reversas) fueron llevados a cabo por medio del programa Geneious 5.4.6. (Drummond *et al.*, 2011). En algunos casos, la edición de incongruencias y el corte de extremos con mala resolución se realizaron manualmente. Posteriormente, se obtuvieron las secuencias consenso para cada taxón, las cuales fueron alineadas a partir de la aplicación MAFFT Multiple Alignment (Kato *et al.*, 2009) en Geneious. Para comprobar el correcto alineamiento de las secuencias de los genes ND4 y CMOS se tradujeron las secuencias a aminoácidos en el programa Mesquite 2.75 (Maddison y Maddison, 2011). Este paso se realizó para evidenciar la ausencia de codones stop, los

cuales muchas veces están presentes en posiciones incorrectas cuando existe una incorrecta edición u alineamiento de las secuencias.

### **4.3. ANÁLISIS FILOGENÉTICOS**

Los modelos de sustitución para cada gen y para las matrices combinadas (Tabla 3) fueron seleccionados en JModelTest 0.1.1 (Posada, 2008), bajo el Criterio de Información Akaike (AIC). Por otra parte, las relaciones filogenéticas fueron estimadas bajo los Criterios de Optimalidad de Máxima Verosimilitud (MV) e Inferencia Bayesiana (IB) a partir de los diferentes modelos de sustitución.

Para la Inferencia Bayesiana y las búsquedas de Máxima Verosimilitud se emplearon varias estrategias de partición (Tabla 3). Los análisis de Máxima Verosimilitud se realizaron en Garli 2.0 (Zwickl, 2006), bajo los modelos evolutivos obtenidos en JModelTest (Tabla 4), permitiendo que el programa estime los parámetros más adecuados a partir de los datos. Para encontrar la topología con mayor verosimilitud se realizaron 50 repeticiones de búsqueda múltiple. Además, para conocer el soporte nodal se calcularon los valores de bootstrap no paramétrico con 500 pseudoreplicaciones en Garli, a partir de árboles al azar y una repetición de búsqueda múltiple.

Los Análisis de Inferencia Bayesiana se realizaron en MrBayes 3.2 (Huelsenbeck y Ronquist, 2001; Ronquist y Huelsenbeck, 2003) usando las diferentes estrategias de partición (Tabla 3). Se usaron cuatro corridas independientes de 5 millones de generaciones y cuatro cadenas de Markov. Los árboles fueron muestreados cada 1000 generaciones y se descartaron las 500 primeras muestras (burn-in=25%).

Para comprobar la convergencia de las cadenas se examinaron los gráficos entre el logaritmo de verosimilitud y el número de generaciones (Torres–Carvajal y de Queiroz, 2009) por medio del programa Tracer 1.5 (Rambaut y Drummond, 2007). Además, se evaluó si el promedio de la desviación estándar de las frecuencias divididas de las dos cadenas de convergencia se aproximaba a cero y si los factores potenciales de la escala de reducción (PSRF) se aproximaban a uno a medida que las corridas convergían. Asimismo, se comprobó que el tamaño efectivo de muestra (ESS) sea mayor a 100, lo cual indica que un adecuado número de muestras independientes fue obtenido en las muestras post–burnin (Castañeda y de Queiroz, 2011). El árbol final (post–burnin) elaborado a partir de 18000 árboles muestreados fue visualizado en el programa FigTree 1.3.1. (Rambaut, 2007).

Adicionalmente, usando los Factores Bayes (BF) se escogió la mejor estrategia de partición de los genes mitocondriales y gen nuclear combinados (Tabla 3). Los factores bayesianos son un resumen de las pruebas aportadas por los datos en favor de una teoría científica, representada por un modelo estadístico, en contraposición a otro. De esta forma, al comparar el modelo  $a$  y el modelo  $b$ , el factor bayesiano ( $B_{ab}$ ) es la proporción de la verosimilitud marginal del modelo  $a$  a la del modelo  $b$ , que favorece a uno de los dos modelos (Kass y Raftery, 1995; Torres–Carvajal *et al.*, 2006; Castañeda y de Queiroz, 2011).

Para estimar los factores bayesianos (BF, Bayes Factor), primero se calcularon en MrBayes 3.2 (Huelsenbeck y Ronquist, 2001; Ronquist y Huelsenbeck, 2003) las medias armónicas de los valores de verosimilitud de los árboles de cada muestra post–burning con el comando `sump`. Segundo, a partir de los valores obtenidos de las medias armónicas se calcularon los BF en el programa Tracer 1.5 (Rambaut y Drummond,

2007). Finalmente, los valores de BF >10 fueron considerados como alto soporte para la estrategia con más particiones sobre la estrategia con menos particiones (Kass y Raftery, 1995). El árbol resultante de la mejor estrategia de partición fue utilizado para explicar las relaciones evolutivas a partir de los diferentes análisis filogenéticos (IB y MV).

#### **4.4. DISTANCIAS GENÉTICAS**

Para calcular las distancias genéticas corregidas entre las especies de *Riama* de Ecuador se utilizaron secuencias de los genes 12S, 16S, ND4 y CMOS. Los cálculos de las distancias genéticas corregidas intraespecíficas e interespecíficas se realizaron en el programa Mega 5 (Tamura *et al.*, 2011), a partir de los modelos de sustitución de nucleótidos para cada gen (Tabla 5) obtenidos en el mismo programa. Además, en el mismo programa se calcularon las distancias genéticas no corregidas intraespecíficas e interespecíficas con la opción p-distance, la cual permite conocer el número de diferencias de nucleótidos por sitio. El error estándar se calculó a través de 500 repeticiones de bootstrap, para las distancias genéticas corregidas y no corregidas.

Para calcular las distancias genéticas intraespecíficas e interespecíficas, las especies fueron definidas en base a caracteres morfológicos propuestos por Kizirian (1996) y Sánchez-Pacheco (2011). Sin embargo, algunas especies definidas en base a morfología parecen ser complejos de especies de acuerdo con los árboles filogenéticos obtenidos en este estudio. Para evaluar los límites de estas posibles especies candidatas se compararon con las distancias interespecíficas de las especies reconocidas.

#### 4.5. DIVERSIDAD FILOGENÉTICA Y PRIORIDADES DE CONSERVACIÓN

Para estimar las medidas filogenéticas de prioridades de conservación, se utilizó la filogenia de genes mitocondriales combinados del análisis de IB, con un solo individuo por especie y posible especie candidata. Se usó el módulo Tuatara 1.01 (Maddison y Mooers, 2007) del programa Mesquite 2.75 (Maddison y Maddison, 2011). Las medidas que se obtuvieron fueron (1) la distinción evolutiva (ED), que mide el largo de la rama terminal de la especie más su parte ponderada de la rama ancestral de la especie (Isaac *et al.*, 2007), (2) la distinción evolutiva ponderada por el riesgo de extinción actual (EDGE); (3) la longitud esperada de la rama terminal (HED), que considera el riesgo de extinción de todas las especies para encontrar la longitud esperada de la rama terminal de las especies focales (Steel *et al.*, 2007); (4) la longitud esperada de la rama terminal ponderada por el riesgo actual de extinción (HEDGE) (Steel *et al.*, 2007); (5) la distinción evolutiva de los clados (EDc), que mide la longitud de la rama terminal de la especie más su parte ponderada del clado de la rama ancestral (Redding y Mooers, 2006); (6) la distinción evolutiva de los clados ponderada por el riesgo de extinción (EDcGE) (Redding y Mooers, 2006); y (7) las diferencias evolutivas esperadas de los clados (ExpEDcGE), considera las probabilidades para encontrar la EDc o EDcGE después de alguna extinción (Maddison y Mooers, 2007).

Para obtener las probabilidades de extinción fue necesario información sobre el estado de conservación de cada especie; por lo cual se utilizó la evaluación realizada por Carrillo *et al.* (2005) de la Lista Roja de los Reptiles del Ecuador. Sin embargo, para las posibles especies candidatas se procedió a evaluar su estado de conservación en base a las categorías y criterios de la Lista Roja de la UICN, versión 9.0 (Subcomité de Normas y Peticiones de la UICN, 2011). Posteriormente, se utilizó el Método Pesimista

(Mooers *et al.*, 2008) para transformar las categorías de conservación a probabilidades de extinción. Este método ha sido considerado como el más realista, dado que asume que prácticamente todas las especies están en algún riesgo considerable de extinción, a diferencia de otros métodos: “Isaac” (Isaac *et al.*, 2007), “IUCN 50” (IUCN, 2001), “IUCN 100” (IUCN, 2001) y “IUCN 500” (IUCN, 2001) (May–Collado y Agnarsson, 2011).

## 5. RESULTADOS

### 5.1. COLECCIÓN DE MATERIAL

Se obtuvieron 76 secuencias con un máximo de 1971 bases (b) de ADN mitocondrial y nuclear (matriz alineada) de 74 especímenes (Anexo 1). Las secuencias mitocondriales constaron de 414 b del gen 12S, 547 b del gen 16S, 623 b del gen ND4; mientras que la secuencia nuclear fue de 387 b. Las secuencias pertenecen a 16 especies de *Riama* presentes en Ecuador (Anexo 1), y a los grupos externos, *Pholidobolus montium* y *Petracola ventrimaculata*. No se obtuvieron secuencias para el gen CMOS de la especie *R. raneyi*, por lo cual en las matrices combinadas hubo datos faltantes para esta especie y este gen.

### 5.2. MODELOS DE EVOLUCIÓN

Basados en el Criterio de Información de Akaike (AIC) del programa JModelTest 0.1.1 (Posada, 2008), se escogieron los mejores modelos evolutivos para los diferentes genes y matrices (Tabla 3). El mejor modelo para los genes 12S, 16S, ND4, matriz ADNmt y matriz ADNmt + ADNn fue TIM2+I+G, para el gen CMOS fue TPM1uf+G (Tabla 4). Los modelos GTR+I+G, TIM3+I+G y TIM2+I+G se obtuvieron para la 1era, 2da y 3era posición de los codones del gen ND4 respectivamente; y los modelos HKY, TPM1uf+I y TPM3uf para la 1era, 2da y 3era posición de los codones, respectivamente, del gen CMOS (Tabla 4).

### 5.3. RELACIONES FILOGENÉTICAS Y LÍMITES DE ESPECIES

Los análisis de Máxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana para cada gen mitocondrial revelaron árboles con topologías relativamente congruentes (Figuras 3–8). Asimismo, al combinar los genes mitocondriales se obtuvieron árboles con similar topología para ambos análisis (IB y MV) (Figuras 9 y 10), los cuales fueron congruentes con las topologías de los árboles de los genes mitocondriales individuales. Pese a que los árboles filogenéticos del gen nuclear CMOS (Figuras 11 y 12) no tuvieron buena resolución, su topología es congruente con la de los árboles en base a genes mitocondriales (Figuras 3–10).

Al combinar las matrices de genes mitocondriales y gen nuclear en varias estrategias de partición (Tabla 3) se obtuvieron árboles con topologías parecidas y con gran resolución tanto para los análisis de Máxima Verosimilitud como de Inferencia Bayesiana. Sin embargo, en base a los cálculos de los factores bayesianos se favoreció la filogenia de la matriz combinada (ADNmt + ADNn) de mayor número de particiones (Tabla 6). Los árboles filogenéticos de los análisis de MV e IB (Figuras 13 y 14), al igual que los anteriores árboles (Figuras 3–12), presentan una división basal en dos grandes Clados, A y B, con alto soporte (BP > 99%, PP = 1) y que a excepción de *R. colomaromani*, todas las especies forman clados con soportes altos.

El Clado A está formado por las especies *Riama vieta*, *R. vespertina*, *R. crypta*, y *R. oculata* (Figuras 13 y 14), y se encuentra distribuido a lo largo de la Cordillera Occidental y cadenas montañosas del suroccidente del Ecuador (Figura 2). En este clado, el clado de *R. vieta* presenta un alto soporte (BT = 100, PP = 1), y es el taxón hermano de las demás especies del Clado A. Además esta especie presenta los valores más altos de las distancias genéticas interespecíficas para los tres genes mitocondriales

y gen nuclear (Tablas 11–18). Por otro lado, el clado de *R. vespertina* es hermano de los clados (*R. oculata* + *R. crypta*), y presenta los valores más altos de distancias genéticas intraespecíficas para los genes 16S (~0.027), ND4 (~0.13) y CMOS (~ 0.008) (Tablas 7, 9 y 10). El clado de *R. vespertina* contiene tres subclados formados por *R. vespertina* de Azuay, *R. vespertina* de El Oro y *R. vespertina* de Loja, cada uno con alto soporte (BP = 100, PP = 1). Igualmente, los valores de las distancias interespecíficas entre estos subclados fueron > 0.029 para el gen 16S, > 0.044 para el gen 12S, > 0.143 para el gen ND4 y > 0.009 para el gen CMOS (Tablas 7–10). Por otra parte, el clado formado por *R. oculata* (BP = 100, PP = 1) está compuesto de dos subclados, *R. oculata* de Cotopaxi y *R. oculata* de Pichincha. Los valores de las distancias intraespecíficas dentro de este clado estuvieron entre las más altas para el gen 16S (~0.018) (Tabla 7), mientras que para el resto de genes no estuvieron entre los más altos (Tablas 8, 9 y 10). Las distancias interespecíficas entre estos subclados, para los tres genes mitocondriales fueron > 0.026 para el 16S, > 0.028 para el 12S y > 0.086 para el ND4. El clado formado por *R. crypta* tiene alto soporte (BP = 97, PP = 1), y es taxón hermano de *R. oculata*. Este clado presenta valores de distancias intraespecíficas altas para los tres genes mitocondriales y gen nuclear (Tablas 7–10). Al separar en dos grupos, *R. crypta* de Pichincha y *R. crypta* de Cotopaxi, las distancias interespecíficas mostraron valores mayores a los presentados por especies reconocidas (eg. entre *R. simotera* y *R. colomaromani*) para los tres genes mitocondriales y gen nuclear (Tablas 12–18).

Sin embargo, en los árboles del gen ND4 (Figuras 7 y 8), se ubica a *R. vieta* como taxón hermano de *R. vespertina*, aunque existe bajo soporte para esta relación (BP = 53, PP = 0.58). Además, en los árboles del gen 12S, *R. crypta* de Pichincha está relacionado con *R. oculata* (BP = 61, PP = 0.90) (Figuras 3 y 4), contrario a lo

observado en los demás árboles (Figuras 5–14) y a lo que se muestra en los valores de distancias interespecíficas para este gen (Tablas 13 y 14).

El Clado B está formado por las especies *Riama orcesi*, *R. balneator*, *R. raneyi*, *R. anatoloros*, *R. colomaromani*, *R. simotera*, *R. stigmatoral*, *R. meleagris*, *R. sp1*, *R. cashcaensis*, *R. labionis* y *R. unicolor* (Figuras 13 y 14). Este clado está distribuido en la Cordillera Occidental y Oriental, valles interandinos y cadenas montañosas adjuntas (Los Guacamayos y Cóndor) (Figura 2). Las especies *R. balneator* y *R. orcesi* forman un clado con alto soporte (BP = 100, PP = 1), que es el taxón hermano del resto de especies del Clado B. Las demás especies están agrupadas en dos clados (BP = 98, PP = 1), un clado formado por *R. raneyi*, *R. anatoloros*, *R. simotera* y *R. colomaromani*, que es hermano del clado formado *R. cashcaensis*, *R. labionis*, *R. sp1*, *R. stigmatoral*, *R. meleagris* y *R. unicolor*. En un primer clado, *R. raneyi* y *R. anatoloros* son especies hermanas con bajo soporte (BP > 50; PP = 0.53), que se agrupan en dos clados cada uno con alto soporte (BP > 95, PP = 1). *R. anatoloros*, presenta tres subclados formados por *R. anatoloros* de Pastaza, *R. anatoloros* de Napo y *R. anatoloros* de Zamora Chinchipe. Igualmente, los valores de las distancias genéticas son igualmente altos dentro de esta especie, para los tres genes mitocondriales y gen nuclear (Tablas 7–10). Además, al calcular las distancias interespecíficas, estas revelan valores > 0.02 para el gen 16S, > 0.04 para el gen 12S, > 0.12 para el gen ND4 y > 0.003 para el gen CMOS. Por otra parte, *R. simotera* y *R. colomaromani* son especies hermanas con alto soporte (BP = 100, PP = 1). Sin embargo, los valores de las distancias interespecíficas para los tres genes mitocondriales y gen nuclear son los más bajos presentados entre especies reconocidas (Tablas 12–18). Las relaciones dentro de *R. colomaromani* no están muy claras, excepto para *R. colomaromani* del Carchi que forma un subclado con alto soporte (BP = 100, PP = 1). *R. cashcaensis* es taxón hermano del clado formado por *R.*

*labionis*, *R. sp1*, *R. meleagris* y *R. stigmatoral* (BP > 50; PP = 1). *R. labionis* y *R. sp1* son especies hermanas (BP > 50; PP = 0.73), las cuales se agrupan en dos clados con alto soporte (BP = 100; PP = 1). *R. meleagris* y *R. stigmatoral* son especies hermanas (BP = 92; PP = 1), que forman dos clados con alto soporte (BP = 100; PP = 1). Finalmente, el clado de *R. unicolor* tiene varios subclados formados por *R. unicolor* de las estribaciones de Cotopaxi, *R. unicolor* de las estribaciones de Pichincha y *R. unicolor* de los valles interandinos de Pichincha, Imbabura y Carchi. Además, los cálculos de las distancias intraespecíficas revelaron que los valores estuvieron entre los más altos, para los tres genes mitocondriales y gen nuclear (Tablas 7–10). Igualmente, las distancias interespecíficas mostraron que entre estos clados los valores fueron > 0.01 para el gen 16S, > 0.02, para el gen 12S, > 0.062 para el gen ND4 y de 0–0.003 para el gen CMOS.

A pesar de que las relaciones entre *R. raneyi*, *R. anatoloros* y las demás especies de *Riama* no están muy claras bajo los análisis de matrices combinadas (ADNmt y ADNmt+ADNn), estas relaciones presentan mayor soporte para los análisis del gen ND4 (BP = 65; PP = 0.95) (Figuras 7 y 8). Por otro lado, las relaciones entre *R. cashcaensis*, *R. labionis*, *R. sp1*, *R. meleagris* y *R. stigmatoral* solo presentan soportes altos (PP = 1) en los análisis de IB de la matriz combinada de genes mitocondriales y del gen ND4 (Figuras 7–10).

#### 5.4. ÍNDICES DE DIVERSIDAD FILOGENÉTICA

La categorización de las especies no incluidas en la Lista Roja de los Reptiles del Ecuador (Carrillo *et al.*, 2001) y posibles especies candidatas se muestran en la Tabla 19. En algunos casos donde los datos no fueron suficientes para la categorización

se tomó en cuenta su distribución geográfica actual, el estado del hábitat e influencia antropogénica, para dar una categorización momentánea hasta que otros estudios sean realizados y puedan ser mejor evaluadas. Las probabilidades de extinción obtenidas a partir del Método Pesimista igualmente se presentan en la Tabla 19.

Los valores obtenidos a partir de las medidas ED, EDGE, EDc, EDcGE, ExpEDcGE, HED y HEDGE se presentan en la Tabla 20. A partir de la medida ED, la especie con mayor “distinción evolutiva” fue *Riama vieta*, seguida por las especies *R. vespertina* de Loja, *R. vespertina* de El Oro, *R. balneator*, *R. vespertina* de Azuay, *R. crypta* de Cotopaxi, *R. orcesi*, *R. oculata* de Pichincha, *R. anatoloros* de Zamora Chinchipe y *R. oculata* de Cotopaxi. Al ponderar la distinción evolutiva por el riesgo de extinción, el orden de prioridad cambia para *R. vespertina* de Azuay, con una menor prioridad; mientras *R. oculata* de Cotopaxi está entre los primeros diez lugares de prioridad para esta medida. Por otra parte, con las medidas de EDc y EDcGE, las especies más prioritarias son *R. vieta*, *R. balneator*, *R. orcesi*, *R. vespertina* de Azuay y *R. vespertina* de Loja (Tabla 20). En el árbol filogenético (Figura 15) se indican por medio de colores en las ramas terminales, que especies en base a la medida de EDGE son las más prioritarias para la conservación. Las ramas con colores rojo-verde, evidencian las especies más prioritarias frente al resto de especies. Seguidas a estas especies, están las especies que presentan ramas con diferentes matices de color azul, los cuales reflejan valores de EDGE que van desde 0.072 –0.11 (Figura 15).

Asimismo, para la medida del HED las especies prioritarias son las mismas que para la medida ED, a excepción de *R. anatoloros* de Zamora Chinchipe. Para la medida de EDGE, las cinco especies más prioritarias son *R. vieta*, *R. vespertina* de Loja, *R. vespertina* de El Oro, *R. oculata* de Cotopaxi y *R. crypta* de Cotopaxi (Tabla 20). De

igual forma, los colores de las ramas terminales indican las especies que son más prioritarias, en este caso para la medida HEDGE (Figura 16). Las especies que presentan ramas con diferentes matices de color azul, los cuales reflejan valores de EDGE que van desde 0.10 –0.15 (Figura 15).

## 6. DISCUSIÓN

### 6.1. RELACIONES FILOGENÉTICAS Y LÍMITES ENTRE ESPECIES

Los análisis realizados bajo los criterios de optimalidad, Máxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana, de las regiones de los genes mitocondriales (12S, 16S y ND4) y nuclear (CMOS), en diferentes estrategias de partición (ADNmt y ADNmt+ADNn), son congruentes con análisis previos en la familia Gymnophthalmidae (Castoe *et al.*, 2004; Doan y Castoe, 2005), por lo cual se apoya la monofilia de las especies de *Riama* del Ecuador. Sin embargo, solamente una filogenia que incluya especies de *Riama* de Colombia y Venezuela y un mayor número de taxa del clado Cercosaurini podría revelar cuáles son realmente las relaciones filogenéticas de *Riama* en relación al resto de cercosaurinos. Por otro lado, las filogenias obtenidas a partir de los análisis de MV e IB, muestran una división basal que revela la presencia de dos grandes Clados (A y B), con buen soporte cada uno (Figuras 3–14). Las relaciones dentro de estos Clados muestran poca variación entre los diferentes análisis filogenéticos como entre genes y estrategias de partición.

La primera filogenia basada en caracteres morfológicos (Doan, 2003), que incluye a varios miembros de *Riama*, es relativamente congruente con las filogenias del presente trabajo, ya que ambas presentan dos clados en los cuales se agrupan casi las mismas especies. Sin embargo, en mis resultados las relaciones en el Clado A no son tan congruentes con las relaciones de uno de los clados formados en la filogenia morfológica. Algunas diferencias son la relación entre *Riama balneator* y *R. oculata*, que se muestran como especies hermanas en la filogenia morfológica; mientras en el presente estudio *R. oculata* es especie hermana de *R. crypta* (BP = 97, PP = 1) en el

Clado A, y *R. balneator* es especie hermana de *R. orcesi* (BP = 100, PP = 1) en el Clado B (Figura 13 y 14). Por otra parte, hay una mayor congruencia con el Clado B con las relaciones del subclado formado por *R. simotera* y *R. colomaromani* y el subclado formado por *R. labionis*, *R. meleagris* y *R. unicolor*, las cuales son muy similares con las relaciones en el clado formado en la filogenia morfológica. Una explicación para algunas diferencias en las relaciones filogenéticas es la presencia de altos niveles de homoplasia en los caracteres morfológicos (Wiens y Etheridge, 2003), a diferencia de los caracteres moleculares que son más informativos (Torres–Carvajal y de Queiroz, 2009). Otro factor que pudo haber causado diferencias en las relaciones de estas filogenias, son errores en la identificación taxonómica de los individuos utilizados en la filogenia morfológica (Sánchez–Pacheco *et al.*, 2011).

La filogenia molecular presentada por Castoe *et al.* (2004), que incluyó solamente a cinco miembros del género *Riama*, solo evidenció las relaciones de las especies dentro del Clado B, conforme mis resultados. Por un lado, la filogenia de Castoe *et al.* (2004) concuerda con las relaciones entre *R. colomaromani* y *R. simotera* como especies hermanas. Sin embargo, en el presente estudio, las relaciones en *R. colomaromani* no están muy claras, dado que existe buen soporte solo para un subclado formado por individuos de la provincia del Carchi, mientras las relaciones del resto de individuos de Pichincha, Imbabura y Cotopaxi permanecen inciertas. Por otro lado, Castoe *et al.* (2004) ubica a *R. cashcaensis* y *R. unicolor* dentro de un mismo clado que es hermano de *R. orcesi*, lo cual concuerda con mis resultados, pese a que las relaciones de *R. cashcaensis* con el resto de especies de este clado no están muy claras. En los análisis de MV de los genes combinados (ADNmt + ADNn), *R. cashcaensis* es taxón hermano de *R. labionis* (BT < 50), mientras que con el análisis de IB es el taxón hermano del clado ((*R. labionis*, *R. sp1*), (*R. meleagris*, *R. stigmatoral*)) (PP = 1).

A pesar de la construcción de una filogenia bastante completa, en el presente trabajo aún están muy claras algunas relaciones filogenéticas. Las relaciones entre *Riama anatoloros* y *R. raneyi* no presentan buen soporte como especies hermanas (Figuras 13 y 14). Cuando existe un poco número de individuos muestreados esto resulta en filogenias con clados que tienen poco soporte (Padiál *et al.*, 2008), por lo cual es probable que una muestra más amplia para *R. raneyi* de Sucumbíos y *R. anatoloros* de Zamora Chinchipe, de las cuales se muestreo un solo individuo, permita esclarecer las relaciones entre estas. Por otra parte, las relaciones de *R. hyposticta* y *R. petrorum* aún son inciertas, por lo cual su inclusión en posteriores trabajos filogenéticos es necesaria, ya que puede proveer de mayor información sobre las relaciones evolutivas y origen del género *Riama*. Es probable que estas especies estén más relacionadas con los miembros del Clado A, como se evidencia en la filogenia de Doan (2003); además, anteriormente *R. hyposticta* ya ha sido relacionada con *R. crypta* en base a ciertas características que presentan sus hemipenes (Sánchez-Pacheco *et al.*, 2011).

Los árboles del gen nuclear presentan los más bajos soportes para ambos clados, lo cual igualmente se comprueba en los cálculos de distancias genéticas, con los valores más bajos tanto para las distancias intraespecíficas (0–0.008) como para las interespecíficas (0–0.05). El gen nuclear CMOS ha sido considerado ideal para revelar las relaciones filogenéticas de grandes grupos como la familia Gymnophthalmidae (Pellegrino *et al.*, 2001; Castoe *et al.*, 2004), debido a su tiempo de divergencia (Saint *et al.*, 1998) y porque provee de buen soporte a nodos basales, lo cual se ha evidenciado en el presente trabajo. Sin embargo, las relaciones entre especies en el clado B no tienen buena resolución, como también se ha evidenciado en *Pholidobolus*, donde este gen tiene poca variación y resulta en filogenias con mala resolución (Mafla, 2011). Así, a pesar de las sugerencias del uso de genes nucleares para corroborar y delimitar especies,

debido a su mayor tiempo de coalescencia frente a los genes mitocondriales (Geurgas y Rodrigues, 2010; Oliver *et al.*, 2009), CMOS no aportó con suficiente información respecto a la divergencia genética dentro del clado *Riama*.

Las filogenias en conjunto con las distancias genéticas proveen de líneas de evidencia para apoyar la existencia de posibles especies candidatas; por lo cual es relevante su comparación en especies con amplia distribución o con poblaciones aisladas (Geurgas y Rodrigues, 2010; Bickford *et al.*, 2007; Fouquet *et al.*, 2007; Vargas–Ramírez *et al.*, 2010; Funk *et al.*, 2011). Por un lado, dentro del Clado A, la formación de tres subclados y los altos valores de distancias intraespecíficas para los genes mitocondriales y nuclear (Tablas 7–10), sugieren la existencia de posibles especies candidatas en *Riama vespertina*. Además las distancias interespecíficas revelan que entre estos subclados los valores son significativamente altos para los genes mitocondriales y gen nuclear, siendo mayores a los presentados por especies consideradas diferentes (Tablas 11–18). De esta forma, se sugiere que las posibles especies candidatas corresponderían a las poblaciones de Azuay y El Oro, mientras las poblaciones de Loja permanecería como *R. vespertina*, debido a que es la localidad tipo de esta especie. De igual forma, en *R. oculata* la presencia de dos subclados y los altos valores en las distancias genéticas (intraespecífica e interespecífica) (Tablas 7–10) sugieren la existencia de una posible especie candidata. Así, la población más cercana a la localidad tipo (Imbabura) en Pichincha correspondería probablemente a *R. oculata*, y los individuos de las estribaciones de Cotopaxi corresponderían a la posible especie candidata. Por otra parte, el pequeño tamaño de muestra de *R. crypta* de Pichincha, no permite conocer claramente sus relaciones filogenéticas, aunque las distancias intraespecíficas (Tablas 7–10) revelan una gran divergencia genética con las poblaciones de Cotopaxi. Sin embargo, es posible que los altos valores de divergencia

se deban a que probablemente las poblaciones de Pichincha estén hibridizándose con especies de *R. oculata* en zonas de simpatría, lo cual se revela en los árboles resultantes de los análisis del gen 12S (Figuras 3 y 4), mas no en las distancias interespecíficas calculadas entre *R. crypta* de Pichincha y *R. oculata* (de Pichincha y Cotopaxi) (Tablas 13 y 14).

En el Clado B, las relaciones entre *R. colomaromani* y *R. simotera* están claras en los árboles filogenéticos, presentándose como especies hermanas, lo cual concuerda con el hecho de ser descritas como especies diferentes en base a sus caracteres morfológicos (Kizirian, 1996). Sin embargo, en las distancias genéticas interespecíficas muestran los valores más bajos para los tres genes mitocondriales y el gen nuclear, los cuales son menores a los presentados entre posibles especies candidatas y entre especies reconocidas. La presencia de bajos valores en las distancias genéticas en algunos casos es el resultado de una divergencia morfológica muy reciente, con bajos niveles de divergencia genética entre estas especies hermanas (Padiál *et al.*, 2008); por lo cual diferencias entre estos análisis no implica que estas sean especies diferentes; por lo cual esto solo podría ser comprobado con un mejor estudio morfológico y ecológico de ambas especies.

Por otro lado, la presencia de tres subclados en *Riama anatoloros* y los altos valores de distancias genéticas (Tablas 7–18) sugieren que esta especie es posiblemente un complejo de especies, lo cual ya había mencionado Kizirian (1996) en base a caracteres morfológicos. Sin embargo, al igual que en Kizirian (1996), la falta de muestreo en las diferentes cadenas montañosas donde ha sido registrada esta especie, no permite concluir cuántas posibles especies candidatas realmente existen. Además hay que tomar en cuenta que no se incluyeron muestras de Morona Santiago en el presente

trabajo, localidad en la cual también se han registrado individuos con varias diferencias morfológicas (Kizirian, 1996). Por ahora solo se ha evidenciado que en *R. anatoros* los individuos de Napo, de Pastaza y de Zamora Chinchipe son probablemente especies candidatas, en base a lo observado en los árboles filogenéticos (Figuras 13 y 14) y en los valores de distancias interespecíficas (Tablas 7–18).

Otro posible complejo de especies se observa en *Riama unicolor*, mostrando tres subclados bien soportados en las filogenias, aunque las distancias genéticas intraespecíficas no son tan altas como en *R. anatoros*. Los tres subclados corresponden a diferentes poblaciones localizadas en las estribaciones de Pichincha, estribaciones de Cotopaxi y en los valles interandinos de Pichincha, Imbabura y Carchi. En esta especie es difícil concluir cuál de las tres poblaciones pertenecería a *R. unicolor* y cuales serían las posibles especies candidatas, dado que los datos de su localidad tipo (Guayaquil) son erróneos. Según Kizirian (1996), a pesar de existir una variación en el número de escamas de los supraoculares, esta no está relacionada con su distribución geográfica. Sin embargo, a partir de la evidencia provista por mi estudio se podría sugerir que su amplia distribución sí ha influenciado en su divergencia. La adaptación a los diferentes hábitats presentes en los bosques nublados de las estribaciones occidentales y los bosques interandinos y subpáramo de los valles interandinos probablemente han influenciado en la divergencia de estas poblaciones. Debido a esto, las poblaciones pueden divergir genéticamente a la vez que van adaptándose a hábitats diferentes (Adams *et al.*, 2009; Smith y Grether, 2008).

La existencia de posibles especies nuevas de *Riama* en Ecuador es de gran relevancia para la conservación de la biodiversidad. Es importante que estudios moleculares en conjunto con estudios de distribución, ecología y morfología,

corrobores la existencia de las posibles especies nuevas (Geurgas y Rodrigues, 2010; Bickford *et al.*, 2007; Fouquet *et al.*, 2007; Vargas–Ramírez *et al.*, 2010; Funk *et al.*, 2011), las cuales muchas veces debido a su distribución restringida podrían encontrarse en peligro de extinción (Bickford *et al.*, 2007).

Por otro lado, a pesar de la información inferida a partir de este trabajo y la revisión taxonómica de *Proctoporus sensu lato*, aún son cuestionables las relaciones evolutivas de *Riama* de los Andes del Norte, *Riama laudahnae*, *Proctoporus s.s.* y *Petracola*. Además, aún es cuestionable si *R. laudahnae* realmente pertenece a *Riama*, ya que está separada del resto de especies por una gran barrera geográfica, la Depresión de Huancabamba. No obstante, según Doan y Castoe (2005) sus caracteres morfológicos la ubican dentro de *Riama*, y no en *Petracola* o *Proctoporus s. s.* que se encuentran al sur de la Depresión de Huancabamba.

## 6.2. BIOGEOGRAFÍA

El estudio llevado a cabo evidencia que la compleja historia de los Andes del Norte (Simpson, 1975; Simpson, 1979; Duellman, 1979; Hoorn y Wesselingh, 2010), ha influenciado el origen de la gran diversidad de las lagartijas del género *Riama* de Ecuador. En primer lugar, se puede notar cómo el Clado A se encuentra solamente distribuido en la Cordillera Occidental y cadenas montañosas del suroccidente del Ecuador, mientras el Clado B tiene una distribución mucho más amplia, en las Cordilleras Occidental y Oriental, valles interandinos y cadenas montañosas de Los Guacamayos, Cutucú y Cóndor. Estos dos clados son simpátricos en la Cordillera Occidental, especialmente en Cotopaxi, donde se registra el mayor número de especies

(*R. vieta*, *R. oculata*, *R. crypta*, *R. labionis* y *R. unicolor*) en una misma localidad (Anexo 1).

Al noroccidente del Ecuador, *R. unicolor* y *R. colomaromani*, presentan una amplia distribución en la Cordillera Occidental y valles interandinos, atravesando el valle del Río Chota, lo cual sugeriría que este valle no es una barrera geográfica para *Riama*, contrario a lo observado en algunos organismos (eg., ranas, Páez–Moscoso, 2010; lagartijas, Mafla, 2011; escarabajos, Moret, 2005). Por otro lado, la amplia distribución de *R. unicolor* en las estribaciones de la Cordillera Occidental y en los valles interandinos pudo haber influenciado en su divergencia genética, como se observa en la formación de tres subclados bien diferenciados en las filogenias (Figuras 13 y 14). Lo contrario sucede en *R. colomaromani*, que a pesar de presentar una amplia distribución en las estriaciones de la Cordillera Occidental, no presenta una clara divergencia genética entre poblaciones (ver sección 6.1).

Hacia el sur del Ecuador, el nudo de Cajas considerado como último eslabón de la Cordillera Occidental, presenta un gran endemismo para algunos organismos (Moret, 2005; Mafla, 2011), aunque en esta área no es muy conocida la diversidad de *Riama*. El límite sur de la Cordillera Occidental es el valle del Río Jubones, a partir del cual la cordillera es reemplazada por un rango de nudos y cimas de más de 4000 m de altura, que van de norte a sur o de noreste a sureste, y están relacionadas con la Depresión de Huancabamba (Neil, 1999; Lynch y Duellman, 1997). En esta región, es probable que el valle del Río Jubones ha jugado un importante rol en la diversificación de *Riama*, al presentarse como una barrera que ha impedido el flujo genético entre poblaciones, como en *Pholidobolus* (Mafla, 2011) y probablemente en *R. vespertina*. Igualmente, es probable que este valle haya sido una barrera para la dispersión de otras especies del

Clado B, como *R. cashcaensis*. Por otro lado, la presencia del gran valle de la Depresión de Huancabamba, ha sido una gran barrera que separa a *Proctoporus* y *Petracola* de *Riama* del Ecuador.

A diferencia de la Cordillera Occidental, la Cordillera Oriental presenta un rango montañoso más continuo, que va desde el nudo de Pasto hasta la depresión de Huancabamba, a excepción de algunas interrupciones como el valle del Río Pastaza (Duellman, 1979). En esta cordillera, *Riama balneator* y *R. meleagris* a pesar de estar en parapatría no están cercanamente relacionadas, lo que sugeriría que cada una colonizó esta área por migraciones de diferentes poblaciones que se han diferenciado independientemente y en hábitats diferentes. Un similar caso se da entre *R. orcesi* y *R. raneyi* que no son especies hermanas, pero se encuentran en simpatría. Por otro lado, *R. stigmatoral* anteriormente solo registrada para la parte sureste de la Cordillera Oriental, se ha encontrado también al otro lado en el valle interandino. La distribución de esta especie se puede deber a que en este tramo sur la Cordillera Oriental es relativamente baja (< 3700m) (Moret, 2005).

Desde las estribaciones de la Cordillera Oriental se originan las cadenas montañosas de Los Guacamayos, Cutucú y Cóndor (Duellman, 1979), las cuales presentan un hábitat de tierras altas ideal para la ocurrencia de *Riama*. En esta región, *R. anatoloros* se encuentra ampliamente distribuida, lo cual ha influenciado en su divergencia genética (Figuras 13 y 14) y morfológica (Kizirian, 1996). Así, la mayor influencia para la divergencia entre poblaciones de *R. anatoloros* ha estado influenciada tanto por el valle del Río Pastaza, como se ha evidenciado en algunos anfibios (García, 2010; Páez–Moscoso, 2010), como por la gran variación montañosa de esta región.

La distribución altitudinal (1200–3400m) y geográfica de *Riama* del Ecuador es más amplia que la de otros taxa hermanos, como *Pholidobolus* que es exclusivamente andino y se distribuye de 1800–4000 m (Mafla, 2011). Finalmente, la propuesta de Doan (2003) de una distribución Sur–Norte conforme se fueron elevando los Andes no explica completamente su influencia en la diversidad de *Riama*. En *Riama* el patrón de distribución es más variado en las Cordilleras del Ecuador y no solo en esta dirección. Además, la elevación de las cordilleras no fue simultánea, primero empezó a elevarse la Cordillera Oriental y posteriormente la Cordillera Occidental, cada una con procesos de mayor elevación en períodos diferentes (Simpson 1975; Duellman, 1979). Asimismo, hay que tomar en cuenta que las fluctuaciones climáticas en los períodos glaciales e interglaciales del Pleistoceno, han producido eventos repetitivos de expansión y compresión de varios hábitats (Simpson, 1975; Duellman, 1979; Hughes y Eastwood, 2006; Koscinski *et al.*, 2008), lo cual ha influido también en la especiación de otros organismos (Torres–Carvajal, 2009).

### 6.3. PRIORIDADES DE CONSERVACIÓN

A partir de un árbol filogenético se puede conocer la magnitud de la pérdida de una especie y de su historia evolutiva si esta llegase a extinguirse (Faith, 2008a). Especies que tienen altos valores para la medida ED presentan acumulación de características que las hacen distintivas entre otras especies, como es el caso de *Riama vieta*, *R. vespertina* de Loja, *R. vespertina* de El Oro, *R. balneator* y *R. vespertina* de Azuay. Por otra parte, el ED al tomar en cuenta el largo de la rama compartida con su especie hermana y ponderada por las probabilidades de extinción, coloca a las mismas cinco primeras especies como prioritarias, a excepción de *R. crypta* de Cotopaxi que

está en lugar de *R. vespertina* de Azuay. Este cambio se debe a que *R. crypta* de Cotopaxi presenta un mayor riesgo de extinción a diferencia de *R. vespertina* de Azuay.

La ventaja de medidas de diversidad filogenética como el HED es que esta toma en cuenta tanto su riesgo de extinción como el de sus especies hermanas más cercanas (Steel *et al.*, 2007). De esta forma, las especies más prioritarias no solo serían aquellas que conservan una larga historia evolutiva, sino aquellas que tienen un alto riesgo de extinción. En los resultados obtenidos, *R. vieta*, *R. vespertina* de Loja, *R. vespertina* de El Oro, *R. vespertina* de Azuay y *R. crypta* de Cotopaxi son consideradas como las más prioritarias, lo cual está influido especialmente por sus riesgos de extinción (Tabla 19). Es probable que los resultados obtenidos cambien si una nueva revisión de las categorías de riesgo de extinción se lleva a cabo, dado que en este trabajo, muchas de estas no han sido evaluadas con muy poca información geográfica más no ecológica. Así, medidas como el HEDGE que son sensibles a los cambios de probabilidades de extinción (Mooers *et al.*, 2007), revelarían cambios en las especies prioritarias para la conservación. Además, esta medida (HEDGE) provee también información de las especies que serían prioritarias se viesen amenazadas por una extinción. En los cálculos realizados con esta medida se refleja que las especies prioritarias para HED son igualmente prioritarias para HEDGE. De esta forma, estas especies deberían ser tomadas en cuenta como prioritarias para la conservación dada su larga historia evolutiva y riesgo de extinción; por lo cual protegerlas representaría una ganancia para la diversidad (Mooers *et al.*, 2007).

Por otro lado, es notorio que la mayoría de las especies que se encuentran como las más prioritarias están dentro del Clado A, a excepción del *R. balneator* del Clado B. Una causa de esto puede deberse a que estas medidas toman en cuenta el largo terminal

de la rama de la especie evaluada más la porción equitativa de la rama compartida con su especie hermana; por lo cual al presentarse las ramas más largas en el Clado A estas presentan los mayores valores. En los árboles (Figuras 15 y 16) se puede notar que las especies con las ramas terminales más largas son las del Clado A, incluyendo al clado formado por *R. balneator* y *R. orcesi* del Clado B. En el Clado A, están *R. vieta* y *R. vespertina* de Loja que son consideradas como las más prioritarias para la conservación en *Riama* del Ecuador. Al encontrarse *R. vieta* distribuida en un área protegida, como la Reserva del Bosque Integral Otonga, le provee de una gran ventaja que aporta a su conservación. Sin embargo, es probable que también se distribuya más hacia el sur donde muchas áreas no están protegidas y existe gran actividad antropogénica que afectaría su estado de conservación. Por otra parte, *R. vespertina* de Loja se encuentra distribuida en pocas áreas protegidas (e.g., Parque Nacional Cajas, Parque Nacional Podocarpus y probablemente Parque Nacional Yacuri) y gran parte de su distribución se encuentra en zonas de gran deforestación, producto de actividades agrícolas y explotación minera.

En el Clado B se puede notar que las especies más prioritarias son *R. balneator*, *R. orcesi*, los miembros del probable complejo *R. anatoloros* y *R. sp1*. Por un lado, *R. balneator* se ve afectada por el proceso de erupción del volcán Tungurahua el cual probablemente afecte significativamente a sus poblaciones. Mientras, *R. orcesi* se encuentra distribuida en el Parque Nacional Sumaco y Reserva Ecológica Antisana, lo cual apoya significativamente a su conservación. El complejo de *R. anatoloros*, se encuentra ampliamente distribuido especialmente en zonas protegidas como la Reserva de Biosfera Sumaco, pero debido a su gran distribución aún se desconoce verdadera diversidad dentro del complejo, lo cual podría tener efectos en sus prioridades de conservación. Igualmente, en el caso de *R. sp1* es necesario su pronta descripción, no

solo por ser considerada prioritaria para la conservación en base a estas medidas, sino también porque es una especie extraña en las estribaciones de la Cordillera Occidental, lo cual se ha demostrado por sucesivas búsquedas en lugares cercanos a esta región.

En consecuencia es necesario que las áreas donde se encuentran presentes las especies prioritarias para la conservación, sean tomadas en cuenta para la creación de reservas o bosques protectores, donde como ya se ha revelado en el presente trabajo, existe gran diversidad que podría estar amenazada.

#### **6.4. CONCLUSIONES**

El género *Riama* es un grupo monofilético en base a los análisis realizados, aunque esto debe corroborarse con análisis filogenéticos que incluyan un muestreo taxonómico de Cercosaurini más amplio. En Ecuador las especies de *Riama* están distribuidas a lo largo de los Andes y cadenas montañosas adjuntas, con la presencia de dos grandes Clados (A y B) bien soportados. El Clado A se encuentra distribuido solo en la Cordillera Occidental y cadenas montañosas al suroccidente del Ecuador; mientras que el Clado B ocupa la Cordillera Occidental y Oriental, valles interandinos y las cadenas montañosas aisladas (Guacamayos, Cutucú y Cóndor).

La existencia de posibles especies candidatas para el Ecuador es de gran interés para la conservación de la biodiversidad, dado que aumentaría el número de especies endémicas. Por tal motivo es necesaria una extensiva revisión morfológica, ecológica y de distribución de *Riama vespertina*, *R. oculata*, *R. crypta*, *R. anatoloros* y *R. unicolor*, que permitan revelar si dentro de estas existen especies crípticas.

De igual manera, las medidas de Prioridad de Conservación apoyan que especies como *R. vieta* y *R. vespertina* de Loja deben ser consideradas de gran interés para la conservación, no solo por su riesgo de extinción sino por su historia evolutiva.

## 7. LITERATURA CITADA

- Adams, D. C., Berns, C. M., Kozak, K. H. y Wiens, J. J. 2009. Are rates of species diversification correlated with rates of morphological evolution? *Proceedings of the Royal Society B, Biological Sciences* 276: 2729–2738.
- Arevalo, E. S., Davis, S. K., Sites JW Jr. 1994. Mitochondrial DNA sequence divergence and phylogenetic relationships among eight chromosome races of the *Sceloporus grammicus* complex (Phrynosomatidae) in central Mexico. *Systematic Biology* 43: 387–418.
- Bernal, X. E., Guarnizo, C. y Lüddecke, H. 2005. Geographic variation in advertisement call and Genetic structure of *Colostethus palmatus* (Anura, Dendrobatidae) from the Colombian Andes. *Herpetologica* 61: 395–408.
- Bickford, D., Lohman, D. J., Sodhi, N.S., Ng, P. K. L., Meier, R., Winker, K., Ingram, K. K. y Das, I. 2007. Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends in Ecology and Evolution* 22:148–155.
- Blair, C., Méndez de la Cruz, F. R., Ngo, A., Lindell, J., Lathrop, A. y Murphy, R. W. 2009. Molecular phylogenetics and taxonomy of leaf-toed geckos (Phyllodactylidae: *Phyllodactylus*) inhabiting the peninsula of Baja California. *Zootaxa* 2027: 28–42.
- Brumfield, R. T. y Edwards, S. V. 2007. Evolution into and out of the andes: a bayesian analysis of historical diversification in *Thamnophilus antshrikes*. *Evolution* 61: 346–367.

- Castañeda, M. de R. y de Queiroz, K. 2011. Phylogenetic relationships of the Dactyloa clade of *Anolis* lizards based on nuclear and mitochondrial DNA sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 61: 784–800.
- Cisneros–Heredia, D. F. y Morales–Mite, M. A. 2008. A new species of glassfrog from the elfin forests of the Cordillera del Cóndor, southeastern Ecuador (Anura: Centrolenidae). *Herpetozoa* 21: 49–56.
- Chaves, J. A., Weir, J. T. y Smith, T. B. 2011. Diversification in *Adelomyia* hummingbirds follows Andean uplift. *Molecular Ecology* 20: 4564–4576.
- Conservation International. 2007. Biodiversity Hotspots: Tropical Andes. [en línea]. <<http://www.biodiversityhotspots.org/xp/hotspots/andes/Pages/default.aspx>> [Consultado: Marzo 2012].
- Dangles, O., Barragán, A., Cárdenas, R. E., Onore, G. y Keil, C. 2009. Entomology in Ecuador: Recent developments and future challenges. *Annales de la Société Entomologique de France* n.s. 45: 437–454.
- de Queiroz, K. 2007. Species Concepts and Species Delimitation. *Systematic Biology* 56:879–886.
- Doan, T. M. 2003. A south–to–north biogeographic hypothesis for Andean speciation: evidence from the lizard genus *Proctoporus* (Reptilia, Gymnophthalmidae). *Journal of Biogeography* 30: 361–374.
- Doan, T. M. y Schargel, W. E. 2003. Bridging the gap in *Proctoporus* distribution: A new species (Squamata: Gymnophthalmidae) from the Andes of Venezuela. *Herpetologica* 59: 68–75.

- Doan, T. M. y Castoe, T. A. 2005. Phylogenetic taxonomy of the Cercosaurini (Squamata: Gymnophthalmidae), with new genera for species of *Neusticurus* and *Proctoporus*. *Zoological Journal of the Linnean Society* 143: 405–416.
- Drummond, A. J., Ashton, B., Buxton, S., Cheung, M., Cooper, A., Duran, C., Field, M., Heled, J., Kearse, M., Markowitz, S., Moir, R., Stones-Havas, S., Sturrock, S., Thierer, T. y Wilson, A. 2011. Geneious. [en línea]. Versión 5.4. <<http://www.geneious.com/>> [Consultado: mayo 2011]
- Duellman, W. E. 1979. The herpetofauna of the Andes: Patterns of distribution, origin, differentiation and present communities. En: *The South American herpetofauna: its origin, evolution and dispersal*, Monograph 7, W. E. Duellman (ed.) pp. 371–459. University of Kansas Natural History Museum Lawrence, Kansas, U. S. A.
- Faith, D. P. 2008a. Phylogenetic Diversity and Conservation. . En *Conservation Biology: Evolution in Action*. Parte II. Conserving Biodiversity within and among Species (S.P. Carroll y C.W. Fox, eds) pp. 99–114. Oxford University Press, New York, U.S.A.
- Faith, D. P. 2008b. Threatened Species and the Potential Loss of Phylogenetic Diversity: Conservation Scenarios Based on Estimated Extinction Probabilities and Phylogenetic Risk Analysis. *Conservation Biology*. 22:1461–1470.
- Fouquet, A., Gilles, A., Vences, M., Marty, C., Blanc, M. y Gemmell, N. J. 2007. Underestimation of Species Richness in Neotropical Frogs Revealed by mtDNA Analyses. *Public Library of Science Biology One* 2: e1109.

- Funk, W. C., Carminer, M. y Ron, S. R. 2011. High levels of cryptic species diversity uncovered in Amazonian frogs. *Proceedings of the Royal Society B, Biological Sciences* 279: 1806–1814.
- García, J. 2010. Diversificación del Complejo de especies *Pristimantis buckleyi* y *Pristimantis curtipes* (Anura: Strabomantidae) en los Andes del Ecuador. Tesis de Licenciatura, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador.
- Geurgas, S. R. y Rodrigues, M. T. 2010. The hidden diversity of *Coleodactylus amazonicus* (Sphaerodactylinae, Gekkota) revealed by molecular data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 54: 583–593.
- Guarnizo, C. E., Amézquita, A. y Bermingham, E. 2009. The relative roles of vicariance versus elevational gradients in the genetic differentiation of the high Andean tree frog, *Dendropsophus labialis*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 50: 84–92.
- Harris, D. J., Arnold, E. N. y Thomas, R.H., 1998. Relationships of lacertid lizards (Reptilia; Lacertidae) estimated from mitochondrial DNA sequences and morphology. *Proceedings Royal Society London* 265: 1939–3948.
- Hoorn, C., Wesselingh, F. P., ter Steege, H., Bermudez, M. A., Mora, A., Sevink, J., Sanmartín, I., Sánchez-Meseguer, A., Anderson, C. L., Figueiredo, J. P., Jaramillo, C., Riff, D., Negri, F. R., Hooghiemstra, H., Lundberg, J., Stadler, T., Särkinen, T. y Antonelli, A. 2010. Amazonía Through Time: Andean Uplift, Climate Change, Landscape Evolution, and Biodiversity. *Science* 330: 927–931.
- Huelsenbeck, J. P. y F. Ronquist. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics* 17:754–755.

- Hughes, C. y Eastwood, R. 2006. Island radiation on a continental scale: Exceptional rates of plant diversification after uplift of the Andes. *PNAS*, 103, 10334–10339.
- Isaac, N. J. B., Turvey, S. T., Collen, B., Waterman, C. y Baillie, J. E. M. 2007. Mammals on the EDGE: conservation priorities based on threat and phylogeny. *Plos One* 2: e296.
- IUCN. 2001. IUCN Red List Categories and Criteria Version 3.1. IUCN Species Survival Commission. IUCN, Gland, Suiza y Cambridge, Reino Unido.
- Jansen, M., Bloch, R., Schulze, A. y Pfenninger, M. 2011. Integrative inventory of Bolivia's lowland anurans reveals hidden diversity. *Zoologica Scripta* 40: 567–583.
- Kass, R. E. y Raftery, A. E. 1995. Bayes Factors. *American Statistical Association* 90: 773–795.
- Katoh, K., Asimenos, G. y Toh, H. 2009. Multiple alignment of DNA sequences with MAFFT. *Methods Molecular Biology* 537: 39–64.
- Kizirian, D. A. y Coloma, L. A. 1991. A New Species of *Proctoporus* (Squamata: Gymnophthalmidae) from Ecuador. *Herpetologica* 47: 420–429.
- Kizirian, D. A. 1996. A Review of Ecuadorian *Proctoporus* (Squamata: Gymnophthalmidae) with Descriptions of Nine New Species. *Herpetological Monographs* 10: 85–155.
- Koscinski, D., Handford, P., Tubaro, P. L. y Sharp, S. 2008. Pleistocene climatic cycling and diversification of the Andean treefrog, *Hypsiboas andinus*. *Molecular Biology*, 17: 2012–2025.

- Küper, W., Kreft, H., Nieder, J., Köster, N y Barthlott, W. 2004. Large-scale diversity patterns of vascular epiphytes in Neotropical montane rain forests. *Journal of Biogeography* 31: 1477–1487.
- Kuntner, M., May-Collado, L. J. y Agnarsson, I. 2010. Phylogeny and conservation priorities of afrotherian mammals (Afrotheria, Mammalia). *Zoologica Scripta* 40: 1–15.
- Lehr, E., Aguilar, C., Siu-Ting, K. y Jordan, J. C. 2007. Three new species of *Pristimantis* (Anura: Leptodactylidae) from the Cordillera de Huancabamba in Northern Peru. *Herpetologica* 63: 519–536.
- Maddison, W. P. y Maddison, D. R. 2011. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Versión 2.75. < <http://mesquiteproject.org> > [Consulta Septiembre 2011].
- Maddison, W. y Mooers, A. 2007. Tuatara: Conservation priority in a phylogenetic context. [en línea]. Versión 1.0. Mesquite Project. <<http://mesquiteproject.org/packages/tuatara>> [Consultado: Noviembre 2011].
- Maddock, S. T., Aguirre, V., Torres-Carvajal, O., Morales, J. R. y Peck, M. R. 2011b. *Riama unicolor* (ncn); Feeding and New altitudinal range. *Herpetological Review*, 42(2): 278–279.
- Maddock, S. T., Smith, E. F., Peck, M. R. y Morales, J. R. 2011a. *Riama oculata* (ncn): Prehensile tail and New habitat type. *Herpetological Review* 42(2): 278–279.

- Mafla, P. M. 2011. Filogeografía de las lagartijas andinas del género *Pholidobolus* (Squamata: Gymnophthalmidae) en Ecuador. Tesis de Licenciatura, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador.
- May-Collado, L. J. y Agnarsson, I. 2011. Phylogenetic Analysis of Conservation Priorities for Aquatic Mammals and Their Terrestrial Relatives, with a Comparison of Methods. *Plos One* 6: e22562.
- Mooers, A. O., Faith, D. P. y Maddison, W. P. 2008. Converting Endangered Species Categories to Probabilities of Extinction for Phylogenetic Conservation Prioritization. *Plos One* 3: e3700.
- Moret, P. 2005. Los coleópteros Carabidae del páramo en los Andes del Ecuador. Sistemática, Ecología y Biogeografía. Gruppo Editoriale Il Capitello, Italia.
- Neill, D.A . 1999. Geografía. En: Catalogue of the vascular plants of Ecuador (P.M. Jorgensen y S. León-Yáñez, eds.). pp. 2–5. Missouri Botanical Garden, St. Louis, U. S. A.
- Oliver, P. M., Adams, M., Lee, M. S. Y., Hutchinson, M. N. y Doughty, P. 2009. Cryptic diversity in vertebrates: molecular data double estimates of species diversity in a radiation of Australian lizards (*Diplodactylus*, Gekkota). *Proceedings of the Royal Society B, Biological Sciences* 276: 2001–2007.
- Padial, J. M., Castroviejo-Fisher, S., Köhler, J., Vilà, C., Chaparro, J. C. y De la Riva, I. 2008. Deciphering the products of evolution at the species level: the need for an integrative taxonomy. *Zoologica Scripta* 38: 431–447.

- Páez–Moscoso, D. 2010. Diversidad y especiación en los sapos andinos del género *Osornophryne* (Anura: Bufonidae). Tesis de Licenciatura, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador.
- Pellegrino, K. C. M., Rodrigues, M.T., James Harris, D., Yonenaga–Yassuda, Y. y Sites Jr, J.W. 2011. Molecular phylogeny, biogeography and insights into the origin of parthenogenesis in the Neotropical genus *Leposoma* (Squamata: Gymnophthalmidae): Ancient links between the Atlantic Forest and Amazonía. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 61: 446–459.
- Pellegrino, K. C., Rodrigues, M. T., Yonenaga–Yassuda, Y. y Sites, J. W. 2001. A molecular perspective on the evolution of microteiid lizards (Squamata, Gymnophthalmidae), and a new classification for the family. *Biological Journal of the Linnean Society* 74: 315–338.
- Posada, D. 2008. JModelTest: Phylogenetic Model Averaging. *Molecular Biology and Evolution* 25: 1253–1256.
- Rambaut, A. y Drummond, A. J. 2007. Tracer. Versión 1.4. <<http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>> [Consultado: Noviembre 2011].
- Rambaut, A. 2007. FigTree. Versión 1.3.1. <<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>>. [Consultado: Noviembre 2011]
- Redding, D. W. y Mooers, A. O. 2006. Incorporating evolutionary measures into conservation prioritization. *Conservation Biology* 20:1670–8.

- Rivas, G., Schargel, W. E. y Meik, J. M. 2005. A new species of *Riama* (Squamata: Gymnophthalmidae), endemic to the peninsula de Paria, Venezuela. *Herpetologica* 61: 461–468.
- Ronquist, F. y J. P. Huelsenbeck. 2003. MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19:1572–1574.
- Saint, K. M., Austin, C.C., Donnellan, S. C. y Hutchinson, M. N. 1998. CMOS, a nuclear marker useful for Squamate phylogenetic analysis. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 10: 259–263.
- Sánchez–Pacheco, S. J. 2010a. Lectotype designation and redescription of the Gymnophthalmid lizard *Riama columbiana* (Andersson, 1914) with notes on the type locality. *Papéis Avulsos de Zoologia* 50: 31–41.
- Sánchez–Pacheco, S. J. 2010b. A new “Microteiid” lizard (Squamata: Gymnophthalmidae: *Riama*) from Southwestern Colombia. *Herpetologica*, 66: 349–356.
- Sánchez–Pacheco, S. J., Kizirian, D. A. y Sales Nunes, P. M. 2011. A New Species of *Riama* from Ecuador Previously Referred to as *Riama hyposticta* (Boulenger, 1902) (Squamata: Gymnophthalmidae). *American Museum Novitates* 3719: 1–15.
- Sedano, R. E., y 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: 325–343.

- Siedschlag, A. C., Benozzati, M. L., Passoni, J. C., y Rodrigues, M. T. 2010. Genetic structure, phylogeny, and biogeography of Brazilian eyelid-less lizards of genera *Calyptommatus* and *Nothobachia* (Squamata, Gymnophthalmidae) as inferred from mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 56: 622–630.
- Simpson, B. B. 1975. Pleistocene changes in the flora in the high tropical Andes. 1: 273–294.
- Simpson, B. B. 1979. Quaternary Biogeography of the High Montane Regions of the South America. En: *The South American herpetofauna: its origin, evolution and dispersal*, Monograph 7, W. E. Duellman (ed.) pp. 371–459. University of Kansas Natural History Museum Lawrence, Kansas, U. S. A.
- Smith, J. A., Mark, B. G. y Rodbell, D. T. 2008. The timing and magnitude of mountain glaciations in the tropical Andes. *Journal of Quaternary Science* 23: 609–634.
- Smith, T. B. y Grether, G. F. 2008. The importance of Conserving Evolutionary Processes. En *Conservation Biology: Evolution in Action*. Parte II. Conserving Biodiversity within and among Species (S.P. Carroll y C.W. Fox, eds) pp. 85–98. Oxford University Press, New York, U. S. A.
- Smith, T. S., Wayne, R. K., Girman, D. y Bruford, M. 2005. Evaluating the Divergence-with-Gene-Flow Model in Natural Populations: The Importance of Ecotones in Rainforest Speciation. En: *Topical Rainforests: Past, present and future*. Parte I. Evolutionary and Ecological Determinants of Tropical Rainforest Diversity (E. Bermingham, C.W. Dick y C. Moritz, eds) pp. 148–165. The University of Chicago, U. S. A.

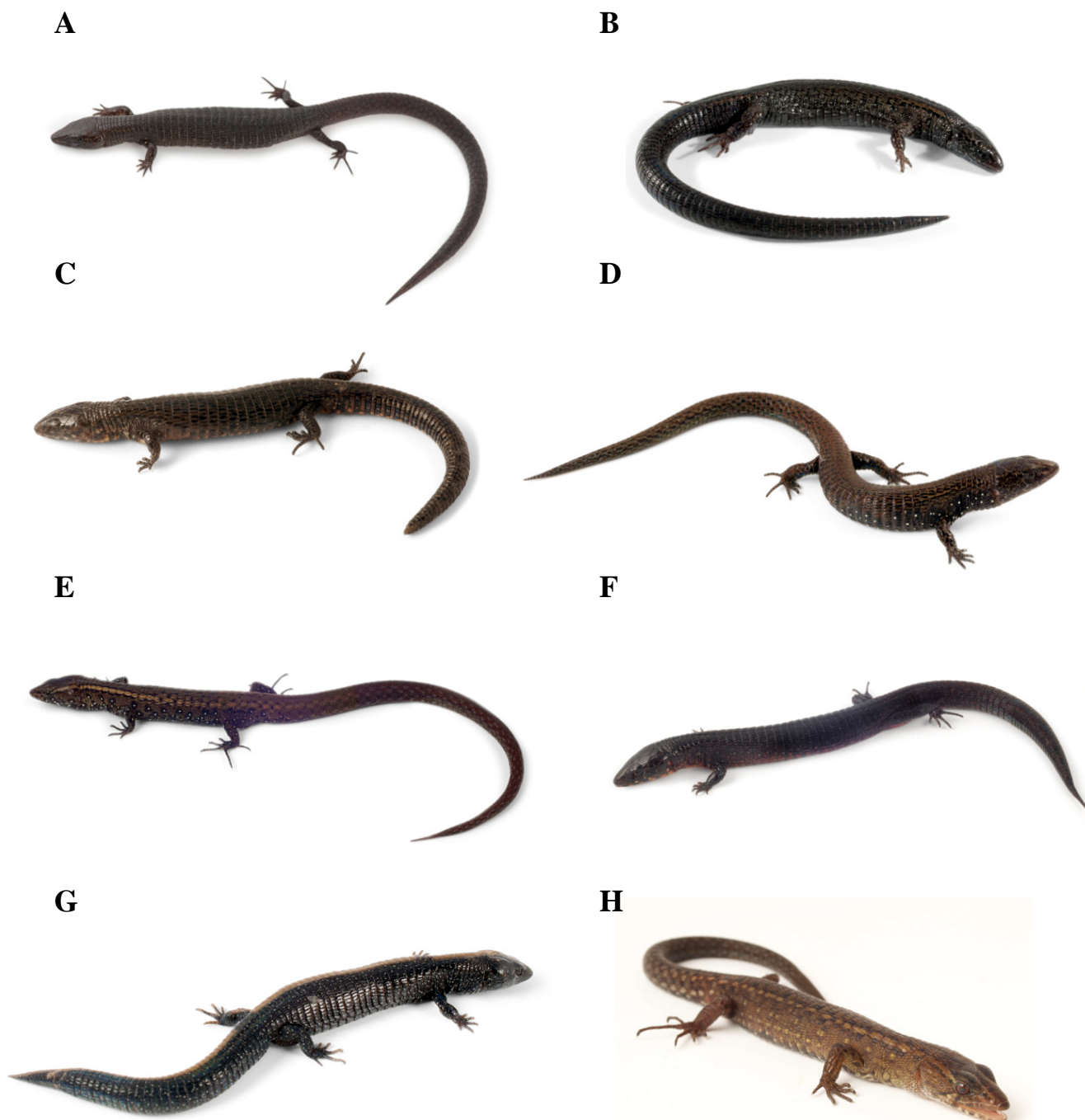
- Soejima, A., Wen, J., Zapata, M. y Dillon, M. D. 2008. Phylogeny and putative hybridization in the subtribe Paranepheleinae (Liabeae, Asteraceae), implications for classification, biogeography, and Andean orogeny. *Journal of Systematics and Evolution* 46: 375–390.
- Steel, M., Mimoto, A., y Mooers, A. O. 2007. Hedging one's bets: quantifying a taxon's expected contribution to future phylogenetic diversity. *Evolutionary Bioinformatics Online* 3: 237–244.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. y Kumar, S. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution* 28: 2731–2739.
- Torres–Carvajal, O. 2007. Phylogeny and biogeography of a large radiation of Andean lizards (Iguania, *Stenocercus*). *Zoologica Scripta* 36: 311–326.
- Torres–Carvajal, O. 2009. Sistemática Filogenética de las lagartijas del género *Stenocercus* (Squamata: Iguania) de los Andes del norte. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 80: 727–740.
- Torres–Carvajal, O. y de Queiroz, K. 2009. Phylogeny of hoplocercine lizards (Squamata: Iguania) with estimates of relative divergence times. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 50: 31–43.
- Torres–Carvajal, O. y Schulte II, J.A. y Cadle, J.E. 2006. Phylogenetic relationships of South American lizards of the genus *Stenocercus* (Squamata: Iguania): A new approach using a general mixture model for gene sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 39: 171–185.

Vargas–Ramírez, M., Vences, M., Branch, W. R., Daniels, S. R., Glaw, F., Hofmeyr, M. D., Kuchling, G., Maran, J., Papenfuss, T. J., Široký, P., Vieites, D. R. y Fritz, U. 2010. Deep genealogical lineages in the widely distributed African helmeted terrapin: Evidence from mitochondrial and nuclear DNA (Testudines: Pelomedusidae: *Pelomedusa subrufa*). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 56: 428–440.

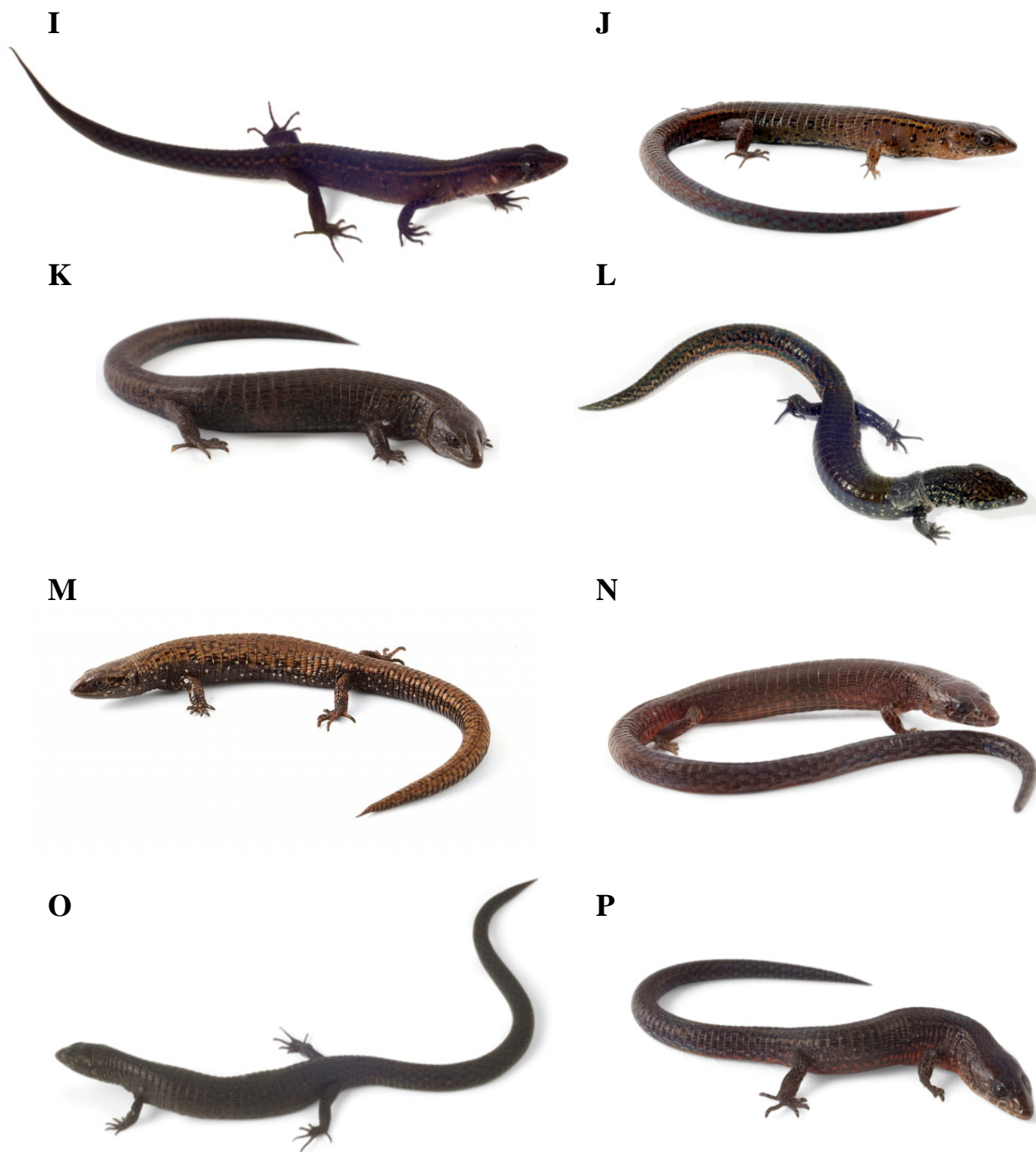
Wiens, J. J. 2007. Species Delimitation: New Approaches for Discovering Diversity. *Systematic Biology* 56:875–878.

Zwickl, D. J., 2006. Genetic algorithm approaches for the phylogenetic analysis of large biological sequence datasets under the maximum likelihood criterion. Ph. D. dissertation, The University of Texas at Austin, Texas, U. S. A.

## 8. FIGURAS



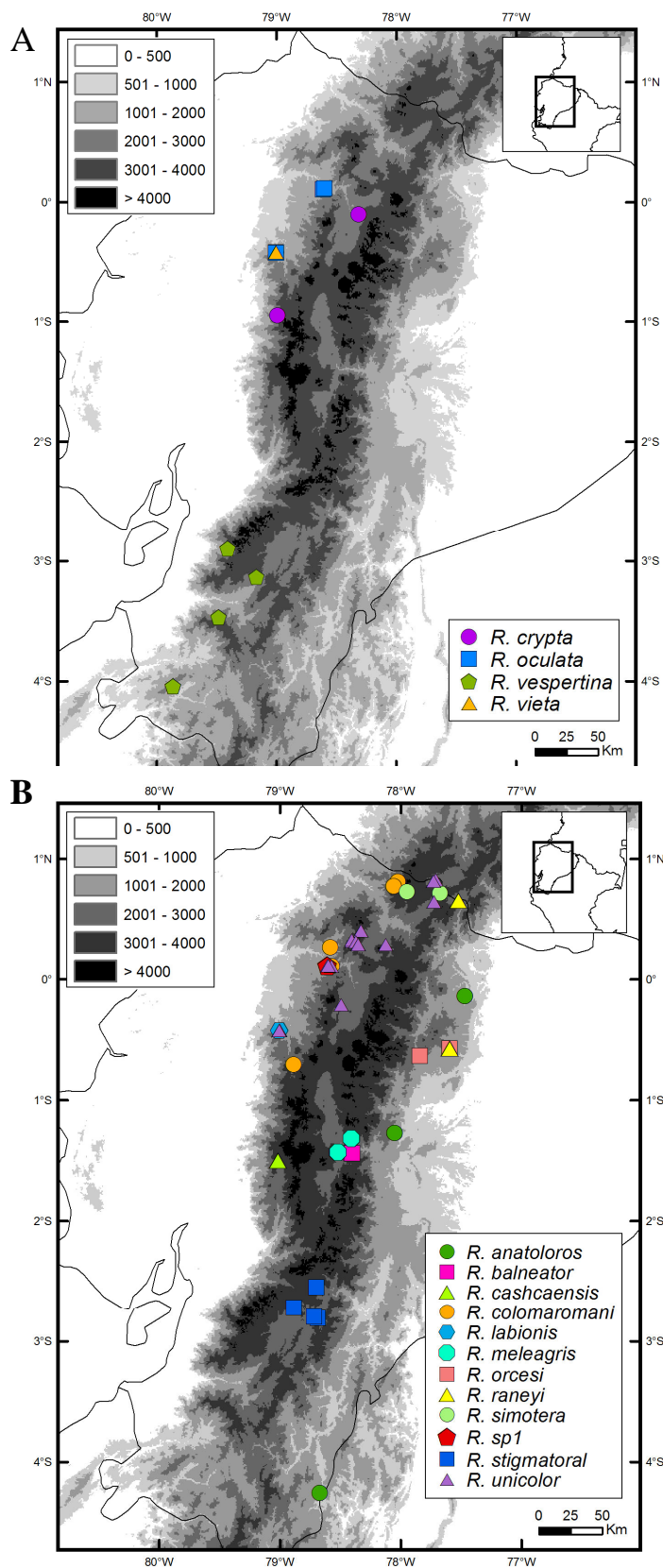
**Figura 1.** Especies de *Riama* de Ecuador. En paréntesis se reconoce el autor de la foto y la provincia de origen del individuo. **A.** *R. anatoloros* (Eduardo Toral, Napo). **B.** *R. balneator* (Omar Torres-Carvajal, Tungurahua). **C.** *R. cashcaensis* (Luis A. Coloma, Bolívar). **D.** *R. colomaromani* (Luis A. Coloma, Carchi). **E.** *R. crypta* (Luis A. Coloma, Cotopaxi). **F.** *R. labionis* (Luis A. Coloma, Cotopaxi). **G.** *R. meleagris* (Omar Torres-Carvajal, Tungurahua). **H.** *R. oculata* (Omar Torres-Carvajal, Pichincha).



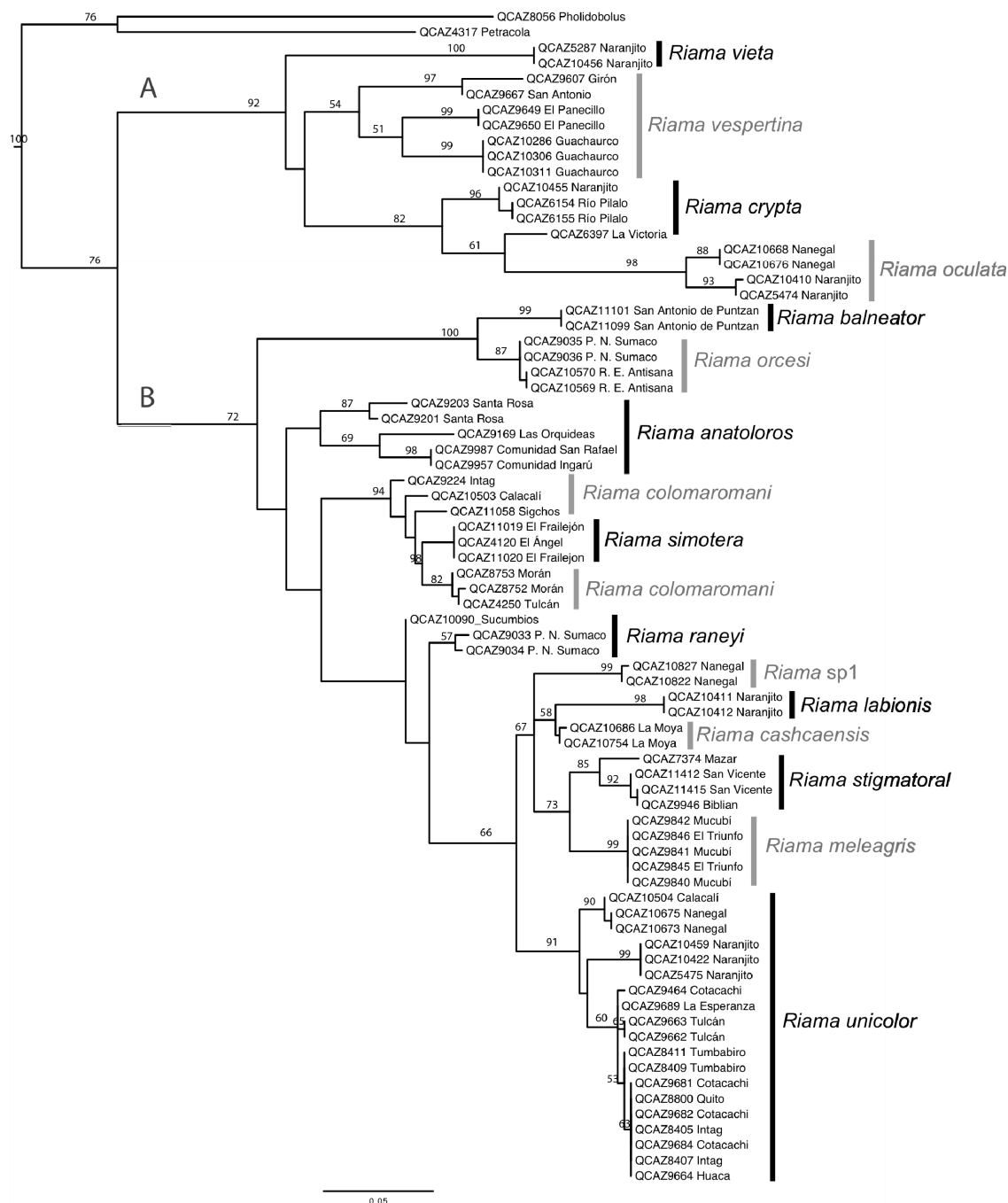
**Figura 1. Continuación.** **I.** *Riama oculata* (Luis A. Coloma, Cotopaxi). **J.** *R. orcesi* (Omar Torres-Carvajal, Napo). **K.** *R. raneyi* (Luis A. Coloma, Sucumbios). **L.** *R. stigmatoral* (Luis A. Coloma, Tungurahua). **M.** *R. simotera* (Omar Torres-Carvajal, Carchi). **N.** *R. sp1* (Lucas Bustamante, Pichincha). **O.** *R. unicolor* (Luis A. Coloma, Cotopaxi). **P.** *R. unicolor* (Luis A. Coloma, Pichincha).

**Q****R****S**

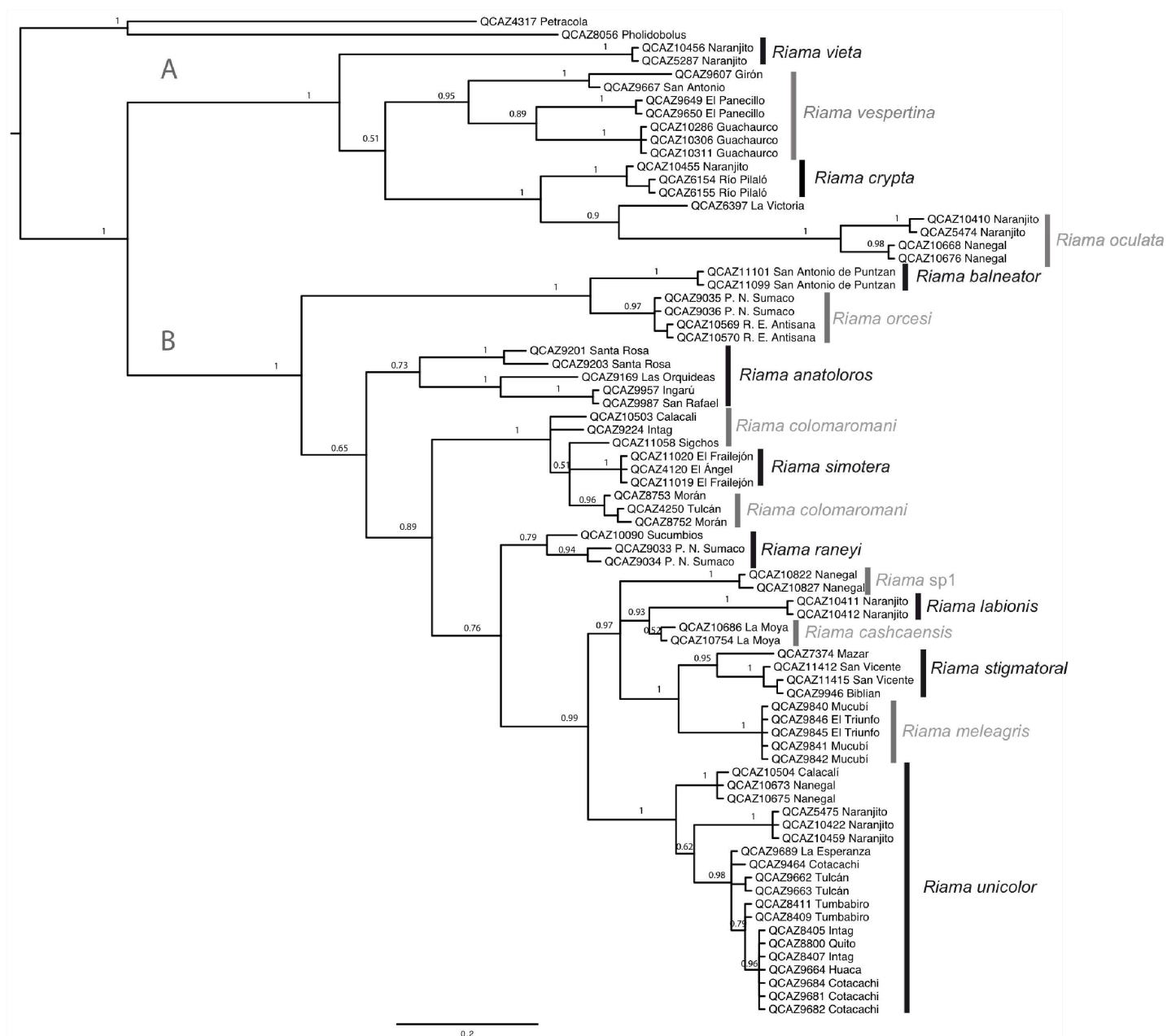
**Figura 1. Continuación. Q.** *Riama vespertina* (Silvia Aldás-Alarcón, Loja). **R.** *R. vespertina* (Omar Torres-Carvajal, Azuay). **S.** *R. vieta* (Luis A. Coloma, Cotopaxi).



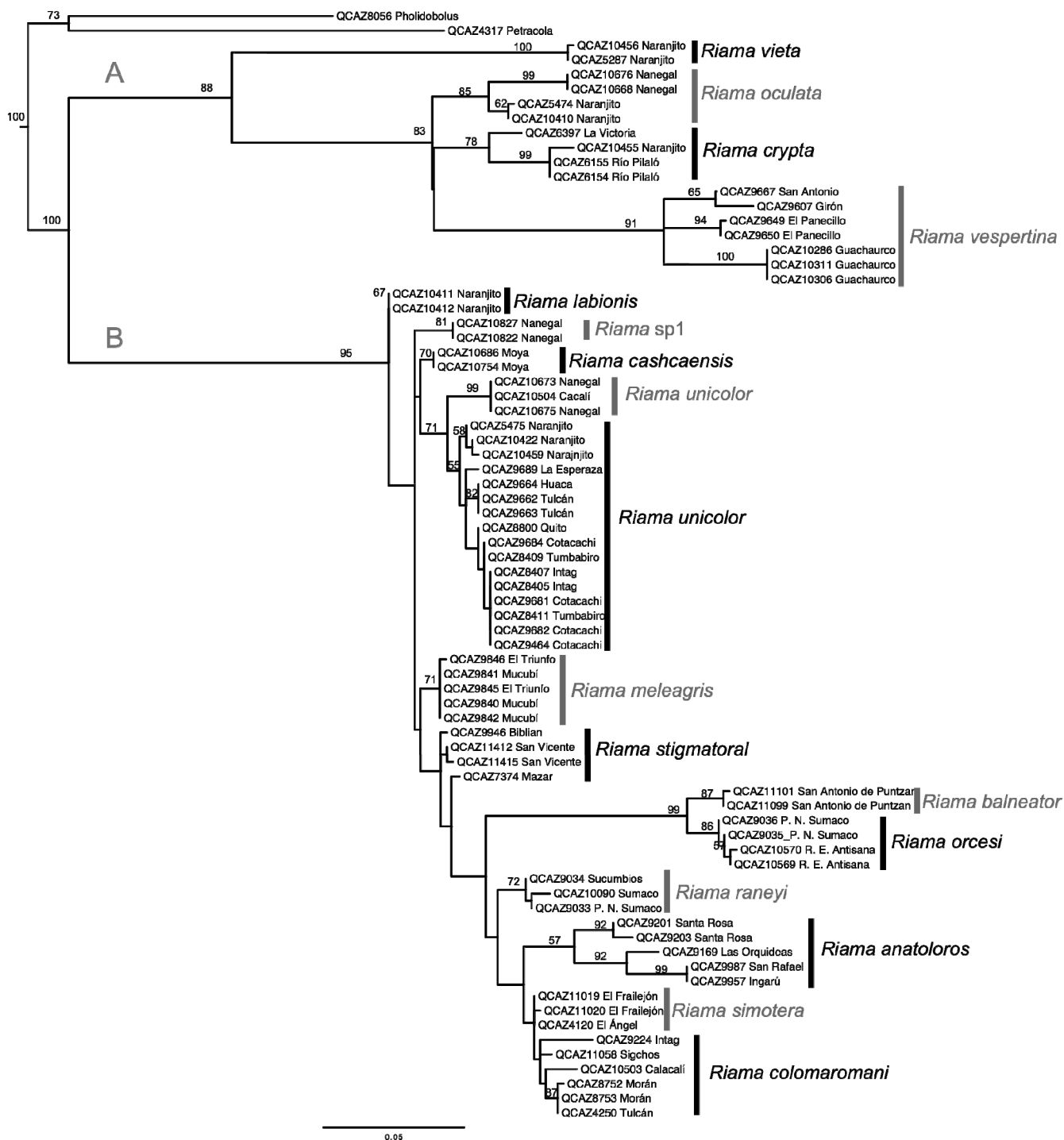
**Figura 2.** Mapa de Distribución de las localidades de colección de las especies de *Riama* utilizadas en los análisis del presente trabajo. A. Distribución de las especies muestreadas del Clado A. B. Distribución de las especies muestreadas del Clado B.



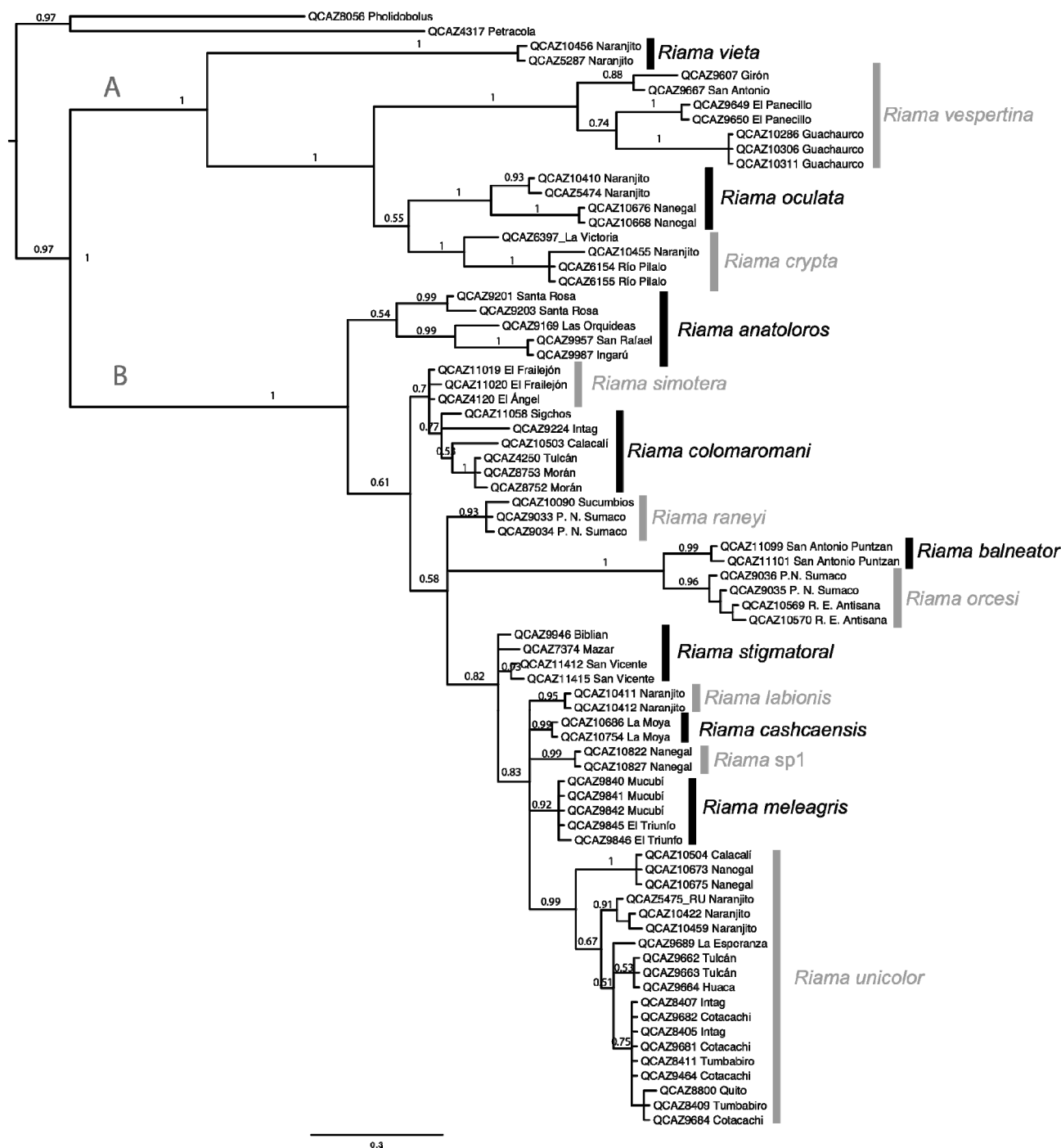
**Figura 3.** Árbol filogenético del análisis de Máxima Verosimilitud del gen 12S. Las letras A y B indican las raíces de los dos grandes Clados. Se muestran los valores de bootstrap sobre las ramas, el número de colección QCAZ para cada individuo y el nombre de la localidad de colección. Junto a cada clado se indica el nombre de la especie con barras verticales. La línea y el valor abajo indican las substituciones por sitio.



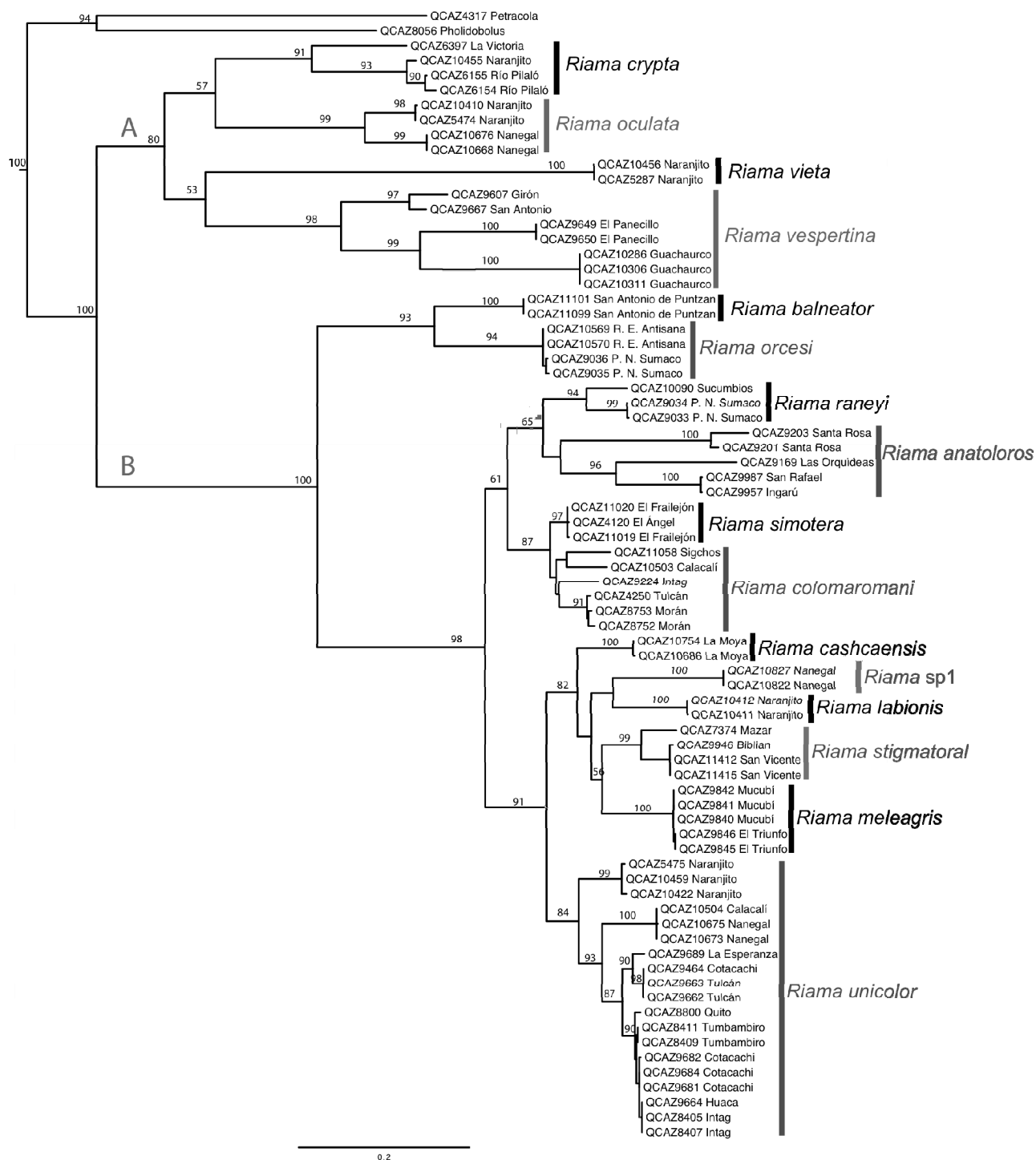
**Figura 4.** Filograma de consenso del análisis de Inferencia Bayesiana del gen 12S. Las letras A y B indican las raíces de los dos grandes Clados. Se muestran los valores de probabilidad posterior sobre las ramas, el número de colección QCAZ para cada individuo y el nombre de la localidad de colección. Junto a cada clado se indica el nombre de la especie con barras verticales. La línea y el valor abajo indican las sustituciones por sitio.



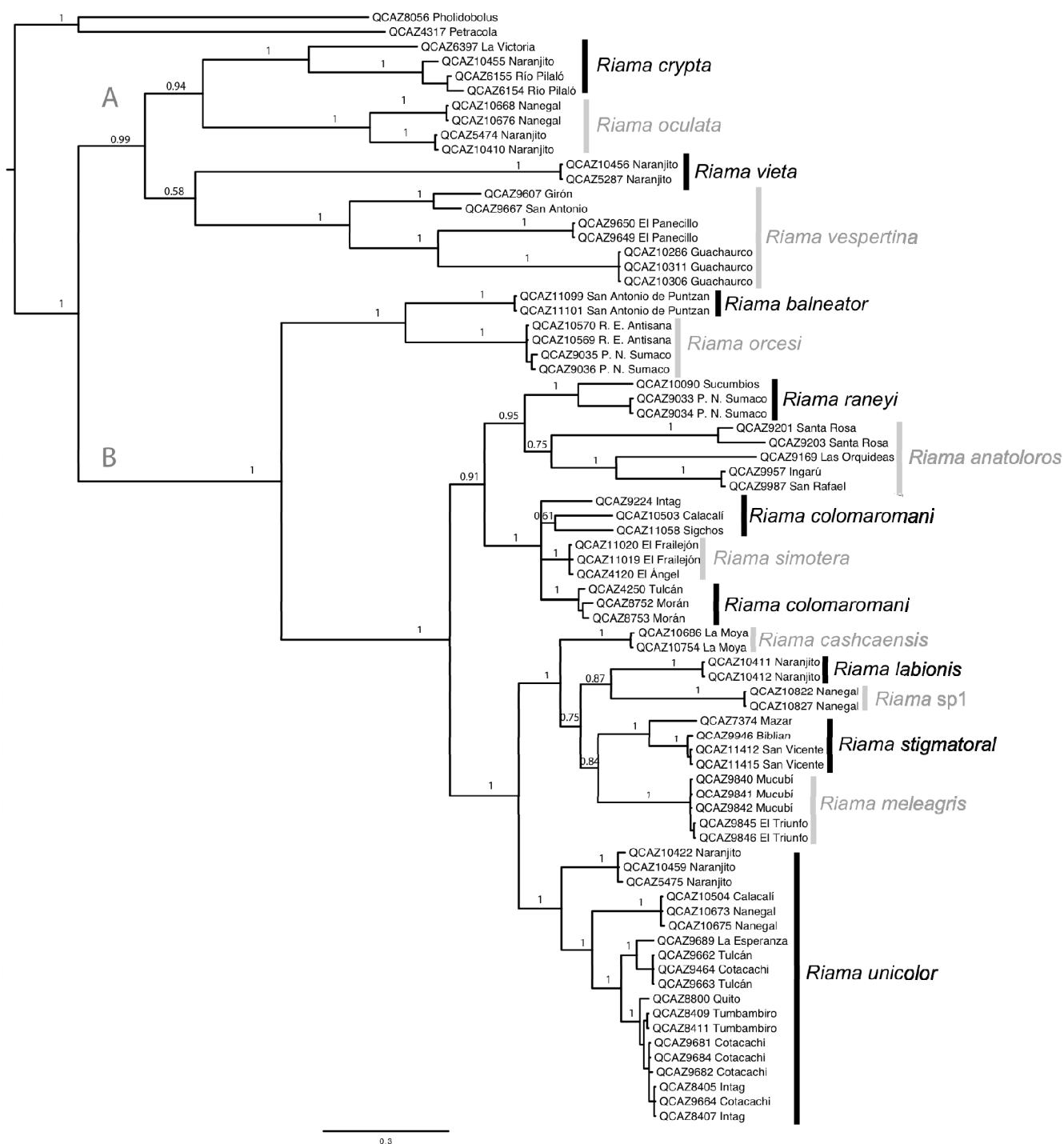
**Figura 5.** Árbol filogenético del análisis de Máxima Verosimilitud del gen 16S. Las letras A y B indican las raíces de los dos grandes Clados. Se muestran los valores de bootstrap sobre las ramas, el número de colección QCAZ para cada individuo y el nombre de la localidad de colección. Junto a cada clado se indica el nombre de la especie con barras verticales. La línea y el valor abajo indican las sustituciones por sitio.



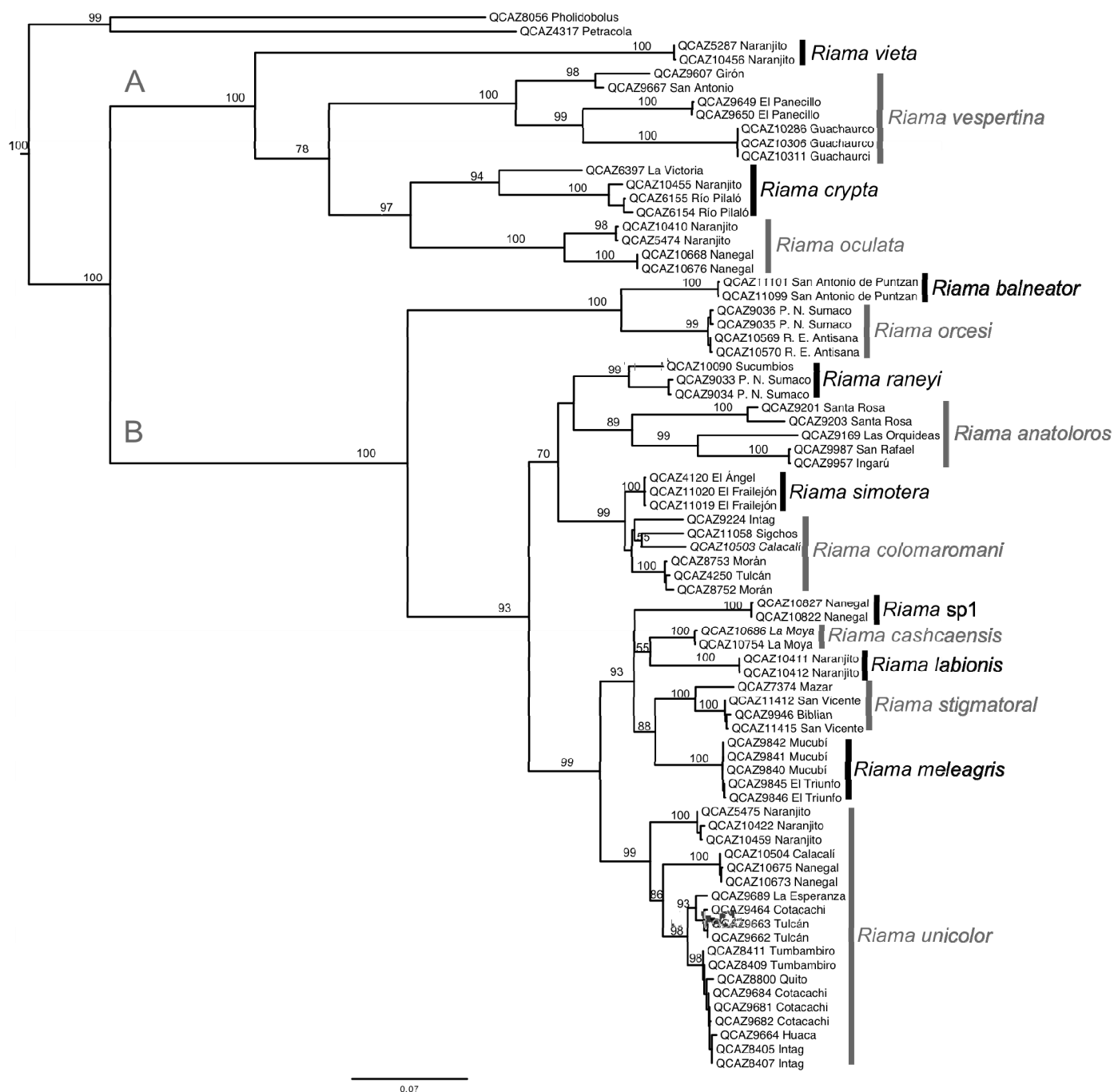
**Figura 6.** Filograma de consenso del análisis de Inferencia Bayesiana del gen 16S. Las letras A y B indican las raíces de los dos grandes Clados. Se muestran los valores de probabilidad posterior sobre las ramas, el número de colección QCAZ para cada individuo y el nombre de la localidad de colección. Junto a cada clado se indica el nombre de la especie con barras verticales. La línea y el valor abajo indican las sustituciones por sitio.



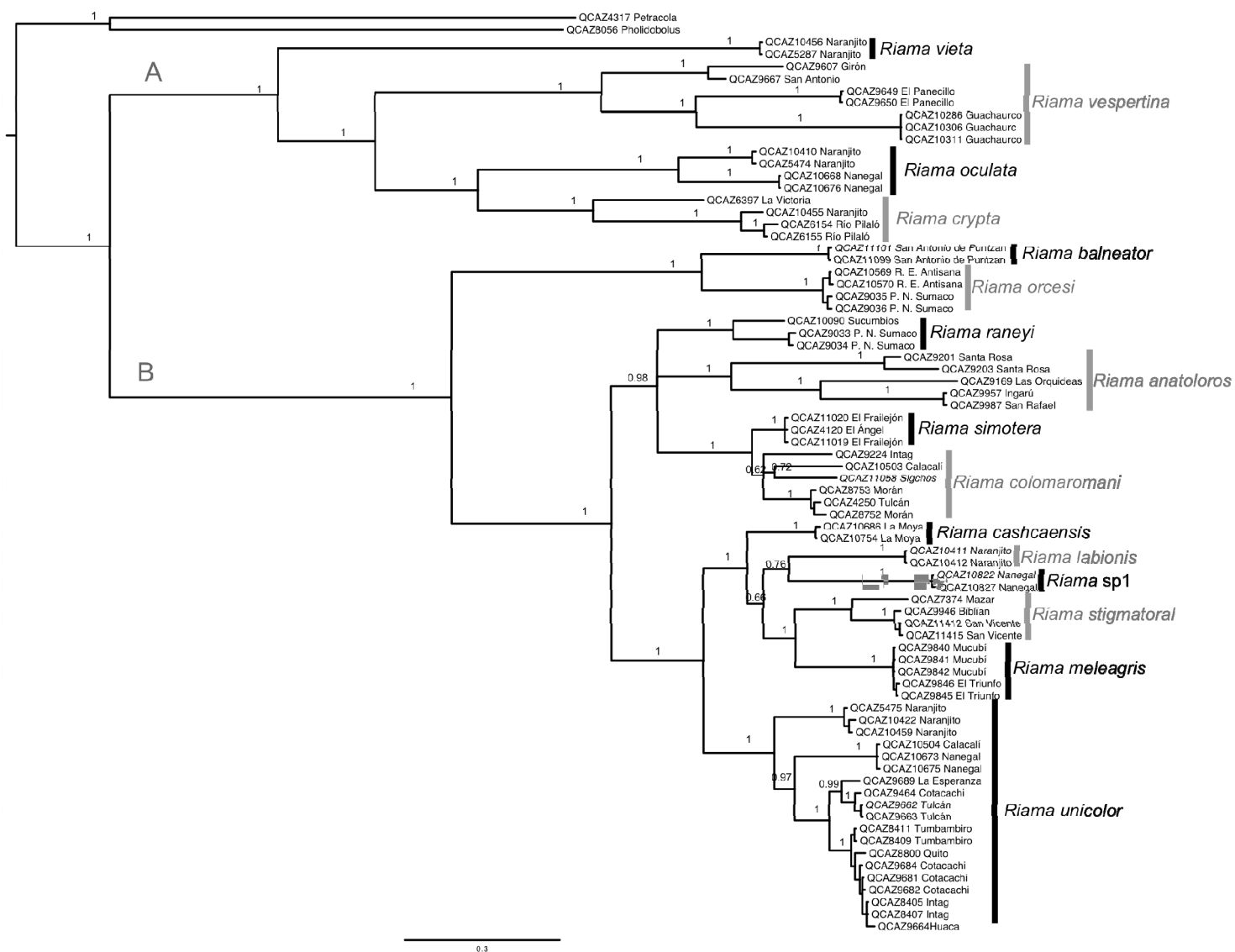
**Figura 7.** Árbol filogenético del análisis de Máxima Verosimilitud del gen ND4. Las letras A y B indican las raíces de los dos grandes Clados. Se muestran los valores de bootstrap sobre las ramas, el número de colección QCAZ para cada individuo y el nombre de la localidad de colección. Junto a cada clado se indica el nombre de la especie con barras verticales. La línea y el valor abajo indican las substituciones por sitio.



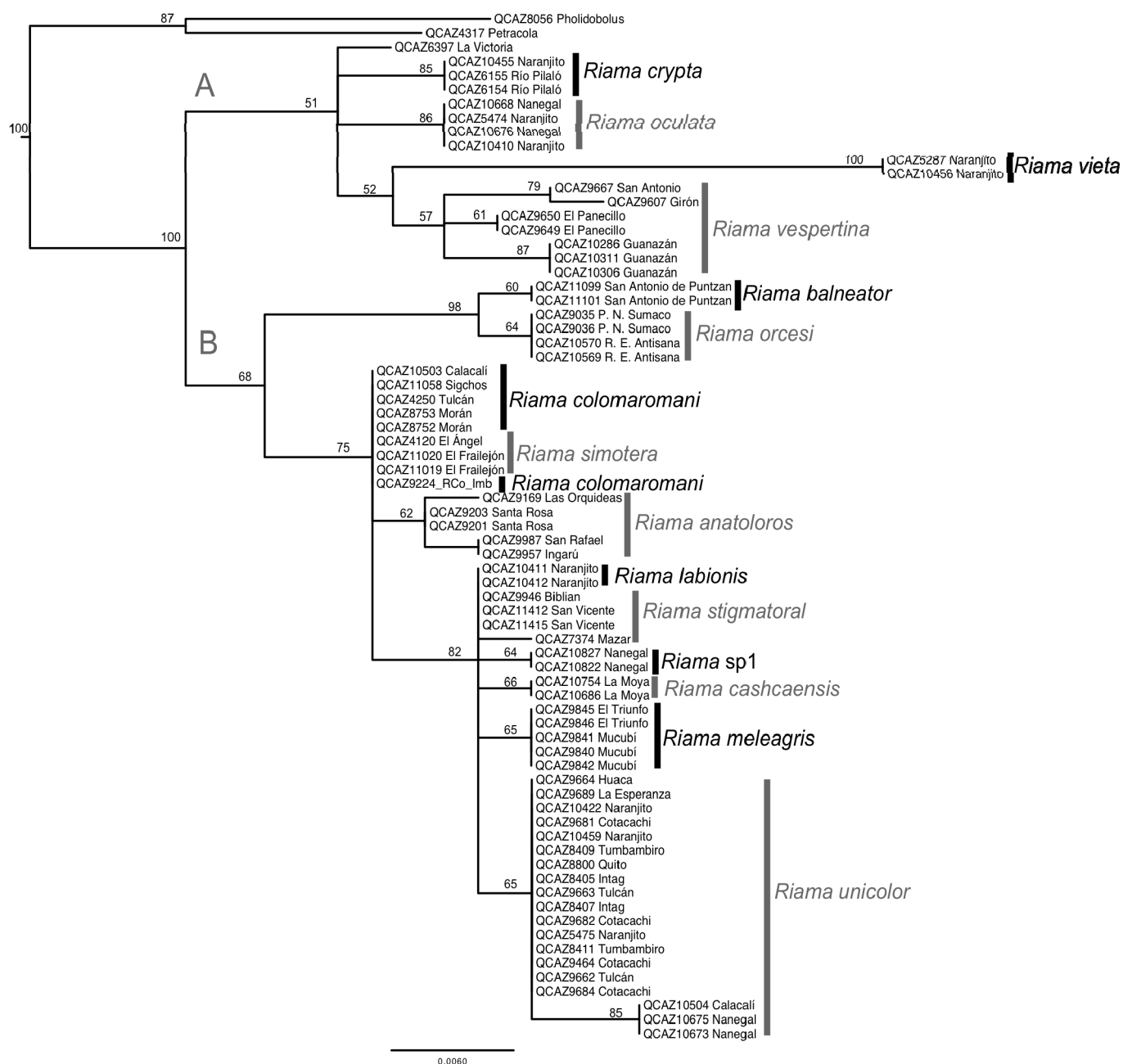
**Figura 8.** Filograma de consenso del análisis de Inferencia Bayesiana del gen ND4. Las letras A y B indican las raíces de los dos grandes Clados. Se muestran los valores de probabilidad posterior sobre las ramas, el número de colección QCAZ para cada individuo y el nombre de la localidad de colección. Junto a cada clado se indica el nombre de la especie con barras verticales. La línea y el valor abajo indican las substituciones por sitio.



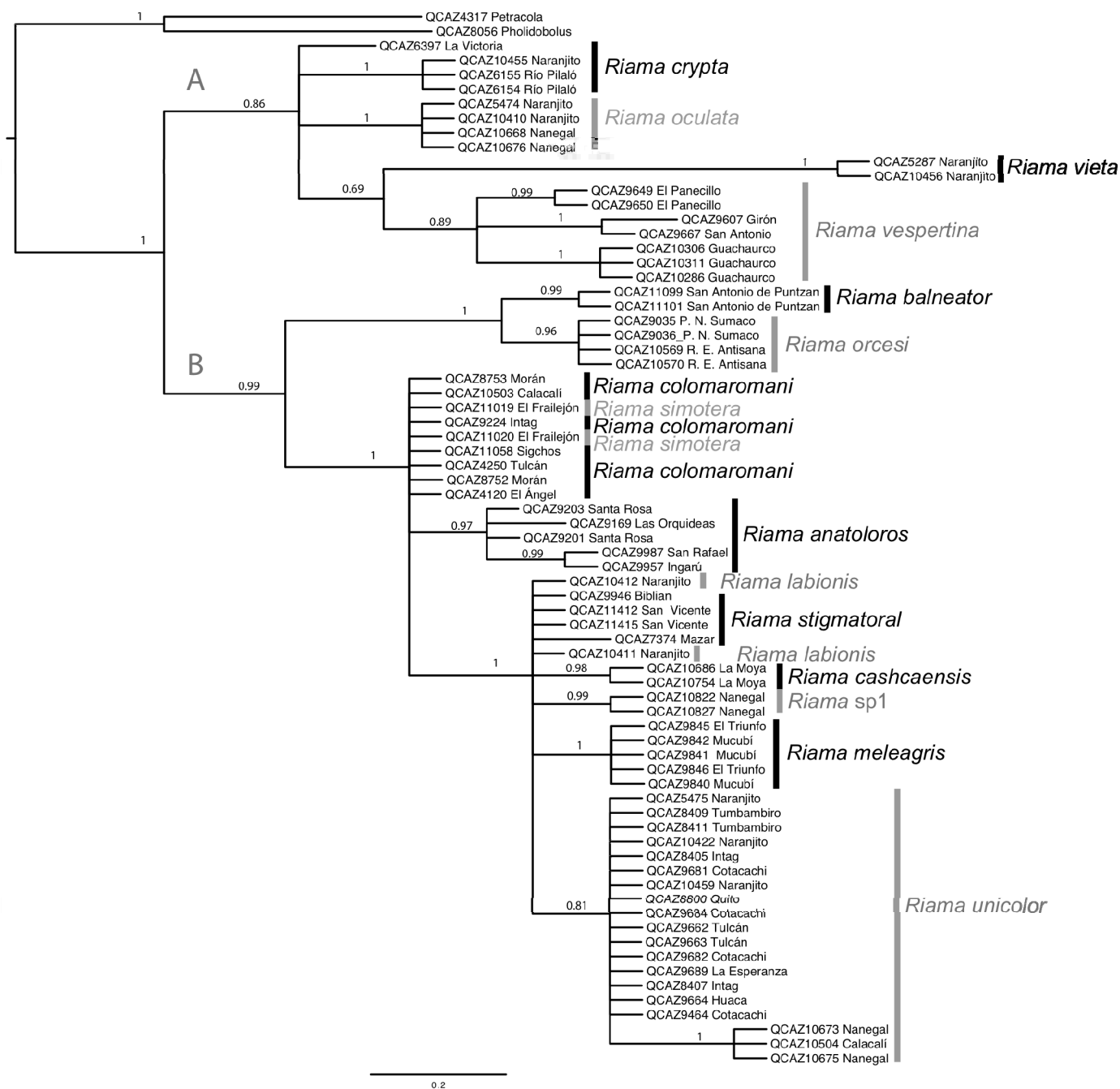
**Figura 9.** Árbol filogenético del análisis de Máxima Verosimilitud de la matriz combinada ADNmt. Las letras A y B indican las raíces de los dos grandes Clados. Se muestran los valores de bootstrap sobre las ramas, el número de colección QCAZ para cada individuo y el nombre de la localidad de colección. Junto a cada clado se indica el nombre de la especie con barras verticales. La línea y el valor abajo indican las substituciones por sitio.



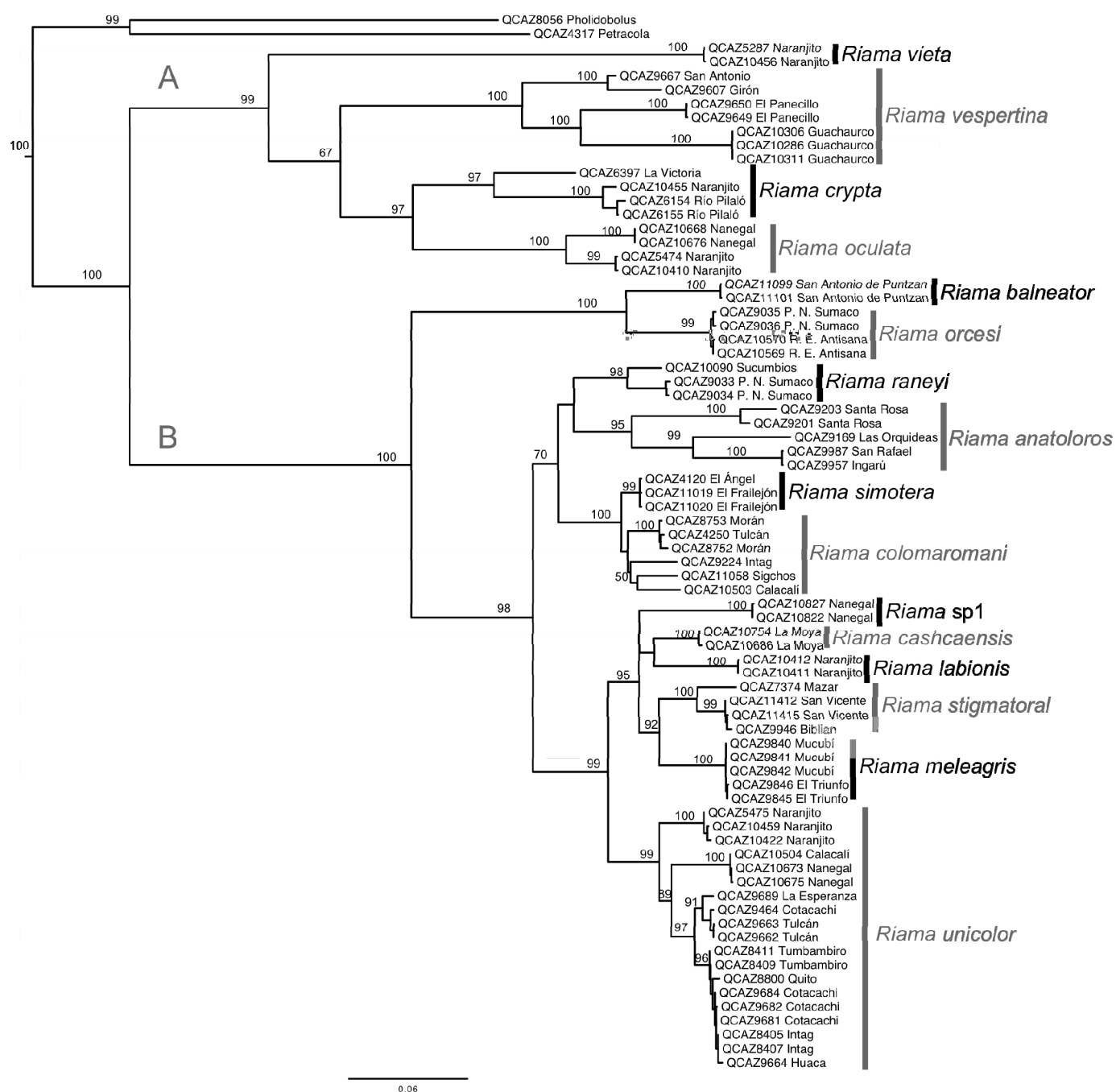
**Figura 10.** Filograma de consenso del análisis de Inferencia Bayesiana de la matriz combinada ADNmt. Las letras A y B indican las raíces de los dos grandes Clados. Se muestran los valores de probabilidad posterior sobre las ramas, el número de colección QCAZ para cada individuo y el nombre de la localidad de colección. Junto a cada clado se indica el nombre de la especie con barras verticales. La línea y el valor abajo indican las sustituciones por sitio.



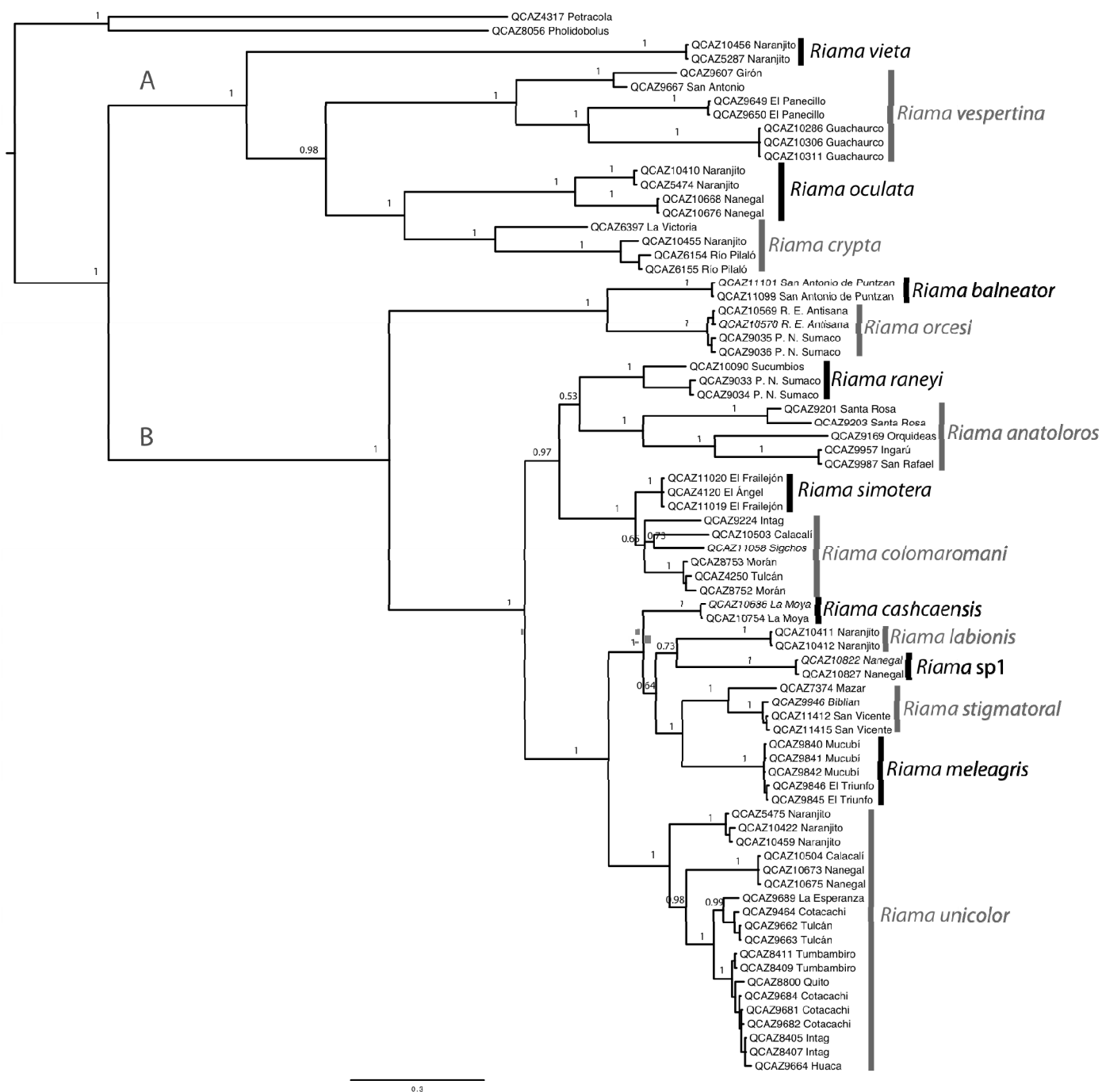
**Figura 11.** Árbol filogenético del análisis de Máxima Verosimilitud del gen CMOS. Las letras A y B indican las raíces de los dos grandes Clados. Se muestran los valores de bootstrap sobre las ramas, el número de colección QCAZ para cada individuo y el nombre de la localidad de colección. Junto a cada clado se indica el nombre de la especie con barras verticales. La línea y el valor abajo indican las sustituciones por sitio.



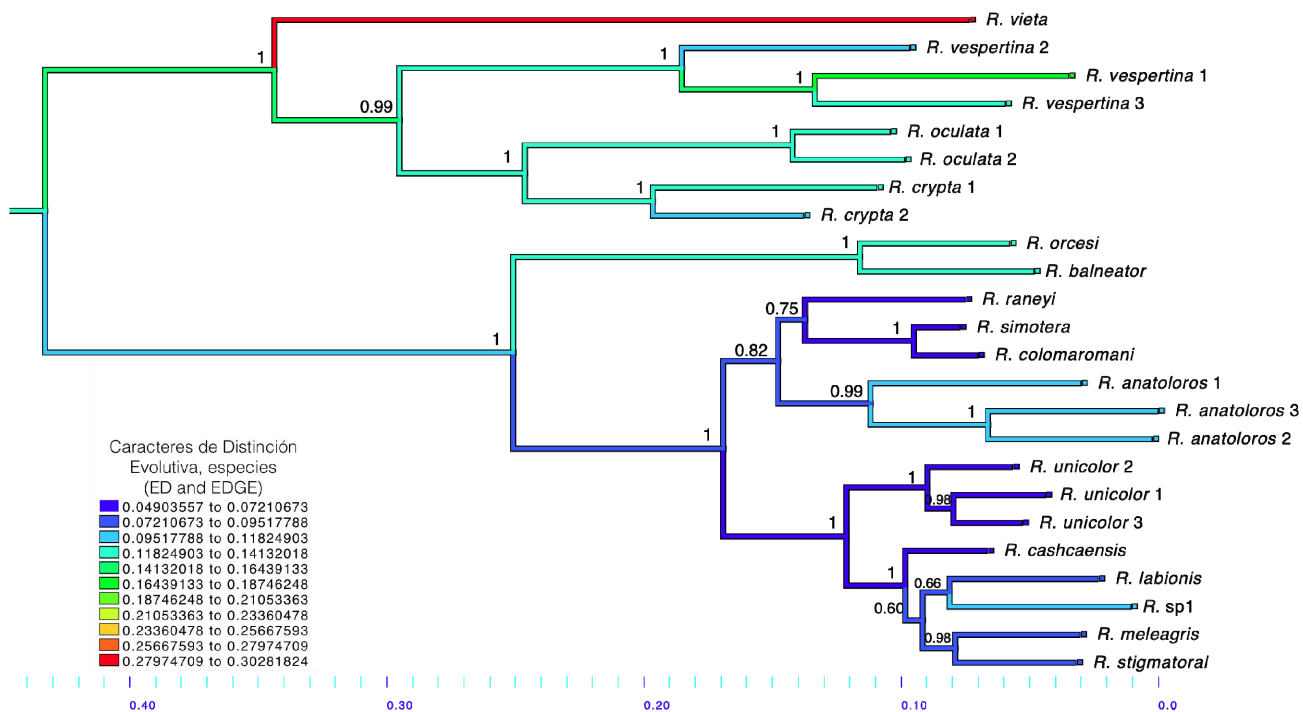
**Figura 12.** Filograma de consenso del análisis de Inferencia Bayesiana del gen CMOS. Las letras A y B indican las raíces de los dos grandes Clados. Se muestran los valores de probabilidad posterior sobre las ramas, el número de colección QCAZ para cada individuo y el nombre de la localidad de colección. Junto a cada clado se indica el nombre de la especie con barras verticales. La línea y el valor abajo indican las substituciones por sitio.



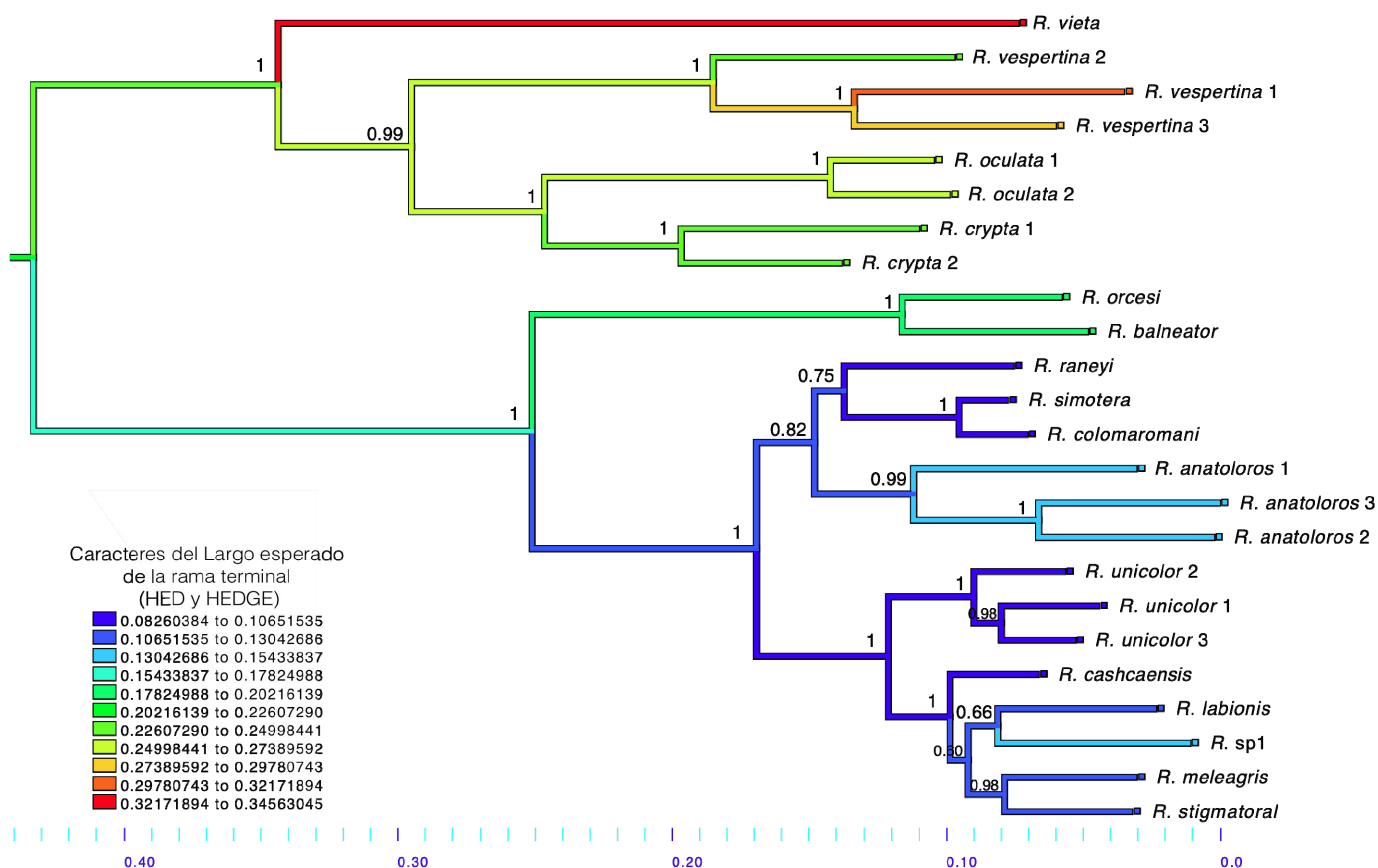
**Figura 13.** Árbol filogenético del análisis de Máxima Verosimilitud de la matriz combinada ADNmt+ADNn (ocho particiones). Las letras A y B indican las raíces de los dos grandes Clados. Se muestran los valores de bootstrap sobre las ramas, el número de colección QCAZ para cada individuo y el nombre de la localidad de colección. Junto a cada clado se indica el nombre de la especie con barras verticales. La línea y el valor abajo indican las sustituciones por sitio.



**Figura 14.** Filograma de consenso del análisis de Inferencia Bayesiana de la matriz combinada ADNmt+ADNn (ocho particiones). Las letras A y B indican las raíces de los dos grandes Clados. Se muestran los valores de probabilidad posterior sobre las ramas, el número de colección QCAZ para cada individuo y el nombre de la localidad de colección. Junto a cada clado se indica el nombre de la especie con barras verticales. La línea y el valor abajo indican las substituciones por sitio.



**Figura 15.** Árboles filogenéticos y Prioridades de conservación, ED y EDGE. Se muestran las prioridades de conservación basadas en los cálculos del índice de la distinción evolutiva (ED) ponderada por el riesgo de extinción actual (EDGE). La leyenda indica que cada color representa un rango de prioridad de conservación, por lo cual colores de rojo–verde muestran las especies más prioritarias para la conservación. En las ramas terminales, los números después de la especie indica la localidad de la posible especie candidata, en *R. anatorlos*, 1 = Napo, 2 = Pastaza, 3 = Zamora Chinchipe; en *R. crypta*, 1 = Cotopaxi, 2 = Pichincha; en *R. oculata*, 1 = Cotopaxi, 2 = Pichincha; en *R. unicolor*, 1 = Pichincha, 2 = Cotopaxi, 3 = valles interandinos; en *R. vespertina*, 1 = Loja, 2 = Azuay, 3 = El Oro.



**Figura 16.** Árboles filogenéticos y Prioridades de conservación, HED y HEDGE. Se muestran las prioridades de conservación basadas en los cálculos de la longitud esperada de la rama terminal (HED) ponderada por el riesgo actual de extinción (HEDGE). La leyenda indica que cada color representa un rango de prioridad de conservación, por lo cual colores de rojo–verde muestran las especies más prioritarias para la conservación. En las ramas terminales, los números después de la especie indica la localidad de la posible especie candidata, en *R. anatorlos*, 1 = Napo, 2 = Pastaza, 3 = Zamora Chinchipe; en *R. crypta*, 1 = Cotopaxi, 2 = Pichincha; en *R. oculata*, 1 = Cotopaxi, 2 = Pichincha; en *R. unicolor*, 1 = Pichincha, 2 = Cotopaxi, 3 = valles interandinos; en *R. vespertina*, 1 = Loja, 2 = Azuay, 3 = El Oro.

**9. TABLAS**

**Tabla 1.** Lista de genes y cebadores utilizados en el estudio.

<b>GEN</b>	<b>CEBADOR</b>	<b>SECUENCIA CEBADOR (5'– 3')</b>	<b>Fuente</b>
12S	12Sa	CTGGGATTAGATACCCCACTA	Harris <i>et al.</i> , 1998
	12Sb	TGAGGAGGGTGACGGGCGGT	
16S	16SL	CGCCTGTTTAACAAAACAT	Harris <i>et al.</i> , 1998
	16SH	CCGGTCTGAACTCAGATCACGT	
	16SF.0 16SR.0	CTGTTTACCAAAAACATMRCCTYTA TAGATAGAAACCGACCTGGATT	A. S. Whiting
ND4	ND4F ND4R	CACCTATGACTACCAAAAGCTCATGT CATTACTTTTACTTGGATTTGCACCA	Arevalo <i>et al.</i> , 1994
	ND412931L	CACCTATGACTACCAAAAGCTCATGTAGAAGC	Blair <i>et al.</i> , 2009
	Leu	CATTACTTTTACTTGGATTTGCACCA	Arevalo <i>et al.</i> , 1994
CMOS	G73 G74	GCGGTAAAGCAGGTGAAGAAA TGAGCATCCAAAGTCTCCAATC	Saint <i>et al.</i> , 1998

**Tabla 2.** Protocolos de PCR utilizados en el presente trabajo.

GEN	CEBADOR		DESNATURALIZACIÓN INICIAL			DESNATURALIZACIÓN	ALINEAMIENTO	ELONGACIÓN	ELONGACIÓN FINAL
	Derecha	Reversa							
12S	12Sa	12Sb	96.0°C (3 min) 1 ciclo			95.0°C (30 seg) 40 ciclos	50–55°C (1min) 40 ciclos	72.0°C(1min) 40 ciclos	72.0°C (10min) 1 ciclo
16S	16SL	16SH	96.0°C (3 min) 1 ciclo			95.0°C (30 seg) 40 ciclos	52.0°C(1 min) 40 ciclos	72.0°C (1 min) 40 ciclos	72.0°C (10min) 1 ciclo
16S	16SF.0	16SR.0	96.0°C (3 min) 1 ciclo			95.0°C (30 seg) 45 ciclos	50.0°C(1 min) 45 ciclos	72.0°C (1 min) 45 ciclos	72.0°C (10min) 1 ciclo
ND4	ND4F	ND4R	96.0°C (3 min) 1 ciclo			95.0°C (25 seg) 35 ciclos	52.0°C(1 min) 35 ciclos	72.0°C (2min) 35 ciclos	72.0°C (10min) 1 ciclo
ND4	ND4	Leu	94.0°C (3:30 min) 1 ciclo	42.0°C (1 min) 1 ciclo	68.0°C (1:30 min) 1 ciclo	94.0°C (30seg) 40 ciclos	52.0–54.0°C(1 min) 40 ciclos	72.0°C (1min) 40 ciclos	72.0°C (15min) 1 ciclo
CMOS	G73	G74	96.0°C (3 min) 1 ciclo			95.0°C (30 seg) 45 ciclos	54–55.0°C(1 min) 45 ciclos	72.0°C (1 min) 45 ciclos	72.0°C (10min) 1 ciclo

**Tabla 3.** Estrategias de partición de genes y matrices combinadas usadas en los análisis filogenéticos.

Conjunto de datos	Número de particiones	Particiones
12S	1	–
16S	1	–
ND4	3	Posición de codones (1era, 2da y 3era).
CMOS	3	Posición de codones (1era, 2da y 3era).
12S–16S–ND4	3	Particionado por cada gen.
	1	–
	2	Particionado: ADNmt+ADNn.
12S–16S–ND4–CMOS	4	Particionado por cada gen.
	8	Particionado por cada gen no codificante y por posición de codones (1era, 2da y 3era) de ND4 y CMOS.

**Tabla 4.** Estrategias de partición, número de nucleótidos y modelos evolutivos obtenidos en JModel Test. AIC se refiere al Criterio de Información de Akaike; Freq se refiere a la frecuencia de nucleótidos (A=adenina, C=citosina, G=guanina y T= timina); p-inv, es la proporción de sitios invariables, Gamma se refiere a la forma de distribución gamma.

Conjunto de datos/Partición		nucleótidos	Modelo seleccionado (AIC)	Freq A	Freq C	Freq G	Freq T	p-inv	Gamma
12S		414	TIM2+I+G	0.3748	0.2111	0.1535	0.2606	0.4550	0.6750
16S		547	TIM2+I+G	0.3378	0.2275	0.1817	0.2530	0.5940	0.4560
ND4		623	TIM2+I+G	0.3602	0.3041	0.0700	0.2658	0.4190	0.7010
CMOS		387	TPM1uf+G	0.3078	0.1888	0.2141	0.2893	–	0.4790
12S–16S–ND4 (ADNmt)		1584	TIM2+I+G	0.3644	0.2595	0.1178	0.2583	0.5320	0.7330
12S–26S–ND4–CMOS (ADNmt+ADNn)		1971	TIM2+I+G	0.3494	0.2492	0.1426	0.2588	0.5620	0.6330
CMOS	codón 1	129	HKY	0.3377	0.1727	0.2954	0.1943	–	–
	codón 2	129	TPM1uf+I	0.3435	0.1474	0.2131	0.2961	0.8300	–
	codón 3	129	TPM3uf	0.2540	0.2235	0.1409	0.3817	–	–
ND4	codón 1	207	GTR+I+G	0.3432	0.3087	0.1815	0.1666	0.0000	0.2230
	codón 2	208	TIM3+I+G	0.1518	0.2699	0.1443	0.4341	0.7270	0.6670
	codón 3	208	TIM2+I+G	0.3998	0.3004	0.0502	0.2496	0.0000	2.3300

**Tabla 5.** Modelos de sustitución de nucleótidos de los genes 12S, 16S, ND4 y CMOS obtenidos en MEGA 5. En la segunda columna los modelos TN93 y T92 son las abreviaturas de los modelos Tamura-Nei y Tamura 3-parámetros respectivamente; se muestran los valores más bajos del Criterio de Información Bayesiana (BIC) resultado de la evaluación de cada gen, los cuales describen los mejores patrones de sustitución, p-inv: proporción de sitios invariables; Gamma indica los valores de la distribución gamma; R indica los valores de las tendencias de transición/transversión para cada modelo; y Freq indica la frecuencia de los nucleótidos adenina (A), timina (T), citosina (C) y guanina (G).

Gen	Model	BIC	p-inv	Gamma	R	Freq A	Freq T	Freq C	Freq G
12S	TN93+G+I	6728.4795	0.48804424	0.81979339	3.05083047	0.36926541	0.22702646	0.22734309	0.17636504
16S	TN93+G+I	6054.54633	0.51041784	0.29423515	3.03217086	0.33525446	0.24274141	0.23567312	0.18633101
ND4	TN93+G+I	16868.4412	0.4516027	1.20464599	3.38074736	0.30020555	0.2969634	0.28414316	0.11868789
CMOS	T92	3232.67873	–	–	2.12395722	0.29077574	0.29077574	0.20922426	0.20922426

**Tabla 6.** Ln de los Factores Bayesianos. En la primera columna se indican el número de particiones de la matriz de ADNmt+ADNn; en la segunda columna los valores de la media armónica obtenidos en MrBayes con el comando sump; en la tercera columna el E.E. indica los valores del error estándar; en la 4ta-7ma columnas se indican los valores del Ln ( $Bab$ ), los valores  $> 10$  indican que el modelo  $a$  fue favorecido por el modelo  $b$  en los cálculos de los factores bayesianos (BF).

	Media armónica	E.E.	12S16SND4CMOS 1p	12S16SND4CMOS 2p	12S16SND4CMOS 4p	12S16SND4CMOS 8p
12S16SND4CMOS 1p	-14707.971	+/-0.395	-	-130.634	-195.271	-671.961
12S16SND4CMOS 2p	-14577.337	+/-0.381	130.634	-	-64.636	-541.327
12S16SND4CMOS 4p	-14512.7	+/-0.306	195.271	64.636	-	-476.691
12S16SND4CMOS 8p	-14036.01	+/-0.428	671.961	541.327	476.691	-

**Tabla 7.** Distancias genéticas intraespecíficas del gen 16S, calculadas en MEGA 5. En la primera columna se muestra las especies, en la segunda columna el número de secuencias por especie, la tercera la distancia genética intraespecífica corregida (DGC), en la cuarta columna el error estándar calculado de la DGC, en la quinta columna la distancia genética no corregida intraespecífica (DGNC) y en la sexta columna del error estándar de la DGNC.

<b>Especie</b>	<b>n</b>	<b>Distancia genética corregida (DGC)</b>	<b>Error estándar (DGC)</b>	<b>Distancia genética no corregida (DGNC)</b>	<b>Error estándar (DGNC)</b>
<i>R. anatoloros</i>	5	0.0203	0.0049	0,0207	0,0048
<i>R. balneator</i>	2	0.0021	0.002	0,002	0,002
<i>R. cashcaensis</i>	2	0	1E <sup>-16</sup>	0	0
<i>R. colomaromani</i>	6	0.0121	0.0031	0,0123	0,0031
<i>R. crypta</i>	4	0.0147	0.0038	0,0142	0,0038
<i>R. labionis</i>	2	2E <sup>-16</sup>	1E <sup>-16</sup>	0	0
<i>R. meleagris</i>	5	0.0008	0.0008	0,0008	0,0007
<i>R. oculata</i>	4	0.0183	0.0051	0,018	0,0047
<i>R. orcesi</i>	4	0.0035	0.0019	0,0034	0,0018
<i>R. raneyi</i>	3	0.0056	0.0028	0,0054	0,0026
<i>R. simotera</i>	3	0.0014	0.0013	0,0014	0,0012
<i>R. sp1</i>	2	0	1E <sup>-16</sup>	0	0
<i>R. stigmatoral</i>	4	0.0042	0.0021	0,0051	0,0021
<i>R. unicolor</i>	19	0.0106	0.0027	0,0102	0,0025
<i>R. vespertina</i>	7	0.0278	0.0055	0,0275	0,0049
<i>R. vieta</i>	2	0.0021	0.002	0,002	0,0019

**Tabla 8.** Distancias genéticas intraespecíficas del gen 12S, calculadas en MEGA 5. En la primera columna se muestra las especies, en la segunda columna el número de secuencias por especie, la tercera la distancia genética intraespecífica corregida (DGC), en la cuarta columna el error estándar calculado de la DGC, en la quinta columna la distancia genética no corregida intraespecífica (DGNC) y en la sexta columna del error estándar de la DGNC.

<b>Especie</b>	<b>n</b>	<b>Distancia genética corregida (DGC)</b>	<b>Error estándar (DGC)</b>	<b>Distancia genética no corregida (DGNC)</b>	<b>Error estándar (DGNC)</b>
<i>R. anatoloros</i>	5	0.0462	0.0087	0.0448	0.0075
<i>R. balneator</i>	2	0	0	0	0
<i>R. cashcaensis</i>	2	0.0027 0–0.003	0.0026	0.0026 0–0.0026	0.0026
<i>R. colomaromani</i>	6	0.0189	0.0047	0.0205	0.0046
<i>R. crypta</i>	4	0.023	0.0058	0.0245	0.0055
<i>R. labionis</i>	2	0	0	0	0
<i>R. meleagris</i>	5	0	0	0	0
<i>R. oculata</i>	4	0.0196	0.0059	0.0188	0.0054
<i>R. orcesi</i>	4	0	0	0	0
<i>R. raneyi</i>	3	0.0144	0.0048	0.0157	0.0053
<i>R. simotera</i>	3	0	0	0	0
<i>R. sp1</i>	2	0.0027	0.0026	0.0026	0.0026
<i>R. stigmatoral</i>	4	0.0155	0.0045	0.0149	0.0041
<i>R. unicolor</i>	19	0.0153	0.0039	0.0148	0.0036
<i>R. vespertina</i>	7	0.0475	0.0081	0.0441	0.0068
<i>R. vieta</i>	2	0	0	0	0

**Tabla 9.** Distancias genéticas intraespecíficas del gen ND4, calculadas en MEGA 5. En la primera columna se muestra las especies, en la segunda columna el número de secuencias por especie, la tercera la distancia genética intraespecífica corregida (DGC), en la cuarta columna el error estándar calculado de la DGC, en la quinta columna la distancia genética no corregida intraespecífica (DGNC) y en la sexta columna del error estándar de la DGNC.

<b>Especie</b>	<b>n</b>	<b>Distancia genética corregida (DGC)</b>	<b>Error estándar (DGC)</b>	<b>Distancia genética no corregida (DGNC)</b>	<b>Error estándar (DGNC)</b>
<i>R. anatoloros</i>	5	0.1329	0.01296	0.1181	0.0098
<i>R. balneator</i>	2	3E <sup>-16</sup>	1.5E <sup>-16</sup>	0	0
<i>R. cashcaensis</i>	2	0.0021	0.0021	0.0016	0.0015
<i>R. colomaromani</i>	6	0.0534	0.00715	0.0547	0.0064
<i>R. crypta</i>	4	0.0909	0.01127	0.0795	0.0079
<i>R. labionis</i>	2	9E <sup>-17</sup>	1.5E <sup>-16</sup>	0	0
<i>R. meleagris</i>	5	0.0012	0.00125	0.001	0.0009
<i>R. oculata</i>	4	0.0655	0.01057	0.0575	0.0076
<i>R. orcesi</i>	4	0.0059	0.00254	0.0051	0.0022
<i>R. raneyi</i>	3	0.0397	0.00755	0.0449	0.0063
<i>R. simotera</i>	3	0.0027	0.0019	0.0021	0.0014
<i>R. sp1</i>	2	0	1.6E <sup>-16</sup>	0	0
<i>R. stigmatoral</i>	4	0.0253	0.005	0.0284	0.0046
<i>R. unicolor</i>	19	0.0471	0.00619	0.0497	0.005
<i>R. vespertina</i>	7	0.1383	0.01533	0.1186	0.009
<i>R. vieta</i>	2	0	1.5E <sup>-16</sup>	0	0

**Tabla 10.** Distancias genéticas intraespecíficas del gen CMOS, calculadas en MEGA 5. En la primera columna se muestra las especies, en la segunda columna el número de secuencias por especie, la tercera la distancia genética intraespecífica corregida (DGC), en la cuarta columna el error estándar calculado de la DGC, en la quinta columna la distancia genética no corregida intraespecífica (DGNC) y en la sexta columna del error estándar de la DGNC.

<b>Especie</b>	<b>n</b>	<b>Distancia genética corregida (DGC)</b>	<b>Error estándar (DGC)</b>	<b>Distancia genética no corregida (DGNC)</b>	<b>Error estándar (DGNC)</b>
<i>R. anatoloros</i>	5	0.0028	0.002	0.0027	0.0019
<i>R. balneator</i>	2	0	0	0	0
<i>R. cashcaensis</i>	2	0	0	0	0
<i>R. colomaromani</i>	6	0	0	0	0
<i>R. crypta</i>	4	0.0043	0.0023	0.004	0.0023
<i>R. labionis</i>	2	0	0	0	0
<i>R. meleagris</i>	5	0	0	0	0
<i>R. oculata</i>	4	0	0	0	0
<i>R. orcesi</i>	4	0	0	0	0
<i>R. simotera</i>	3	0	0	0	0
<i>R. sp1</i>	2	0	0	0	0
<i>R. stigmatoral</i>	4	0.0014	0.0014	0.0013	0.0012
<i>R. unicolor</i>	19	0.0016	0.0011	0.0015	0.001
<i>R. vespertina</i>	7	0.0082	0.0033	0.0076	0.0031
<i>R. vieta</i>	2	0	0	0	0

**Tabla 11.** Distancias genéticas interespecíficas corregidas del gen16S calculadas en MEGA 5. En la primera columna se indican los números que corresponden a las especies de la segunda columna. En la primera fila se muestran los números que corresponden a las especies de la segunda columna. Bajo la diagonal se muestra el valor de la distancia y sobre la diagonal el error estándar.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	
1	<i>R. raneyi</i>		0.008	0.006	0.006	0.008	0.008	0.008	0.007	0.009	0.008	0.009	0.007	0.008	0.007	0.009	0.009	0.017	0.016	0.016	0.014	0.016	0.017	0.015	0.015
2	<i>R. anatoloros Nap</i>	0.029		0.006	0.006	0.008	0.008	0.008	0.008	0.009	0.009	0.008	0.008	0.009	0.006	0.010	0.011	0.017	0.018	0.015	0.015	0.015	0.015	0.014	0.015
3	<i>R. colomaromani</i>	0.023	0.025		0.002	0.007	0.008	0.008	0.007	0.009	0.007	0.008	0.007	0.009	0.007	0.010	0.011	0.017	0.017	0.015	0.015	0.015	0.016	0.014	0.016
4	<i>R. simotera</i>	0.018	0.019	0.008		0.007	0.008	0.009	0.007	0.010	0.008	0.008	0.010	0.007	0.010	0.011	0.017	0.018	0.015	0.016	0.016	0.016	0.016	0.015	0.016
5	<i>R. anatoloros Ptz</i>	0.033	0.029	0.030	0.026		0.011	0.012	0.010	0.012	0.011	0.010	0.010	0.011	0.006	0.011	0.012	0.019	0.019	0.016	0.018	0.017	0.016	0.015	0.016
6	<i>R. labionis</i>	0.029	0.033	0.034	0.031	0.050		0.005	0.005	0.006	0.005	0.007	0.007	0.007	0.009	0.010	0.011	0.017	0.017	0.017	0.015	0.016	0.018	0.016	0.015
7	<i>R. cashcaensis</i>	0.031	0.031	0.036	0.035	0.055	0.013		0.005	0.005	0.005	0.007	0.007	0.007	0.010	0.009	0.011	0.017	0.017	0.016	0.015	0.015	0.017	0.016	0.016
8	<i>R. stigmatoral</i>	0.028	0.032	0.025	0.023	0.044	0.014	0.014		0.005	0.004	0.007	0.007	0.007	0.008	0.009	0.010	0.017	0.017	0.016	0.014	0.015	0.016	0.015	0.015
9	<i>R. sp1</i>	0.039	0.040	0.041	0.039	0.060	0.017	0.013	0.016		0.005	0.007	0.008	0.009	0.011	0.010	0.011	0.017	0.017	0.016	0.014	0.016	0.016	0.016	0.015
10	<i>R. melegaris</i>	0.030	0.038	0.031	0.031	0.051	0.013	0.013	0.010	0.012		0.007	0.008	0.008	0.009	0.010	0.010	0.017	0.017	0.016	0.015	0.015	0.017	0.015	0.015
11	<i>R. unicolor Cot</i>	0.038	0.038	0.037	0.035	0.050	0.024	0.021	0.023	0.022	0.024		0.004	0.006	0.009	0.011	0.012	0.017	0.017	0.015	0.016	0.016	0.016	0.015	0.015
12	<i>R. unicolor</i>	0.030	0.038	0.034	0.032	0.048	0.025	0.024	0.028	0.027	0.028	0.010		0.006	0.009	0.011	0.012	0.017	0.017	0.016	0.015	0.016	0.016	0.015	0.016
13	<i>R. unicolor Pch</i>	0.036	0.045	0.042	0.043	0.055	0.023	0.023	0.026	0.033	0.029	0.021	0.021		0.010	0.012	0.012	0.018	0.018	0.017	0.016	0.016	0.018	0.016	0.016
14	<i>R. anatoloros ZCh</i>	0.024	0.020	0.027	0.022	0.021	0.039	0.041	0.033	0.049	0.040	0.044	0.043	0.046		0.010	0.011	0.018	0.018	0.016	0.016	0.015	0.017	0.015	0.016
15	<i>R. orcesi</i>	0.046	0.048	0.053	0.048	0.058	0.049	0.049	0.047	0.053	0.050	0.063	0.061	0.066	0.049		0.006	0.016	0.016	0.017	0.016	0.017	0.018	0.018	0.015
16	<i>R. balneator</i>	0.047	0.059	0.061	0.057	0.065	0.058	0.058	0.055	0.059	0.054	0.065	0.065	0.066	0.056	0.021		0.017	0.017	0.018	0.017	0.018	0.017	0.018	0.015
17	<i>R. vespertina</i>	0.117	0.121	0.116	0.119	0.130	0.115	0.120	0.117	0.115	0.121	0.115	0.114	0.124	0.123	0.114	0.121		0.007	0.009	0.013	0.013	0.014	0.013	0.016
18	<i>R. cf vespertina</i>	0.112	0.128	0.122	0.123	0.131	0.121	0.126	0.120	0.121	0.124	0.118	0.117	0.127	0.124	0.117	0.119	0.029		0.008	0.012	0.013	0.014	0.013	0.016
19	<i>R. vespertina Az</i>	0.111	0.108	0.107	0.108	0.116	0.114	0.114	0.113	0.114	0.112	0.108	0.113	0.120	0.111	0.121	0.125	0.042	0.037		0.014	0.012	0.011	0.011	0.014
20	<i>R. oculata Cot</i>	0.093	0.105	0.105	0.105	0.119	0.101	0.101	0.096	0.096	0.102	0.105	0.102	0.110	0.099	0.107	0.115	0.075	0.063	0.077		0.008	0.010	0.010	0.014
21	<i>R. oculata</i>	0.105	0.106	0.109	0.108	0.116	0.107	0.107	0.103	0.107	0.108	0.108	0.109	0.107	0.102	0.120	0.122	0.073	0.069	0.067	0.027		0.010	0.010	0.015
22	<i>R. crypta Cot</i>	0.110	0.108	0.110	0.107	0.114	0.122	0.118	0.110	0.114	0.116	0.109	0.114	0.125	0.115	0.126	0.124	0.082	0.077	0.070	0.050	0.053		0.007	0.014
23	<i>R. crypta Pch</i>	0.094	0.096	0.098	0.096	0.100	0.112	0.108	0.099	0.108	0.103	0.098	0.099	0.109	0.095	0.120	0.119	0.071	0.065	0.058	0.045	0.043	0.024		0.014
24	<i>R. vieta</i>	0.103	0.098	0.109	0.108	0.108	0.103	0.105	0.104	0.100	0.103	0.106	0.107	0.113	0.108	0.106	0.106	0.102	0.106	0.093	0.087	0.091	0.091	0.091	

**Tabla 12.** Distancias genéticas interespecíficas no corregidas del gen16S calculadas en MEGA 5. En la primera columna se indican los números que corresponden a las especies de la segunda columna. En la primera fila se muestran los números que corresponden a las especies de la segunda columna. Bajo la diagonal se muestra el valor de la distancia y sobre la diagonal el error estándar.

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
1	<i>R. raneyi</i>		0.007	0.006	0.006	0.008	0.007	0.007	0.007	0.008	0.007	0.008	0.007	0.008	0.007	0.009	0.009	0.013	0.013	0.012	0.012	0.012	0.013	0.012	0.012
2	<i>R. anatoloros</i> Nap	0.029		0.006	0.005	0.007	0.008	0.007	0.007	0.009	0.008	0.008	0.008	0.009	0.006	0.010	0.010	0.013	0.014	0.013	0.012	0.012	0.013	0.012	0.012
3	<i>R. colomaromani</i>	0.025	0.024		0.002	0.007	0.007	0.007	0.006	0.008	0.007	0.008	0.007	0.008	0.006	0.010	0.010	0.013	0.013	0.012	0.012	0.012	0.013	0.012	0.012
4	<i>R. simotera</i>	0.020	0.018	0.008		0.007	0.007	0.008	0.007	0.009	0.008	0.008	0.008	0.009	0.006	0.010	0.010	0.013	0.013	0.012	0.012	0.012	0.013	0.012	0.012
5	<i>R. anatoloros</i> Ptz	0.035	0.029	0.031	0.027		0.010	0.010	0.009	0.011	0.010	0.010	0.009	0.010	0.006	0.010	0.011	0.014	0.014	0.013	0.013	0.013	0.014	0.013	0.013
6	<i>R. labionis</i>	0.028	0.032	0.033	0.029	0.049		0.005	0.005	0.005	0.005	0.006	0.006	0.007	0.008	0.009	0.010	0.013	0.013	0.013	0.012	0.012	0.013	0.013	0.012
7	<i>R. cashcaensis</i>	0.030	0.031	0.036	0.035	0.055	0.012		0.005	0.005	0.005	0.006	0.006	0.007	0.009	0.009	0.010	0.013	0.013	0.013	0.012	0.012	0.013	0.013	0.012
8	<i>R. stigmatoral</i>	0.027	0.032	0.027	0.024	0.046	0.014	0.014		0.005	0.004	0.006	0.006	0.006	0.008	0.009	0.009	0.013	0.013	0.012	0.012	0.012	0.013	0.012	0.012
9	<i>R. sp1</i>	0.036	0.040	0.040	0.038	0.059	0.016	0.012	0.016		0.005	0.006	0.006	0.008	0.010	0.010	0.010	0.013	0.013	0.012	0.012	0.012	0.013	0.013	0.012
10	<i>R. meleagris</i>	0.030	0.040	0.034	0.033	0.053	0.015	0.015	0.012	0.014		0.006	0.007	0.007	0.009	0.010	0.010	0.013	0.013	0.012	0.012	0.012	0.013	0.012	0.012
11	<i>R. unicolor</i> Cot	0.035	0.038	0.037	0.035	0.051	0.022	0.020	0.022	0.021	0.024		0.004	0.006	0.009	0.011	0.010	0.013	0.013	0.012	0.012	0.012	0.013	0.012	0.012
12	<i>R. unicolor</i> VI	0.028	0.038	0.034	0.033	0.049	0.024	0.023	0.027	0.025	0.028	0.010		0.006	0.009	0.010	0.010	0.013	0.013	0.012	0.012	0.012	0.013	0.012	0.012
13	<i>R. unicolor</i> Pch	0.034	0.044	0.041	0.041	0.055	0.022	0.022	0.025	0.030	0.029	0.020	0.020		0.009	0.011	0.010	0.013	0.013	0.013	0.013	0.012	0.014	0.013	0.013
14	<i>R. anatoloros</i> ZCh	0.027	0.021	0.028	0.023	0.020	0.039	0.043	0.036	0.049	0.043	0.045	0.044	0.047		0.009	0.010	0.013	0.014	0.013	0.012	0.013	0.013	0.012	0.012
15	<i>R. orcesi</i>	0.050	0.053	0.057	0.053	0.062	0.052	0.052	0.050	0.055	0.054	0.064	0.062	0.066	0.052		0.006	0.013	0.013	0.013	0.012	0.013	0.013	0.013	0.012
16	<i>R. balneator</i>	0.050	0.063	0.064	0.061	0.068	0.060	0.060	0.057	0.060	0.058	0.065	0.065	0.066	0.058	0.020		0.014	0.014	0.013	0.013	0.013	0.013	0.014	0.012
17	<i>R. vespertina</i> Loj	0.111	0.113	0.108	0.110	0.118	0.108	0.114	0.111	0.110	0.112	0.109	0.109	0.116	0.112	0.107	0.113		0.007	0.008	0.011	0.011	0.011	0.011	0.013
18	<i>R. vespertina</i> EIO	0.107	0.121	0.116	0.116	0.122	0.114	0.118	0.113	0.114	0.114	0.111	0.111	0.118	0.116	0.106	0.109	0.029		0.007	0.011	0.011	0.010	0.010	0.013
19	<i>R. vespertina</i> Az	0.106	0.105	0.105	0.105	0.111	0.109	0.109	0.108	0.109	0.105	0.104	0.108	0.113	0.106	0.109	0.113	0.042	0.034		0.011	0.010	0.010	0.009	0.012
20	<i>R. oculata</i> Cot	0.094	0.101	0.101	0.101	0.111	0.099	0.100	0.096	0.096	0.099	0.102	0.101	0.106	0.095	0.101	0.108	0.068	0.060	0.071		0.007	0.009	0.009	0.012
21	<i>R. oculata</i> Pch	0.102	0.101	0.103	0.102	0.108	0.102	0.104	0.101	0.104	0.105	0.104	0.105	0.104	0.096	0.108	0.111	0.068	0.066	0.064	0.026		0.009	0.009	0.012
22	<i>R. crypta</i> Cot	0.105	0.102	0.104	0.101	0.107	0.112	0.112	0.105	0.108	0.108	0.104	0.109	0.116	0.106	0.116	0.116	0.075	0.073	0.067	0.047	0.051		0.007	0.012
23	<i>R. crypta</i> Pch	0.092	0.092	0.094	0.092	0.096	0.104	0.104	0.097	0.104	0.098	0.096	0.097	0.104	0.090	0.110	0.111	0.065	0.061	0.056	0.042	0.042	0.023		0.012
24	<i>R. vieta</i>	0.100	0.094	0.103	0.102	0.104	0.099	0.102	0.100	0.098	0.100	0.103	0.104	0.109	0.103	0.104	0.106	0.097	0.102	0.092	0.085	0.087	0.087	0.086	

**Tabla 13.** Distancias genéticas interespecíficas corregidas del gen12S calculadas en MEGA 5. En la primera columna se indican los números que corresponden a las especies de la segunda columna. En la primera fila se muestran los números que corresponden a las especies de la segunda columna. Bajo la diagonal se muestra el valor de la distancia y sobre la diagonal el error estándar.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
1 <i>R.raneyi</i>		0.014	0.012	0.014	0.012	0.011	0.013	0.012	0.013	0.010	0.012	0.013	0.013	0.012	0.017	0.018	0.021	0.022	0.022	0.024	0.019	0.021	0.022	0.021
2 <i>R.labionis</i>	0.075		0.013	0.014	0.013	0.010	0.012	0.011	0.011	0.015	0.017	0.015	0.015	0.015	0.018	0.019	0.022	0.021	0.024	0.025	0.022	0.023	0.023	0.022
3 <i>R.unicolor</i> Pch	0.062	0.065		0.009	0.007	0.011	0.012	0.014	0.012	0.015	0.016	0.015	0.017	0.015	0.018	0.019	0.022	0.022	0.026	0.027	0.023	0.024	0.024	0.022
4 <i>R.unicolor</i> Cot	0.071	0.074	0.030		0.009	0.013	0.014	0.015	0.014	0.015	0.017	0.016	0.017	0.016	0.020	0.020	0.023	0.023	0.026	0.027	0.023	0.023	0.024	0.023
5 <i>R.unicolor</i> VI	0.063	0.066	0.021	0.031		0.012	0.013	0.012	0.014	0.014	0.015	0.014	0.016	0.014	0.018	0.018	0.021	0.022	0.024	0.025	0.021	0.021	0.022	0.022
6 <i>R.cashcaensis</i>	0.052	0.037	0.046	0.061	0.053		0.010	0.011	0.009	0.014	0.016	0.015	0.015	0.015	0.018	0.020	0.022	0.022	0.025	0.027	0.023	0.023	0.024	0.022
7 <i>R.meleagris</i>	0.066	0.062	0.056	0.071	0.063	0.040		0.013	0.010	0.015	0.016	0.015	0.016	0.014	0.018	0.020	0.022	0.022	0.025	0.026	0.023	0.024	0.023	0.022
8 <i>R.sp1</i>	0.062	0.055	0.073	0.082	0.055	0.044	0.067		0.012	0.013	0.014	0.015	0.014	0.015	0.017	0.018	0.023	0.022	0.025	0.027	0.023	0.023	0.026	0.024
9 <i>R.stigmatoral</i>	0.072	0.055	0.063	0.079	0.073	0.040	0.046	0.056		0.015	0.016	0.016	0.015	0.015	0.017	0.019	0.023	0.022	0.025	0.026	0.023	0.024	0.024	0.023
10 <i>R.colomaramani</i>	0.049	0.085	0.086	0.093	0.079	0.079	0.082	0.068	0.093		0.007	0.015	0.014	0.012	0.017	0.017	0.023	0.021	0.024	0.025	0.022	0.023	0.024	0.022
11 <i>R.simotera</i>	0.055	0.090	0.083	0.099	0.081	0.082	0.086	0.073	0.093	0.024		0.016	0.015	0.014	0.018	0.018	0.023	0.021	0.024	0.025	0.023	0.023	0.025	0.023
12 <i>R. anatoloros</i> ZCh	0.064	0.071	0.080	0.090	0.074	0.073	0.074	0.082	0.091	0.081	0.083		0.011	0.012	0.019	0.020	0.022	0.020	0.022	0.024	0.020	0.021	0.023	0.020
13 <i>R. anatoloros</i> Ptz	0.070	0.080	0.099	0.105	0.094	0.082	0.080	0.079	0.090	0.078	0.083	0.042		0.013	0.019	0.019	0.023	0.022	0.024	0.024	0.023	0.024	0.024	0.022
14 <i>R. anatoloros</i> Nap	0.063	0.082	0.085	0.097	0.079	0.083	0.076	0.086	0.091	0.065	0.074	0.059	0.061		0.016	0.016	0.023	0.021	0.022	0.023	0.021	0.022	0.022	0.022
15 <i>R.orcesi</i>	0.105	0.115	0.112	0.132	0.107	0.107	0.112	0.101	0.104	0.109	0.105	0.115	0.118	0.096		0.010	0.023	0.020	0.023	0.024	0.022	0.022	0.025	0.024
16 <i>R.balneator</i>	0.118	0.128	0.132	0.139	0.115	0.127	0.132	0.114	0.123	0.105	0.105	0.122	0.118	0.096	0.036		0.024	0.022	0.023	0.024	0.023	0.022	0.025	0.025
17 <i>R.vespertina</i> Loj	0.141	0.166	0.166	0.170	0.157	0.158	0.156	0.168	0.165	0.159	0.159	0.152	0.166	0.159	0.156	0.159		0.014	0.017	0.017	0.014	0.016	0.017	0.010
18 <i>R.vespertina</i> Az	0.151	0.139	0.158	0.167	0.156	0.147	0.159	0.158	0.159	0.148	0.144	0.137	0.154	0.146	0.139	0.147	0.076		0.017	0.017	0.016	0.015	0.019	0.013
19 <i>R.oculata</i> Cot	0.154	0.172	0.187	0.187	0.176	0.177	0.175	0.185	0.178	0.163	0.165	0.151	0.165	0.144	0.158	0.161	0.088	0.096		0.008	0.014	0.013	0.019	0.017
20 <i>R.oculata</i> Pch	0.169	0.185	0.196	0.192	0.181	0.194	0.192	0.205	0.202	0.176	0.174	0.156	0.174	0.158	0.166	0.163	0.090	0.094	0.029		0.015	0.013	0.019	0.017
21 <i>R.crypta</i> Cot	0.128	0.156	0.174	0.172	0.156	0.161	0.163	0.161	0.165	0.149	0.152	0.133	0.153	0.132	0.152	0.156	0.075	0.095	0.071	0.075		0.010	0.017	0.016
22 <i>R. crypta</i> Pch	0.141	0.156	0.170	0.166	0.152	0.165	0.166	0.165	0.170	0.155	0.156	0.132	0.156	0.137	0.152	0.152	0.090	0.091	0.064	0.068	0.042		0.017	0.017
23 <i>R.vieta</i>	0.155	0.163	0.174	0.174	0.163	0.165	0.159	0.179	0.166	0.171	0.177	0.156	0.166	0.151	0.181	0.185	0.096	0.127	0.109	0.115	0.100	0.096		0.017
24 <i>R. vespertina</i> EIO	0.144	0.152	0.156	0.159	0.157	0.154	0.156	0.175	0.169	0.149	0.149	0.135	0.156	0.152	0.166	0.174	0.044	0.064	0.094	0.093	0.087	0.099	0.102	

**Tabla 14.** Distancias genéticas interespecíficas no corregidas del gen12S calculadas en MEGA 5. En la primera columna se indican los números que corresponden a las especies de la segunda columna. En la primera fila se muestran los números que corresponden a las especies de la segunda columna. Bajo la diagonal se muestra el valor de la distancia y sobre la diagonal el error estándar.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
1 <i>R. raneyi</i>		0.012	0.011	0.011	0.011	0.010	0.011	0.011	0.011	0.009	0.011	0.012	0.012	0.011	0.014	0.014	0.016	0.015	0.017	0.017	0.015	0.016	0.016	0.016
2 <i>R. labionis</i>	0.073		0.011	0.012	0.011	0.009	0.011	0.010	0.010	0.012	0.013	0.012	0.013	0.012	0.014	0.015	0.017	0.016	0.017	0.017	0.016	0.016	0.017	0.017
3 <i>R. unicolor</i> Pch	0.061	0.060		0.008	0.007	0.010	0.011	0.012	0.011	0.012	0.012	0.013	0.014	0.012	0.015	0.016	0.017	0.016	0.018	0.018	0.017	0.017	0.017	0.017
4 <i>R. unicolor</i> Cot	0.069	0.068	0.029		0.008	0.010	0.012	0.012	0.012	0.012	0.013	0.013	0.014	0.013	0.015	0.016	0.018	0.016	0.018	0.019	0.017	0.017	0.017	0.017
5 <i>R. unicolor</i> VI	0.062	0.061	0.020	0.030		0.010	0.011	0.010	0.011	0.012	0.013	0.012	0.013	0.012	0.014	0.015	0.017	0.016	0.017	0.018	0.016	0.017	0.016	0.016
6 <i>R. cashcaensis</i>	0.052	0.035	0.043	0.056	0.049		0.010	0.009	0.008	0.011	0.012	0.012	0.013	0.012	0.014	0.015	0.016	0.016	0.017	0.018	0.016	0.016	0.016	0.017
7 <i>R. meleagris</i>	0.065	0.058	0.052	0.066	0.059	0.038		0.012	0.009	0.012	0.013	0.012	0.013	0.012	0.014	0.015	0.016	0.015	0.017	0.018	0.016	0.016	0.016	0.016
8 <i>R. sp1</i>	0.061	0.051	0.067	0.075	0.052	0.042	0.062		0.010	0.011	0.012	0.012	0.013	0.012	0.013	0.014	0.017	0.017	0.018	0.018	0.017	0.017	0.017	0.018
9 <i>R. stigmatoral</i>	0.070	0.051	0.058	0.073	0.067	0.038	0.043	0.052		0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	0.014	0.016	0.016	0.017	0.018	0.016	0.017	0.017	0.017
10 <i>R. colomarovani</i>	0.048	0.080	0.081	0.086	0.075	0.074	0.077	0.065	0.087		0.006	0.013	0.012	0.011	0.014	0.013	0.016	0.015	0.016	0.017	0.015	0.016	0.016	0.016
11 <i>R. simotera</i>	0.055	0.081	0.076	0.089	0.074	0.075	0.079	0.067	0.085	0.025		0.014	0.014	0.012	0.015	0.014	0.016	0.015	0.017	0.017	0.016	0.016	0.017	0.016
12 <i>R. anatoloros</i> ZCh	0.063	0.066	0.074	0.082	0.069	0.067	0.069	0.075	0.083	0.077	0.077		0.010	0.012	0.015	0.015	0.016	0.016	0.017	0.017	0.015	0.016	0.017	0.016
13 <i>R. anatoloros</i> Ptz	0.065	0.077	0.093	0.098	0.089	0.078	0.077	0.076	0.085	0.073	0.080	0.042		0.011	0.015	0.015	0.017	0.016	0.016	0.017	0.016	0.016	0.017	0.017
14 <i>R. anatoloros</i> Nap	0.060	0.078	0.080	0.091	0.075	0.079	0.072	0.081	0.085	0.062	0.071	0.058	0.057		0.013	0.013	0.016	0.015	0.017	0.017	0.015	0.016	0.016	0.017
15 <i>R. orcesi</i>	0.101	0.108	0.105	0.121	0.101	0.101	0.105	0.096	0.098	0.104	0.100	0.106	0.109	0.095		0.009	0.017	0.016	0.017	0.018	0.017	0.017	0.018	0.017
16 <i>R. balneator</i>	0.109	0.121	0.123	0.129	0.110	0.119	0.123	0.109	0.117	0.100	0.102	0.114	0.106	0.092	0.037		0.017	0.016	0.017	0.017	0.017	0.017	0.017	0.017
17 <i>R. vespertina</i> Loj	0.126	0.142	0.142	0.144	0.135	0.135	0.134	0.143	0.140	0.139	0.136	0.132	0.146	0.139	0.139	0.144		0.012	0.014	0.014	0.014	0.015	0.014	0.010
18 <i>R. vespertina</i> Az	0.133	0.121	0.135	0.142	0.134	0.127	0.136	0.135	0.136	0.130	0.125	0.120	0.137	0.129	0.126	0.135	0.070		0.014	0.014	0.014	0.014	0.015	0.011
19 <i>R. oculata</i> Cot	0.146	0.156	0.167	0.167	0.159	0.160	0.159	0.165	0.161	0.151	0.151	0.134	0.145	0.138	0.143	0.148	0.091	0.097		0.008	0.012	0.011	0.015	0.014
20 <i>R. oculata</i> Pch	0.157	0.165	0.173	0.171	0.163	0.172	0.171	0.180	0.178	0.161	0.157	0.138	0.151	0.148	0.150	0.150	0.092	0.096	0.028		0.013	0.012	0.016	0.015
21 <i>R. crypta</i> Cot	0.122	0.142	0.155	0.154	0.142	0.146	0.147	0.146	0.148	0.137	0.139	0.123	0.136	0.124	0.142	0.144	0.077	0.094	0.076	0.080		0.010	0.014	0.013
22 <i>R. crypta</i> Pch	0.136	0.147	0.157	0.155	0.144	0.154	0.155	0.154	0.157	0.147	0.147	0.122	0.138	0.133	0.144	0.144	0.094	0.096	0.064	0.068	0.045		0.014	0.014
23 <i>R. vieta</i>	0.137	0.142	0.150	0.150	0.143	0.144	0.140	0.154	0.144	0.149	0.153	0.138	0.144	0.133	0.155	0.158	0.090	0.115	0.105	0.111	0.096	0.097		0.015
24 <i>R. vespertina</i> EIO	0.129	0.131	0.134	0.136	0.135	0.133	0.134	0.148	0.144	0.131	0.129	0.119	0.138	0.134	0.147	0.155	0.042	0.059	0.096	0.094	0.087	0.102	0.095	

**Tabla 15.** Distancias genéticas interespecíficas corregidas del gen ND4 calculadas en MEGA 5. En la primera columna se indican los números que corresponden a las especies de la segunda columna. En la primera fila se muestran los números que corresponden a las especies de la segunda columna. Bajo la diagonal se muestra el valor de la distancia y sobre la diagonal el error estándar.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
1 <i>R. vespertina</i> Loj		0.025	0.023	0.032	0.032	0.034	0.032	0.029	0.036	0.032	0.035	0.032	0.032	0.031	0.032	0.032	0.030	0.032	0.032	0.032	0.032	0.031	0.034	0.034
2 <i>R. vespertina</i> Az	0.192		0.020	0.026	0.029	0.030	0.029	0.027	0.031	0.029	0.031	0.028	0.032	0.030	0.032	0.030	0.031	0.031	0.031	0.032	0.028	0.031	0.031	0.033
3 <i>R. vespertina</i>	0.179	0.157		0.029	0.030	0.032	0.030	0.033	0.036	0.035	0.035	0.032	0.033	0.032	0.032	0.031	0.029	0.034	0.036	0.037	0.034	0.037	0.033	0.036
4 <i>R. crypta</i> Cot	0.274	0.222	0.254		0.021	0.028	0.028	0.030	0.035	0.031	0.031	0.031	0.032	0.032	0.034	0.036	0.030	0.029	0.031	0.035	0.033	0.034	0.030	0.030
5 <i>R. crypta</i> Pch	0.270	0.242	0.264	0.153		0.026	0.027	0.027	0.029	0.030	0.032	0.032	0.027	0.029	0.034	0.029	0.026	0.029	0.030	0.028	0.032	0.031	0.028	0.028
6 <i>R. oculata</i> Pch	0.295	0.255	0.284	0.237	0.205		0.016	0.028	0.031	0.030	0.031	0.030	0.033	0.034	0.031	0.034	0.032	0.035	0.028	0.029	0.030	0.031	0.031	0.031
7 <i>R. oculata</i> Cot	0.282	0.253	0.266	0.240	0.221	0.098		0.029	0.036	0.033	0.032	0.031	0.036	0.035	0.034	0.033	0.030	0.030	0.029	0.031	0.030	0.036	0.031	0.031
8 <i>R. vieta</i>	0.250	0.234	0.287	0.275	0.244	0.248	0.262		0.035	0.032	0.032	0.030	0.033	0.032	0.033	0.031	0.028	0.030	0.030	0.033	0.030	0.028	0.029	0.032
9 <i>R. labionis</i>	0.344	0.279	0.326	0.326	0.274	0.284	0.322	0.298		0.020	0.022	0.021	0.017	0.017	0.020	0.017	0.020	0.022	0.023	0.021	0.027	0.023	0.031	0.031
10 <i>R. unicolor</i> Cot	0.300	0.260	0.313	0.276	0.273	0.279	0.301	0.273	0.128		0.014	0.014	0.017	0.018	0.019	0.023	0.017	0.018	0.020	0.021	0.023	0.024	0.026	0.026
11 <i>R. unicolor</i> Pch	0.323	0.278	0.320	0.293	0.283	0.282	0.295	0.271	0.146	0.078		0.011	0.016	0.016	0.019	0.022	0.021	0.022	0.020	0.019	0.022	0.024	0.026	0.028
12 <i>R. unicolor</i> VI	0.305	0.264	0.312	0.295	0.295	0.279	0.292	0.263	0.149	0.082	0.062		0.018	0.016	0.021	0.020	0.022	0.024	0.019	0.021	0.019	0.024	0.026	0.027
13 <i>R. stigmatoral</i>	0.327	0.309	0.321	0.309	0.256	0.312	0.333	0.286	0.122	0.114	0.120	0.140		0.014	0.014	0.018	0.018	0.020	0.021	0.020	0.024	0.025	0.026	0.027
14 <i>R. cashcaensis</i>	0.304	0.278	0.296	0.290	0.261	0.314	0.320	0.285	0.114	0.113	0.107	0.113	0.093		0.017	0.019	0.020	0.022	0.021	0.024	0.023	0.025	0.028	0.027
15 <i>R. meleagris</i>	0.316	0.307	0.307	0.339	0.314	0.297	0.326	0.281	0.141	0.132	0.139	0.154	0.106	0.117		0.021	0.019	0.022	0.022	0.024	0.026	0.028	0.028	0.031
16 <i>R. sp1</i>	0.313	0.294	0.296	0.319	0.255	0.319	0.307	0.267	0.110	0.162	0.157	0.153	0.128	0.124	0.152		0.022	0.025	0.021	0.025	0.025	0.025	0.030	0.031
17 <i>R. colomaromani</i>	0.305	0.289	0.294	0.287	0.253	0.300	0.296	0.263	0.161	0.135	0.167	0.177	0.148	0.161	0.163	0.181		0.009	0.017	0.021	0.021	0.021	0.023	0.026
18 <i>R. simotera</i>	0.299	0.271	0.311	0.258	0.251	0.299	0.276	0.263	0.163	0.124	0.160	0.175	0.151	0.158	0.175	0.182	0.058		0.019	0.021	0.020	0.023	0.025	0.028
19 <i>R. raneyi</i>	0.316	0.290	0.338	0.297	0.276	0.266	0.284	0.284	0.175	0.144	0.142	0.146	0.168	0.161	0.175	0.169	0.136	0.137		0.020	0.018	0.022	0.028	0.028
20 <i>R. anatoloros</i> Nap	0.311	0.303	0.340	0.325	0.266	0.265	0.293	0.312	0.178	0.164	0.162	0.174	0.181	0.198	0.212	0.202	0.170	0.158	0.157		0.020	0.022	0.027	0.029
21 <i>R. anatoloros</i> Ptz	0.293	0.263	0.312	0.309	0.295	0.269	0.269	0.264	0.202	0.172	0.164	0.150	0.200	0.180	0.209	0.206	0.167	0.151	0.136	0.155		0.020	0.029	0.029
22 <i>R. anatoloros</i> ZCh	0.287	0.278	0.344	0.314	0.282	0.297	0.331	0.268	0.190	0.189	0.183	0.189	0.207	0.204	0.226	0.201	0.172	0.175	0.168	0.187	0.146		0.027	0.026
23 <i>R. orcesi</i>	0.317	0.293	0.314	0.283	0.263	0.270	0.275	0.282	0.257	0.217	0.216	0.226	0.229	0.229	0.239	0.254	0.214	0.213	0.258	0.248	0.240	0.256		0.019
24 <i>R. balneator</i>	0.318	0.308	0.325	0.281	0.248	0.267	0.281	0.315	0.257	0.219	0.235	0.220	0.229	0.225	0.247	0.263	0.229	0.237	0.236	0.264	0.241	0.244	0.133	

**Tabla 16.** Distancias genéticas interespecíficas no corregidas del gen ND4 calculadas en MEGA 5. En la primera columna se indican los números que corresponden a las especies de la segunda columna. En la primera fila se muestran los números que corresponden a las especies de la segunda columna. Bajo la diagonal se muestra el valor de la distancia y sobre la diagonal el error estándar.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	
1	<i>R. vespertina</i> Loj		0.014	0.014	0.016	0.017	0.018	0.017	0.016	0.018	0.017	0.018	0.017	0.018	0.018	0.018	0.018	0.018	0.017	0.018	0.017	0.017	0.018	0.018	
2	<i>R. vespertina</i> Az	0.165		0.014	0.016	0.016	0.016	0.016	0.017	0.016	0.017	0.016	0.017	0.017	0.017	0.017	0.016	0.017	0.016	0.017	0.016	0.016	0.017	0.016	
3	<i>R. vespertina</i> ElO	0.146	0.143		0.016	0.017	0.017	0.016	0.017	0.017	0.017	0.017	0.017	0.017	0.017	0.017	0.016	0.017	0.017	0.017	0.017	0.017	0.017	0.017	
4	<i>R. crypta</i> Cot	0.206	0.190	0.205		0.013	0.016	0.016	0.016	0.018	0.017	0.018	0.017	0.018	0.018	0.018	0.017	0.017	0.017	0.017	0.017	0.017	0.017	0.016	
5	<i>R. crypta</i> Pch	0.204	0.193	0.199	0.130		0.016	0.015	0.016	0.018	0.018	0.018	0.017	0.018	0.018	0.017	0.016	0.017	0.017	0.016	0.017	0.017	0.017	0.017	
6	<i>R. oculata</i> Pch	0.222	0.191	0.207	0.186	0.164		0.011	0.017	0.017	0.018	0.018	0.017	0.018	0.018	0.018	0.017	0.018	0.017	0.017	0.018	0.018	0.016	0.017	
7	<i>R. oculata</i> Cot	0.208	0.188	0.197	0.184	0.174	0.086		0.017	0.017	0.018	0.018	0.017	0.018	0.018	0.017	0.017	0.017	0.017	0.018	0.017	0.018	0.017	0.016	
8	<i>R. vieta</i>	0.210	0.196	0.220	0.207	0.204	0.204	0.210		0.017	0.017	0.016	0.016	0.017	0.017	0.018	0.017	0.016	0.017	0.017	0.018	0.017	0.017	0.016	
9	<i>R. labionis</i>	0.258	0.229	0.250	0.245	0.223	0.231	0.238	0.231		0.013	0.014	0.013	0.012	0.012	0.013	0.013	0.013	0.014	0.014	0.015	0.015	0.015	0.016	0.016
10	<i>R. unicolor</i> Cot	0.235	0.220	0.241	0.226	0.224	0.234	0.231	0.224	0.120		0.011	0.010	0.011	0.012	0.013	0.013	0.012	0.013	0.013	0.014	0.014	0.015	0.016	0.016
11	<i>R. unicolor</i> Pch	0.247	0.222	0.246	0.238	0.233	0.230	0.227	0.217	0.135	0.082		0.010	0.012	0.013	0.014	0.014	0.013	0.015	0.013	0.014	0.015	0.015	0.015	0.016
12	<i>R. unicolor</i> VI	0.245	0.221	0.243	0.240	0.242	0.238	0.229	0.218	0.133	0.082	0.072		0.012	0.012	0.014	0.013	0.013	0.014	0.013	0.014	0.013	0.015	0.015	0.015
13	<i>R. stigmatoral</i>	0.258	0.245	0.252	0.244	0.223	0.247	0.242	0.228	0.112	0.108	0.123	0.127		0.011	0.012	0.012	0.013	0.014	0.014	0.015	0.015	0.016	0.015	0.015
14	<i>R. cashcaensis</i>	0.248	0.222	0.235	0.235	0.224	0.248	0.239	0.234	0.102	0.107	0.114	0.102	0.097		0.013	0.013	0.014	0.014	0.014	0.015	0.015	0.016	0.016	0.015
15	<i>R. meleagris</i>	0.246	0.243	0.242	0.254	0.245	0.245	0.246	0.229	0.116	0.117	0.127	0.133	0.105	0.106		0.013	0.014	0.015	0.014	0.016	0.015	0.017	0.016	0.016
16	<i>R. sp1</i>	0.252	0.238	0.233	0.239	0.218	0.246	0.237	0.215	0.108	0.139	0.151	0.144	0.122	0.116	0.127		0.013	0.014	0.014	0.015	0.015	0.015	0.016	0.016
17	<i>R. colomaromani</i>	0.240	0.227	0.227	0.230	0.214	0.237	0.228	0.222	0.144	0.122	0.146	0.147	0.141	0.139	0.143	0.146		0.007	0.011	0.012	0.013	0.013	0.015	0.016
18	<i>R. simotera</i>	0.235	0.219	0.230	0.216	0.208	0.234	0.214	0.220	0.134	0.111	0.141	0.143	0.133	0.132	0.142	0.142	0.055		0.012	0.013	0.013	0.014	0.016	0.016
19	<i>R. raneyi</i>	0.253	0.232	0.256	0.236	0.226	0.229	0.231	0.233	0.151	0.134	0.129	0.138	0.152	0.150	0.154	0.144	0.122	0.115		0.013	0.012	0.013	0.016	0.016
20	<i>R. anatoloros</i> Nap	0.248	0.239	0.251	0.245	0.222	0.226	0.237	0.250	0.159	0.145	0.150	0.159	0.172	0.168	0.179	0.173	0.148	0.140	0.143		0.014	0.014	0.016	0.016
21	<i>R. anatoloros</i> Ptz	0.233	0.216	0.239	0.234	0.230	0.225	0.216	0.223	0.165	0.156	0.156	0.147	0.177	0.158	0.174	0.167	0.143	0.135	0.120	0.145		0.013	0.016	0.016
22	<i>R. anatoloros</i> ZCh	0.234	0.225	0.255	0.235	0.223	0.239	0.245	0.226	0.161	0.163	0.159	0.165	0.179	0.171	0.176	0.164	0.141	0.138	0.135	0.155	0.122		0.017	0.016
23	<i>R. orcesi</i>	0.247	0.225	0.237	0.219	0.213	0.219	0.219	0.216	0.197	0.183	0.179	0.179	0.189	0.180	0.189	0.197	0.176	0.177	0.201	0.204	0.190	0.200		0.012
24	<i>R. balneator</i>	0.249	0.229	0.236	0.215	0.204	0.209	0.214	0.234	0.191	0.193	0.199	0.187	0.193	0.181	0.190	0.196	0.187	0.187	0.194	0.201	0.191	0.193	0.117	

**Tabla 17.** Distancias interespecíficas genéticas corregidas del gen CMOS calculadas en MEGA 5. En la primera columna se indican los números que corresponden a las especies de la segunda columna. En la primera fila se muestran los números que corresponden a las especies de la segunda columna. Bajo la diagonal se muestra el valor de la distancia y sobre la diagonal el error estándar.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
1 <i>R.meleagris</i>		0.006	0.004	0.004	0.003	0.003	0.004	0.005	0.006	0.004	0.005	0.006	0.006	0.009	0.009	0.010	0.010	0.010	0.009	0.009	0.009	0.010	0.011
2 <i>R.unicolor</i> Pch	0.011		0.004	0.004	0.005	0.005	0.006	0.006	0.007	0.006	0.006	0.008	0.007	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	0.009	0.010	0.010	0.011
3 <i>R.unicolor</i> Cot	0.006	0.006		0.000	0.003	0.003	0.004	0.005	0.006	0.004	0.005	0.006	0.006	0.009	0.009	0.009	0.010	0.010	0.009	0.008	0.009	0.010	0.011
4 <i>R.unicolor</i> VI	0.006	0.006	0.000		0.003	0.003	0.004	0.005	0.006	0.004	0.005	0.006	0.006	0.009	0.009	0.009	0.010	0.010	0.009	0.008	0.009	0.010	0.011
5 <i>R.labionis</i>	0.003	0.009	0.003	0.003		0.001	0.003	0.004	0.005	0.003	0.004	0.005	0.006	0.008	0.008	0.009	0.010	0.009	0.009	0.008	0.009	0.010	0.010
6 <i>R.stigmatoral</i>	0.004	0.009	0.004	0.004	0.001		0.003	0.004	0.005	0.003	0.004	0.006	0.006	0.008	0.008	0.009	0.010	0.009	0.009	0.008	0.009	0.010	0.010
7 <i>R.cashcaensis</i>	0.006	0.011	0.006	0.006	0.003	0.004		0.005	0.006	0.004	0.005	0.006	0.006	0.009	0.009	0.009	0.010	0.010	0.009	0.009	0.009	0.010	0.011
8 <i>R.colomaromani</i>	0.009	0.014	0.009	0.009	0.006	0.006	0.009		0.003	0.005	0.000	0.004	0.004	0.007	0.008	0.008	0.009	0.008	0.008	0.007	0.008	0.009	0.010
9 <i>R.anatoloros</i> Nap	0.011	0.017	0.011	0.011	0.009	0.009	0.011	0.003		0.006	0.003	0.003	0.003	0.008	0.008	0.009	0.010	0.009	0.009	0.008	0.009	0.009	0.010
10 <i>R.sp1</i>	0.006	0.011	0.006	0.006	0.003	0.004	0.006	0.009	0.011		0.005	0.006	0.006	0.009	0.009	0.009	0.010	0.010	0.009	0.009	0.009	0.010	0.011
11 <i>R.simotera</i>	0.009	0.014	0.009	0.009	0.006	0.006	0.009	0.000	0.003	0.009		0.004	0.004	0.007	0.008	0.008	0.009	0.008	0.008	0.007	0.008	0.009	0.010
12 <i>R.anatoloros</i> Ptz	0.014	0.020	0.014	0.014	0.011	0.012	0.014	0.006	0.003	0.014	0.006		0.004	0.008	0.009	0.008	0.009	0.009	0.008	0.008	0.008	0.009	0.010
13 <i>R.anatoloros</i> ZCh	0.014	0.020	0.014	0.014	0.011	0.012	0.014	0.006	0.003	0.014	0.006	0.006		0.008	0.008	0.009	0.010	0.009	0.009	0.009	0.009	0.010	0.010
14 <i>R.orcesi</i>	0.029	0.035	0.029	0.029	0.026	0.027	0.029	0.020	0.023	0.029	0.020	0.026	0.026		0.004	0.010	0.011	0.010	0.009	0.009	0.009	0.011	0.011
15 <i>R.balneator</i>	0.029	0.035	0.029	0.029	0.026	0.027	0.029	0.020	0.023	0.029	0.020	0.026	0.026	0.006		0.010	0.010	0.010	0.009	0.009	0.009	0.011	0.011
16 <i>R.crypta</i> Cot	0.032	0.038	0.032	0.032	0.029	0.030	0.032	0.023	0.026	0.032	0.023	0.023	0.029	0.032	0.032		0.007	0.006	0.006	0.005	0.006	0.007	0.009
17 <i>R.vespertina</i> Loj	0.038	0.038	0.038	0.038	0.035	0.036	0.038	0.029	0.032	0.038	0.029	0.029	0.035	0.038	0.038	0.017		0.005	0.006	0.006	0.006	0.006	0.009
18 <i>R.vespertina</i> EIO	0.035	0.035	0.035	0.035	0.032	0.033	0.035	0.026	0.029	0.035	0.026	0.026	0.032	0.035	0.035	0.014	0.009		0.006	0.005	0.006	0.005	0.008
19 <i>R.oculata</i> Cot	0.032	0.038	0.032	0.032	0.029	0.030	0.032	0.023	0.026	0.032	0.023	0.023	0.029	0.032	0.032	0.011	0.017	0.014		0.005	0.000	0.007	0.008
20 <i>R.crypta</i> Pch	0.029	0.029	0.023	0.023	0.026	0.027	0.029	0.020	0.023	0.029	0.020	0.020	0.026	0.029	0.029	0.009	0.014	0.011	0.009		0.005	0.006	0.008
21 <i>R.oculata</i> Pch	0.032	0.038	0.032	0.032	0.029	0.030	0.032	0.023	0.026	0.032	0.023	0.023	0.029	0.032	0.032	0.011	0.017	0.014	0.000	0.009		0.007	0.008
22 <i>R.vespertina</i> Az	0.039	0.039	0.039	0.039	0.036	0.037	0.039	0.030	0.033	0.039	0.030	0.030	0.036	0.040	0.040	0.019	0.013	0.010	0.019	0.016	0.019		0.008
23 <i>R.vieta</i>	0.044	0.050	0.044	0.044	0.041	0.041	0.044	0.035	0.038	0.044	0.035	0.035	0.041	0.044	0.044	0.029	0.029	0.026	0.029	0.026	0.029	0.028	

**Tabla 18.** Distancias genéticas interespecíficas no corregidas del gen CMOS calculadas en MEGA 5. En la primera columna se indican los números que corresponden a las especies de la segunda columna. En la primera fila se muestran los números que corresponden a las especies de la segunda columna. Bajo la diagonal se muestra el valor de la distancia y sobre la diagonal el error estándar.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
1 <i>R. meleagris</i>		0.005	0.004	0.004	0.002	0.003	0.004	0.004	0.005	0.004	0.004	0.005	0.006	0.008	0.008	0.008	0.009	0.008	0.008	0.008	0.008	0.009	0.010
2 <i>R. unicolor</i> Pch	0.011		0.004	0.004	0.005	0.005	0.005	0.006	0.006	0.005	0.006	0.007	0.007	0.009	0.009	0.009	0.009	0.008	0.009	0.008	0.009	0.009	0.010
3 <i>R. unicolor</i> Cot	0.005	0.005		0.000	0.003	0.003	0.004	0.005	0.005	0.004	0.005	0.006	0.006	0.008	0.008	0.008	0.009	0.008	0.008	0.007	0.008	0.009	0.010
4 <i>R. unicolor</i> VI	0.005	0.005	0.000		0.003	0.003	0.004	0.005	0.005	0.004	0.005	0.006	0.006	0.008	0.008	0.008	0.009	0.008	0.008	0.007	0.008	0.009	0.010
5 <i>R. labionis</i>	0.003	0.008	0.003	0.003		0.001	0.003	0.004	0.005	0.003	0.004	0.005	0.005	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.007	0.008	0.008	0.009
6 <i>R. stigmatoral</i>	0.003	0.009	0.003	0.003	0.001		0.003	0.004	0.005	0.003	0.004	0.005	0.005	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.007	0.008	0.009	0.009
7 <i>R. cashcaensis</i>	0.005	0.011	0.005	0.005	0.003	0.003		0.005	0.006	0.004	0.005	0.006	0.006	0.008	0.008	0.008	0.009	0.008	0.008	0.008	0.008	0.009	0.010
8 <i>R. colomaromani</i>	0.008	0.013	0.008	0.008	0.005	0.006	0.008		0.003	0.005	0.000	0.004	0.004	0.007	0.007	0.007	0.008	0.007	0.007	0.006	0.007	0.008	0.009
9 <i>R. anatoloros</i> Nap	0.011	0.016	0.011	0.011	0.008	0.009	0.011	0.003		0.005	0.003	0.002	0.003	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.007	0.008	0.008	0.009
10 <i>R. spl</i>	0.005	0.011	0.005	0.005	0.003	0.003	0.005	0.008	0.011		0.005	0.006	0.006	0.008	0.008	0.008	0.009	0.008	0.008	0.008	0.009	0.009	0.010
11 <i>R. simotera</i>	0.008	0.013	0.008	0.008	0.005	0.006	0.008	0.000	0.003	0.008		0.004	0.004	0.007	0.007	0.007	0.008	0.007	0.007	0.006	0.007	0.008	0.009
12 <i>R. anatoloros</i> Ptz	0.013	0.019	0.013	0.013	0.011	0.011	0.013	0.005	0.003	0.013	0.005		0.003	0.008	0.008	0.007	0.008	0.007	0.007	0.006	0.007	0.008	0.009
13 <i>R. anatoloros</i> ZCh	0.013	0.019	0.013	0.013	0.011	0.011	0.013	0.005	0.003	0.013	0.005	0.005		0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.007	0.008	0.008	0.009
14 <i>R. orcesi</i>	0.027	0.032	0.027	0.027	0.024	0.025	0.027	0.019	0.022	0.027	0.019	0.024	0.024		0.004	0.009	0.009	0.008	0.008	0.008	0.008	0.009	0.010
15 <i>R. balneator</i>	0.027	0.032	0.027	0.027	0.024	0.025	0.027	0.019	0.022	0.027	0.019	0.024	0.024	0.005		0.009	0.009	0.009	0.008	0.008	0.008	0.009	0.010
16 <i>R. crypta</i> Cot	0.029	0.034	0.029	0.029	0.027	0.027	0.029	0.021	0.025	0.029	0.021	0.021	0.027	0.029	0.029		0.006	0.006	0.005	0.005	0.005	0.006	0.008
17 <i>R. vespertina</i> Loj	0.034	0.034	0.035	0.034	0.032	0.032	0.034	0.027	0.030	0.034	0.027	0.027	0.032	0.034	0.034	0.016		0.004	0.006	0.006	0.006	0.005	0.008
18 <i>R. vespertina</i> EIO	0.032	0.032	0.032	0.032	0.029	0.030	0.032	0.024	0.027	0.032	0.024	0.024	0.029	0.032	0.032	0.013	0.008		0.005	0.005	0.006	0.005	0.008
19 <i>R. oculata</i> Cot	0.029	0.034	0.029	0.029	0.027	0.027	0.029	0.021	0.025	0.029	0.021	0.021	0.027	0.029	0.029	0.011	0.016	0.013		0.005	0.000	0.006	0.008
20 <i>R. crypta</i> Pch	0.027	0.027	0.021	0.021	0.024	0.025	0.027	0.019	0.022	0.027	0.019	0.019	0.024	0.027	0.027	0.008	0.013	0.011	0.008		0.005	0.006	0.008
21 <i>R. oculata</i> Pch	0.029	0.035	0.029	0.029	0.027	0.027	0.029	0.021	0.025	0.029	0.021	0.021	0.027	0.029	0.029	0.011	0.016	0.013	0.000	0.008		0.006	0.008
22 <i>R. vespertina</i> Az	0.036	0.036	0.036	0.036	0.033	0.034	0.036	0.028	0.031	0.036	0.028	0.028	0.033	0.036	0.036	0.017	0.012	0.009	0.017	0.015	0.017		0.008
23 <i>R. vieta</i>	0.042	0.048	0.043	0.042	0.040	0.040	0.042	0.034	0.038	0.042	0.034	0.034	0.040	0.042	0.042	0.029	0.029	0.027	0.029	0.027	0.028	0.028	

**Tabla 19.** Categorías de Riesgo de Extinción y Probabilidades de Extinción de *Riama* de Ecuador. En la primera columna se muestran las especies de algunas especies o posibles especies candidatas, segunda columna se indican las categorías de riesgo de extinción, en la tercera columna la probabilidad de extinción calculada en base al método Pesimista, en la cuarta columna los criterios utilizados para categorizar a las especies y en la quinta columna se describen las observaciones de la categorización o la cita de donde se obtuvo la información. EOO = extensión de la ocurrencia, AOO = Área de ocupación. Los números después de la especie indica la localidad de la posible especie candidata, en *R. anatoloros*, 1 = Napo, 2 = Pastaza, 3 = Zamora Chinchipe; en *R. crypta*, 1 = Cotopaxi, 2 = Pichincha; en *R. oculata*, 1 = Cotopaxi, 2 = Pichincha; en *R. unicolor*, 1 = Pichincha, 2 = Cotopaxi, 3 = valles interandinos; en *R. vespertina*, 1 = Loja, 2 = Azuay, 3 = El Oro.

Espece/P.E.C.	Categoría	P. extinción	Criterios	Observaciones/Cita
<i>R. anatoloros</i> 1	EN	0.9		Al no tener los valores de EOO y AOO se infirió en base al estado del hábitat de las localidades de registro.
<i>R. anatoloros</i> 2	EN	0.9		Al no tener los valores de EOO y AOO se infirió en base al estado del hábitat de las localidades de registro.
<i>R. anatolotos</i> 3	VU	0.8	B2 ab(iii)	
<i>R. balneator</i>	EN	0.9	B2ab(iii)	Según Carrillo <i>et al.</i> (2005)
<i>R. cashcaensis</i>	VU	0.8	B1ab(iii)	Según Carrillo <i>et al.</i> (2005)
<i>R. colomaromani</i>	EN	0.9	B1ab(iii)	Según Carrillo <i>et al.</i> (2005)
<i>R. crypta</i> 1	EN	0.9	B1 ab(iii)+2ab(iii)	
<i>R. crypta</i> 2	EN	0.99		Al no tener los valores de EOO y AOO se infirió en base al estado del hábitat de las localidades de registro.
<i>R. labionis</i>	EN	0.9	B2ab(iii)	Según Carrillo <i>et al.</i> (2005)
<i>R. meleagris</i>	EN	0.9	B2ab(iii)	Según Carrillo <i>et al.</i> (2005)
<i>R. oculata</i> 1	VU	0.99		Al no tener los valores de EOO y AOO se infirió en base al estado del hábitat de las localidades de registro.
<i>R. oculata</i> 2	VU	0.99		Al no tener los valores de EOO y AOO se infirió en base al estado del hábitat de las localidades de registro.

**Tabla 19.** CONTINUACIÓN.

Especie/P.E.C.	Categoría	P. extinción	Criterios	Observaciones/Cita
<i>R. orcesi</i>	EN	0.9	B1ab(iii)+D2	Según Carrillo <i>et al.</i> (2005)
<i>R. raneyi</i>	VU	0.8	B2ab(iii)+D2	Según Carrillo <i>et al.</i> (2005)
<i>R. simotera</i>	VU	0.8	B1ab(iii)	Según Carrillo <i>et al.</i> (2005)
<i>R. stigmatoral</i>	EN	0.9	B1ab(iii)	Según Carrillo <i>et al.</i> (2005)
<i>R. sp1</i>	CR	0.99		Al no tener el valor de la EOO y AOO por ausencia de datos de localidad, se utilizó información del estado del hábitat y cuantos individuos se han encontrado a pesar del esfuerzo de búsqueda.
<i>R. unicolor 1</i>	VU	0.8		Al no tener los valores de EOO y AOO se infirió en base al estado del hábitat de las localidades de registro.
<i>R. unicolor 2</i>	VU	0.8		Al no tener los valores de EOO y AOO se infirió en base al estado del hábitat y registros en la zona.
<i>R. unicolor 3</i>	EN	0.9	B1 bc(iii)+2 bc(iii)	
<i>R. vespertina 1</i>	EN	0.99	B1 ab(iii)+2ab(iii)	
<i>R. vespertina 2</i>	VU	0.8	B2 ab(iii)	
<i>R. vespertina 3</i>	EN	0.9	B1 ab(iii)+2ab(iii)	
<i>R. vieta</i>	CR	0.99	B2 ab(iii)	En base a los últimos registros de esta especie y al estado del hábitat donde se encuentra se la colocó en una categoría de amenaza.

**Tabla 20.** Medidas de Prioridades de Conservación, calculadas en el módulo de Tuatara del programa Mesquite. En la primera columna se encuentran los nombres de las especies ordenadas de mayor a menor en base al valor ED, en la segunda columna la distinción evolutiva (ED), en la tercera columna la distinción evolutiva ponderada por el riesgo de extinción actual (EDGE), en la cuarta la distinción evolutiva de los clados (EDc), en la quinta columna la distinción evolutiva de los clados ponderada por el riesgo de extinción (EDcGE), en la sexta columna las diferencias evolutivas esperadas de los clados (ExpEDcGE), en la séptima columna la longitud esperada de la rama terminal (HED) y en la octava la longitud esperada de la rama terminal ponderada por el riesgo actual de extinción (HEDGE). Los números después de la especie indica la localidad de la posible especie candidata, en *R. anatoloros*, 1 = Napo, 2 = Pastaza, 3 = Zamora Chinchipe; en *R. crypta*, 1 = Cotopaxi, 2 = Pichincha; en *R. oculata*, 1 = Cotopaxi, 2 = Pichincha; en *R. unicolor*, 1 = Pichincha, 2 = Cotopaxi, 3 = valles interandinos; en *R. vespertina*, 1 = Loja, 2 = Azuay, 3 = El Oro.

<b>Especie</b>	<b>ED</b>	<b>EDGE</b>	<b>EDc</b>	<b>EDcGE</b>	<b>Exp.EDcGE</b>	<b>HED</b>	<b>HEDGE</b>
<i>R. vieta</i>	0.28257281	0.27974709	0.32689435	0.32362541	0.36124171	0.32496863	0.32171894
<i>R. vespertina</i> 1	0.180215899	0.17841374	0.16406340	0.16242277	0.36966636	0.30939393	0.30629999
<i>R. vespertina</i> 3	0.15547316	0.13992585	0.13932067	0.125388599	0.32555462	0.30584219	0.27525797
<i>R. balneator</i>	0.14777333	0.13299600	0.18623663	0.16761297	0.28304041	0.20855203	0.18769683
<i>R. vespertina</i> 2	0.14425497	0.11540397	0.16884518	0.13507614	0.27055646	0.29204709	0.23363767
<i>R. crypta</i> 1	0.14346309	0.12911678	0.13646001	0.12281401	0.29123008	0.27754742	0.24979268
<i>R. orcesi</i>	0.13835373	0.12451835	0.17681702	0.15913532	0.27456276	0.19913242	0.17921918
<i>R. oculata</i> 2	0.12721855	0.12594636	0.12021547	0.11901331	0.32255778	0.27504015	0.27228975
<i>R. anatoloros</i> 3	0.12283949	0.098271595	0.11118778	0.08895023	0.23264795	0.18081099	0.14464879
<i>R. oculata</i> 1	0.12159531	0.12037936	0.11459224	0.11344631	0.31699078	0.26941692	0.26672275
<i>R. anatoloros</i> 2	0.12076806	0.10869126	0.10911635	0.09820472	0.24917474	0.16588655	0.14929789
<i>R. anatoloros</i> 1	0.11565426	0.10408883	0.12726892	0.11454203	0.22907471	0.14710026	0.13239023
<i>R. crypta</i> 2	0.11513826	0.11398688	0.10813519	0.10705384	0.28167801	0.23181787	0.22949969
<i>R. sp1</i>	0.10642922	0.10536493	0.08815948	0.08727789	0.24877024	0.14209709	0.14067612
<i>R. labionis</i>	0.09369778	0.084327998	0.07542804	0.06788523	0.22244571	0.13662429	0.12296186

**Tabla 20.** CONTINUACIÓN.

<b>Especie</b>	<b>ED</b>	<b>EDGE</b>	<b>EDc</b>	<b>EDcGE</b>	<b>Exp.EDcGE</b>	<b>HED</b>	<b>HEDGE</b>
<i>R. raneyi</i>	0.08772236	0.07017789	0.09508924	0.07607139	0.17575928	0.11437187	0.09149749
<i>R. meleagris</i>	0.08559556	0.07703600	0.06732582	0.06059324	0.21524269	0.12847665	0.11562899
<i>R. stigmatoral</i>	0.08413095	0.07571786	0.06586121	0.05927509	0.21392454	0.12701205	0.11431084
<i>R. unicolor 1</i>	0.07573374	0.06058699	0.06535683	0.05228546	0.18821577	0.12202594	0.09762075
<i>R. colomaronani</i>	0.071664896	0.06449841	0.06213708	0.05592337	0.19019664	0.10509043	0.09458139
<i>R. unicolor 3</i>	0.06691024	0.06021922	0.05653332	0.05087999	0.19430982	0.10352043	0.09316839
<i>R. unicolor 2</i>	0.06819832	0.05455866	0.08325973	0.06660779	0.17945812	0.11046601	0.08837280
<i>R. simotera</i>	0.06441417	0.05153134	0.05488635	0.04390908	0.17158349	0.10796091	0.08636872
<i>R. cashcaensis</i>	0.06129447	0.04903557	0.07792233	0.06233786	0.17271671	0.10325481	0.08260384

## 10. ANEXOS

**Anexo 1.** Lista de especímenes utilizados en el presente estudio.

<b>QCAZ</b>	<b>Especie</b>	<b>Provincia</b>	<b>Localidad</b>	<b>Altitud</b>	<b>GeoLatitud</b>	<b>GeoLongitud</b>
9201	<i>R. anatoros</i>	Napo	Santa Rosa, Reserva de Biósfera Sumaco	1321	-0.13404	-77.46709
9203	<i>R. anatoros</i>	Napo	Santa Rosa, Reserva de Biósfera Sumaco	1321	-0.13404	-77.46709
9957	<i>R. anatoros</i>	Pastaza	Comunidad Ingaru, Reserva Comunitaria Ankaku	1668	-1.26764	-78.04797
9987	<i>R. anatoros</i>	Pastaza	Comunidad San Rafael, Reserva comunitaria Ankaku	1668	-1.26764	-78.04797
9169	<i>R. anatoros</i>	Zamora Chinchipe	Las Orquídeas, Tepuy, 4 km desde el río Nangaritza	1247	-4.25428	-78.66903
11099	<i>R. balneator</i>	Tungurahua	San Antonio de Puntzan (montañas)	3071	-1.43619	-78.40828
11101	<i>R. balneator</i>	Tungurahua	San Antonio de Puntzan (montañas)	3036	-1.43706	-78.40133
10686	<i>R. cashcaensis</i>	Bolívar	Camino Guanujo - Salinas, La Moya	3273	-1.49601	-79.01630
10754	<i>R. cashcaensis</i>	Bolívar	Camino Guanujo - Salinas, La Moya	3273	-1.49601	-79.01630
4250	<i>R. colomaromani</i>	Carchi	Tulcán, 58km Oeste	2900	0.81200	-78.02100
8752	<i>R. colomaromani</i>	Carchi	El Goatal, Moran, Escuela de Moran	2825	0.77294	-78.05597
8753	<i>R. colomaromani</i>	Carchi	El Goatal, Moran, Escuela de Moran	2825	0.77294	-78.05597
9224	<i>R. colomaromani</i>	Imbabura	Intag, Santa Rosa, cerca a la Reserva Siempre Verde	2460	0.26667	-78.58333
10503	<i>R. colomaromani</i>	Pichincha	Calacalí, Cooperativa El Porvenir, finca El Cedral	2297	0.11400	-78.56993
11058	<i>R. colomaromani</i>	Cotopaxi	Sigchos		-0.70124	-78.88795
6397	<i>R. crypta</i>	Pichincha	La Victoria	2104	-0.47747	-79.05336
6154	<i>R. crypta</i>	Cotopaxi	Río Pilaló	2527	-0.94815	-78.98963
6155	<i>R. crypta</i>	Cotopaxi	Río Pilaló	2527	-0.94815	-78.98963
10455	<i>R. crypta</i>	Cotopaxi	Naranjito, Reserva de Bosque Integral Otonga (BIO)	1923	-0.41478	-79.00073
10411	<i>R. labionis</i>	Cotopaxi	Naranjito, Reserva de Bosque Integral Otonga (BIO)	1985	-0.41940	-79.00345
10412	<i>R. labionis</i>	Cotopaxi	Naranjito, Reserva de Bosque Integral Otonga (BIO)	1985	-0.41940	-79.00345
9840	<i>R. meleagris</i>	Tungurahua	Mucubí	2770	-1.43010	-78.52058

Anexo 1. CONTINUACIÓN

QCAZ	Especie	Provincia	Localidad	Altitud	GeoLatitud	GeoLongitud
9841	<i>R. meleagris</i>	Tungurahua	Mucubí	2770	-1.43010	-78.52058
9842	<i>R. meleagris</i>	Tungurahua	Cotaló, sendero a Comunidad Mucubí	2626	-1.42951	-78.51743
9845	<i>R. meleagris</i>	Tungurahua	El Triunfo, Zona El Calvario	2406	-1.31327	-78.40776
9846	<i>R. meleagris</i>	Tungurahua	El Triunfo, Zona El Calvario	2406	-1.31327	-78.40776
5474	<i>R. oculata</i>	Cotopaxi	Naranjito, Reserva de Bosque Integral Otonga (BIO)		-0.41478	-79.00073
10410	<i>R. oculata</i>	Cotopaxi	Naranjito, Reserva de Bosque Integral Otonga (BIO)	1985	-0.41940	-79.00345
10668	<i>R. oculata</i>	Pichincha	Nanegal, Reserva Comunitaria Santa Lucía	1735	0.11322	-78.61139
10676	<i>R. oculata</i>	Pichincha	Nanegal, Reserva Comunitaria Santa Lucía	1911	0.11928	-78.59647
9035	<i>R. orcesi</i>	Napo	Parque Nacional Sumaco	2479	-0.56964	-77.59412
9036	<i>R. orcesi</i>	Napo	Parque Nacional Sumaco	2479	-0.56964	-77.59412
10569	<i>R. orcesi</i>	Napo	Reserva Ecológica Antisana, Virgen de Guacamayos	2254	-0.62881	-77.84053
10570	<i>R. orcesi</i>	Napo	Reserva Ecológica Antisana, Virgen de Guacamayos	2254	-0.62881	-77.84053
9033	<i>R. raneyi</i>	Napo	Parque Nacional Sumaco	2479	-0.56964	-77.59412
9034	<i>R. raneyi</i>	Napo	Parque Nacional Sumaco	2479	-0.56964	-77.59412
10090	<i>R. raneyi</i>	Sucumbíos	Carretera que va del pueblo hacia el río de la frontera con Colombia	2555	0.65546	-77.51935
4120	<i>R. simotera</i>	Carchi	Reserva Ecológica El Ángel		0.73000	-77.94700
11019	<i>R. simotera</i>	Carchi	Comunidad El Frailejón	3313	0.71840	-77.67427
11020	<i>R. simotera</i>	Carchi	Comunidad El Frailejón	3313	0.71840	-77.67427
10822	<i>R. sp1</i>	Pichincha	Nanegal, Reserva Comunitaria Santa Lucía	1591	0.11778	-78.60756
10827	<i>R. sp1</i>	Pichincha	Nanegal, Reserva Comunitaria Santa Lucía	1591	0.11778	-78.60756
7374	<i>R. stigmatoral</i>	Cañar	Mazar, Reserva Mazar, La Libertad	2895	-2.54659	-78.69838
9946	<i>R. stigmatoral</i>	Cañar	Biblián, iglesia	2798	-2.71784	-78.88160

Anexo 1. CONTINUACIÓN

QCAZ	Especie	Provincia	Localidad	Altitud	GeoLatitud	GeoLongitud
11412	<i>R. stigmatoral</i>	Azuay	San Vicente, Camino vía a San Vicente en la cruz	2715	-2.80600	-78.68367
11415	<i>R. stigmatoral</i>	Azuay	San Vicente, Camino vía a San Vicente en la cruz	3044	-2.79531	-78.71478
5475	<i>R. unicolor</i>	Cotopaxi	Naranjito, Bosque Integral Otonga (BIO)		-0.41478	-79.00073
8405	<i>R. unicolor</i>	Imbabura	Intag	3279	0.31939	-78.39847
8407	<i>R. unicolor</i>	Imbabura	Intag	3311	0.33108	-78.40419
8409	<i>R. unicolor</i>	Imbabura	Tumbabiro, Hacienda ecológica vía a Piñan	3411	0.40366	-78.32716
8411	<i>R. unicolor</i>	Imbabura	Tumbabiro, Hacienda ecológica vía a Piñan	3411	0.40366	-78.32716
8800	<i>R. unicolor</i>	Pichincha	Quito, Av 12 de Octubre 1076 y Roca (PUCE)		-0.20878	-78.49158
9464	<i>R. unicolor</i>	Imbabura	Cotacachi, Laguna de Cuicocha	2600	0.31468	-78.36776
9662	<i>R. unicolor</i>	Carchi	Tulcán, Barrio Carchi	2945	0.82692	-77.70641
9663	<i>R. unicolor</i>	Carchi	Tulcán, afueras de Tulcán, vía a Tufiño	2930	0.81596	-77.72677
9664	<i>R. unicolor</i>	Carchi	Huaca, afueras de Huaca	2925	0.64421	-77.72302
9681	<i>R. unicolor</i>	Imbabura	Reserva Cotacachi-Cayapas	3101	0.29297	-78.35184
9682	<i>R. unicolor</i>	Imbabura	Reserva Cotacachi-Cayapas	3101	0.29297	-78.35184
9684	<i>R. unicolor</i>	Imbabura	Reserva Cotacachi-Cayapas	3082	0.29282	-78.35150
9689	<i>R. unicolor</i>	Imbabura	La Esperanza, Afueras de la Esperanza	2616	0.29049	-78.12212
10422	<i>R. unicolor</i>	Cotopaxi	Naranjito, Reserva de Bosque Integral Otonga (BIO)	1985	-0.41940	-79.00345
10459	<i>R. unicolor</i>	Cotopaxi	Naranjito, Reserva de Bosque Integral Otonga (BIO)	1985	-0.41940	-79.00345
10504	<i>R. unicolor</i>	Pichincha	Calacali, Cooperativa El Porvenir, finca El Cedral	2297	0.11400	-78.56993
10673	<i>R. unicolor</i>	Pichincha	Nanegal, Reserva Comunitaria Santa Lucía	1950	0.11647	-78.60536
10675	<i>R. unicolor</i>	Pichincha	Nanegal, Reserva Comunitaria Santa Lucía	1900	0.11683	-78.59906
10286	<i>R. vespertina</i>	Loja	Guachaurco	2824	-4.04252	-79.86121

**Anexo 1. CONTINUACIÓN**

<b>QCAZ</b>	<b>Especie</b>	<b>Provincia</b>	<b>Localidad</b>	<b>Altitud</b>	<b>GeoLatitud</b>	<b>GeoLongitud</b>
10306	<i>R. vespertina</i>	Loja	Guachaurco	2841	-4.04237	-79.86280
10311	<i>R. vespertina</i>	Loja	Guachaurco	2841	-4.04237	-79.86280
9607	<i>R. vespertina</i>	Azuay	Girón, El Chorro de Girón	2546	-3.12993	-79.16594
9667	<i>R. vespertina</i>	Azuay	San Antonio	1900	-2.89495	-79.40528
9649	<i>R. vespertina</i>	El Oro	El Panecillo	2775	-3.46753	-79.48249
9650	<i>R. vespertina</i>	El Oro	El Panecillo	2775	-3.46753	-79.48249
4317	<i>Petracola ventrimaculata</i>					
8056	<i>Pholidobolus montium</i>					

## **Anexo 2.** Protocolo de extracción de ADN con Tiacianato de Guanidina

### a. Lisis de células y desnaturalización de la RNASA

1. Calentar el Buffer de lisis a 55°C para que el SDS vuelva a estar en solución (colocar en el microondas o en la estufa por 15 seg).
2. Macerar alrededor de 10 mg de tejido (músculo o hígado) en un porta objetos con un bisturí estéril.
3. Colocar 300ul de Buffer de lisis en un tubo de 1.5 ml.
4. Transferir el tejido macerado al tubo que contiene el Buffer de lisis, añadir 3ul de Proteínasa K (20mg/ul) y dar un breve vortex.
5. Incubar la muestra a 55°C de 6-24 horas hasta que el tejido este completamente macerado. Agitar las muestras cada 30-60 minutos.
6. Posterior a la incubación, homogenizar la muestra con un breve vortex.
7. Dejar enfriar la muestra a temperatura ambiente por algunos minutos.

### b. Precipitación de proteínas

8. Añadir 100ul de Solución de Precipitación a la muestra de tejido macerado, y dar vórtex por 10-20 segundos.
9. Centrifugar a 1300 rpm por 20 minutos. Repetir si no se ha formado un pelet firme.
10. Decantar o pipetear el sobrenadante a un tubo nuevo de 1.5 ml, descartar el tubo con el pellet que contiene proteínas y otros desechos.

### c. Precipitación de ADN

11. Añadir 300ul de Isopropanol al 100% frío a la solución con ADN, mezclar la solución cuidadosamente invirtiendo el tubo varias veces.

12. Centrifugar a 13000 rpm por 10 minutos.

13. Descartar el sobrenadante, teniendo cuidado de no perder el pellet de ADN.

14. Añadir 300ul de Etanol al 70% e invertir el tubo varias veces para lavar el pellet.

15. Centrifugar a 13000rpm por 10 minutos y descartar el etanol.

16. Dejar evaporar el remanente de etanol a temperatura ambiente por 20-30 minutos, con el tubo abierto. No sobrepasar los 30 minutos ya que el pellet se puede deshidratar y es más difícil rehidratarlo.

d. Tratamiento con NaOAc, rehidratación y almacenamiento de ADN

17. Añadir 100ul de 10Mm Tris-HCl pH8, al pellet y mezclar. Resuspender completamente (24 horas) y guardar en la refrigeradora a 4°C.

18. Al siguiente día añadir 10ul de 3MNaOAc y 100 ul de Isopropanol al 100% frío. invertir el tubo varias veces.

19. Centrifugar a 13000 rpm por 10 minutos y descartar el sobrenadante.

20. Añadir 300ul de Etanol al 70% e invertir el tubo varias veces para lavar el pellet.

21. Centrifugar a 13000 rpm por 5 minutos y descartar el etanol.

22. Dejar evaporar el remanente de etanol a temperatura ambiente por 20-30 minutos, con el tubo abierto. No sobrepasar los 30 minutos ya que el pellet se puede deshidratar y es más difícil rehidratarlo.

23. Resuspender el pellet añadiendo 50 ul de 0.1 TEph8.0 (1XTEph8).

24. Guardar este stock a -20°C. Alicuotas de mayor dilución en dH2O se pueden guardar a 4°C.

**Anexo 3.** Protocolo de electroforesis en gel de agarosa y tinción de ADN con Sybr Safe

1. Pesar 1gr de Agarosa (en polvo).
2. Colocar la agarosa en un Erlen meyer y añadir 100ml de Buffer TBE 0.5X. mezclar.
3. Calentar la solución en el microondas por 1 minuto hasta que se disuelva completamente.
4. Dejar enfriar la solución por algunos minutos.
5. Armar el recipiente de tinción y colocar la peinilla adecuada en uno de los extremos.
6. Añadir el gel en el recipiente desde un extremo, teniendo cuidado de no formar burbujas. Dejar enfriar y solidificar el gel por 20 minutos, luego se puede colocar en la refrigeradora a 4°C por 10 minutos.
7. Una vez sólido el gel. retirar la peinilla.
8. Recortar un trozo de parafina y colocar 1.5ul de tinte blue/orange (refrigerado a 4°C) por cada muestra.
9. Mezclar cuidadosamente el tubo que contiene el ADN y extraer 2.0 de ADN con una pipeta, añadir al tinte y mezclar con la misma pipeta. Recoger con la pipeta la gota formada y colocar cuidadosamente en el pocillo del gel.
10. Repetir el paso anterior con el resto de muestras. en el pocillo posterior colocar 2.5ul de 100pb de ADN ladder.
11. Colocar el recipiente con el gel (previamente quitar los cauchos) en la máquina de electroforesis que contiene Buffer TBE 0.5X y correr por 40 minutos a 90V.

12. Al terminar la corrida recortar la parte del gel que contiene las muestras con la espátula y colocar en el recipiente que contiene Sybr Safe (10ul) y Buffer TBE 0.5X. El recipiente debe estar cubierto con papel aluminio y dentro de una caja que impida el contacto con la luz y la desnaturalización del Sybr Safe.
13. El resto de gel guardar en el Erlen Meyer y tapar con papel aluminio para evitar la deshidratación.
14. Colocar la caja en el Mezclador por 25 minutos a 15rpm.
15. Finalmente observar el gel en el transiluminador de luz UV.
16. Se puede reutilizar el gel hasta 5 veces.

## DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Vanessa Andrea Aguirre Peñafiel, C.I. 1720130002, autora del trabajo de graduación titulado: “Filogenia y conservación de las lagartijas andinas del género *Riama* (Squamata: Gymnophthalmidae) de Ecuador” previa a la obtención del grado académico de LICENCIADA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS en la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales:

1. Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.
2. Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través del sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de Universidad.

Quito, 29 de Junio del 2012

Srta. Vanessa Andrea Aguirre Peñafiel

C.I. 1720130002