

Evaluación de los patrones filogeográficos y estructura genética en *Anolis heterodermus*  
(Squamata: Dactyloidae) de la cordillera Oriental de los Andes

Paula Daniela Cano Quintero

Trabajo de Grado para Optar al Título de Bióloga

Directora

Natalia Trujillo Arias

Doctora en Ciencias Biológicas

Codirector

Elson Ferley Meneses Pelayo

Biólogo

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias

Escuela de Biología

Biología

Bucaramanga

2022

### **Dedicatoria**

A mis padres, José Cano y Lilia Quintero por su amor incondicional, por todo su esfuerzo y dedicación, por hacer de mi la persona que soy ahora, por creer en mí incluso cuando yo misma dejé de hacerlo y por motivarme siempre a seguir adelante.

A ti mami, por inculcarme desde niña el amor por la lectura y la naturaleza.

A ti papi que me enseñaste a ser fuerte y valerme por mí misma.

A mis abuelitas y mis abuelitos que me mostraron la belleza del campo y me enseñaron muchas cosas, los admiro inmensamente. A mis tíos y primos, por siempre estar ahí para apoyarme de cualquier manera, por las cosas buenas que me han enseñado.

A Andrés, por su amor, su cariño y su comprensión, por brindarme también una gran amistad y escucharme siempre que fue necesario.

A mis amigos, que siempre me han regalado buenos momentos, con quienes tengo muchas anécdotas que llevo en mi mente y mi corazón.

A mis compañeros de la universidad, con quienes compartí sentimientos de alegría y algunas veces de frustración, gracias por acompañarme en este camino.

A mis compañeros de laboratorio, por la compañía, el apoyo y la enseñanza que recibí de cada uno de ellos. A Silvia Toloza, con quien compartí desde el laboratorio hasta la finalización del trabajo las mismas emociones y nos apoyamos mutuamente hasta conseguirlo.

A las personas que me acogieron como una más de su familia y me brindaron mucho cariño y afecto en todos estos años.

A todos los animales que me han hecho la vida más bonita.

A la Universidad Pública.

### **Agradecimientos**

A la Profesora Martha Ramírez, por darme la oportunidad de trabajar en su grupo de investigación y por su gran labor de enseñanza de la herpetología. A Natalia Trujillo, quien me instruyó bastante en todo el proceso de realización de este trabajo y de quien aprendí muchas cosas. A Elson Meneses, por plantear la idea de este trabajo y por su instrucción en muchos temas que desconocía. A los tres, por su paciencia, dedicación y orientación.

A la Colección de Tejidos y Colección de Herpetología del Museo de Historia Natural de la Universidad Industrial de Santander y a la Colección de Tejidos del Instituto de Investigaciones Alexander von Humboldt, por el préstamo de los tejidos que permitieron la realización de este trabajo.

**Tabla de contenido**

**Introducción .....10**

**2. Objetivos..... 13**

2.1 Objetivo General..... 13

2.2 Objetivos Específicos ..... 13

**2. Competencias ..... 14**

**3. Materiales y Métodos ..... 15**

3.1. Especímenes utilizados..... 15

3.2. Extracción, Amplificación y Edición de secuencias de ADN ..... 16

3.3. Análisis filogenético ..... 18

3.4. Análisis de estructura y diferenciación genética ..... 19

**4. Resultados ..... 20**

4.1. Análisis filogenético ..... 20

4.2. Análisis de estructura y diferenciación genética ..... 23

**5. Discusión..... 28**

**6. Conclusiones..... 31**

**7. Recomendaciones..... 32**

**Referencias bibliográficas ..... 33**

**Lista de Tablas**

	<b>Pág.</b>
Tabla 1. Matriz de distancias p no corregidas. ....	25
Tabla 2. Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) de <i>A. heterodermus</i> empleando el marcador COL. ....	27
Tabla 3. $\Phi_{ST}$ de a pares y número de migrantes entre cuatro subpoblaciones de <i>A. heterodermus</i> . ....	27

**Lista de Figuras**

	<b>Pág.</b>
Figura 1. Distribución geográfica de especímenes utilizados .....	16
Figura 2. Árboles filogenéticos de <i>A. heterodermus</i> y sus especies cercanas obtenidos del análisis de <i>ND2+COI</i> y <i>ND2</i> .....	21
Figura 3. Árbol filogenético de <i>A. heterodermus</i> y sus especies cercanas obtenido del análisis del marcador <i>COI</i> .....	22
Figura 4. Red de haplotipos de parsimonia estadística construida a partir de secuencias del marcador <i>COI</i> .....	24
Figura 5. Análisis de estructura genética de <i>A. heterodermus</i> basado en secuencias del marcador <i>COI</i> .....	26

**Lista de Apéndices**

	<b>Pág.</b>
Apéndice A. Muestras, número de catálogo y números de acceso en Genbank de los individuos utilizados.....	49
Apéndice B. Análisis de estructura genética para las especies de la serie <i>heterodermus</i> .....	52
Apéndice C. Distancia genética entre las dos subpoblaciones de <i>A. nicefori</i> .....	53

### Resumen

**Título:** Evaluación de los patrones filogeográficos y estructura genética en *Anolis heterodermus* de la Cordillera Oriental de los Andes\*

**Autor:** Paula Daniela Cano Quintero\*\*

**Palabras Clave:** *Anolis heterodermus*, Serranía de los Yarigués, linaje evolutivo, estructura genética, Cordillera Oriental.

**Descripción:** La serie *heterodermus* es un complejo de especies de *Anolis* de alta montaña distribuidas en la Cordillera de los Andes; actualmente cuenta con 7 especies reconocidas, sin embargo, existen vacíos de información que impiden resolver su taxonomía, debido principalmente a que la información molecular existente se limita a una fracción de su rango de distribución y a la ausencia de información morfológica. Con el objetivo de resolver las relaciones filogenéticas dentro del grupo y reconocer los patrones filogeográficos y genética poblacional de *A. heterodermus*, se amplificaron dos genes de ADN mitocondrial (*ND2* y *COI*) de individuos colectados en la Serranía de los Yarigués (N=11), Boyacá (N=5) e individuos de *A. nicefori* (N=4). Esta información fue utilizada en conjunto con datos de esta y otras especies del grupo *heterodermus* disponibles en Genbank. Se realizaron análisis filogenéticos y estimaciones de estructura, diversidad y flujo genético. Los resultados obtenidos soportan cuatro linajes evolutivamente independientes de *A. heterodermus*, con marcada estructura genética ( $F_{st(\text{min-máx.})} = 0,74-0,98$ ;  $p < 0,005$ ). Uno de estos linajes fue encontrado en la Serranía de los Yarigués, población por primera vez incluida en análisis filogenéticos, la cual esta genéticamente aislada de otras poblaciones ( $N_m = 0$ ), incluso de aquellas geográficamente más próximas distribuidas al este de la Cordillera Oriental. Nuestros resultados soportan a *A. heterodermus* como un complejo de especies crípticas y destaca la importancia de los valles (e.g., valle seco del río Suárez y Chicamocha) para promover y mantener la divergencia entre linajes de alta montaña. La existencia de un linaje único en la Serranía de los Yarigués es crucial, ya que, dada la evidencia, debe considerarse como especie candidata, a la espera de más datos confirmatorios. En cuanto a las relaciones filogenéticas y taxonomía dentro del grupo *heterodermus*, es importante incluir información de otras poblaciones y especies en futuros análisis para dar más resolución a las relaciones encontradas.

---

\* Trabajo de grado

\*\* Facultad de Ciencias, Escuela de Biología, Biología, Tutor: Natalia Trujillo Arias, Doctora en Ciencias Biológicas. Cotutor: Elson Ferley Meneses Pelayo, Biólogo.

### Abstract

**Title:** Evaluation of the phylogeographic patterns and genetic structure in *Anolis heterodermus* from the Eastern Cordillera of the Andes\*

**Author(s):** Paula Daniela Cano Quintero<sup>1</sup>

**Key Words:** *Anolis heterodermus*, Serranía de los Yariguíes, evolutionary lineage, genetic structure, Eastern Cordillera.

**Description:** *heterodermus* series is a complex of high mountain Anole species distributed in the Andes mountains, it currently has 7 recognized species, however, there are gaps on information that prevent solving its taxonomy, because the existing molecular information is limited to a fraction of its distribution range and the absence of morphological information. In order to resolve the phylogenetic relationships within the group and recognize the phylogeographic and population genetic patterns of *A. heterodermus*, we amplified two mitochondrial DNA genes (ND2 and COI) of individuals collected in the Serranía de los Yariguíes (N=11), Boyacá (N=5) and individuals of *A. nicefori* (N=4). This information was used in conjunction with data on this and other species of the heterodermus series available in Genbank. Phylogenetic analyzes and estimates of structure, diversity and gene flow were performed. The results support four evolutionarily independent lineages of *A. heterodermus*, with marked genetic structure ( $F_{st}(\text{min-max.}) = 0.74-0.98$ ;  $p < 0.005$ ). One of these lineages was found in the Serranía de los Yariguíes, a population for first time included in phylogenetic analyses, which is genetically isolated from other populations ( $N_m = 0$ ), even from those geographically closest distributed to the east of the Cordillera Oriental. Our results support *A. heterodermus* as a complex of cryptic species and highlights the importance of valleys (e.g., dry valley of the Suárez River and Chicamocha) in promoting and maintaining divergence between high mountain lineages. The existence of a single lineage in the Serranía de los Yariguíes is crucial, since, given the evidence, should be anticipated as a candidate species, pending further confirmatory data. Regarding the phylogenetic relationships and taxonomy within the heterodermus series, it is important to include information from other populations and species in future analyzes to give more resolution to the relationships found.

---

\* Degree Work

\*\*Sciences Faculty, Department of Biology, Advisor: Natalia Trujillo Arias, PhD Biological Sciences. Co-advisor: Elson Ferley Meneses Pelayo, Biologist

### Introducción

La cordillera de los Andes es un sistema montañoso que se extiende desde las tierras sureñas de Chile y Argentina hasta Venezuela, recorriendo el costado oeste del continente suramericano. Los Andes tropicales son considerados como uno de los mayores hotspots de biodiversidad debido a la riqueza de especies y los altos niveles de endemismo que allí existen (Myers *et al.*, 2000). Lo anterior se relaciona a su compleja historia geográfica y climática que ha sido promotora de la formación de ambientes únicos (e.g. Alta montaña, valles interandinos) y que ha llevado a plantear distintos escenarios que buscan explicar el rol de los Andes en la diversificación de linajes como las hipótesis de museo “museum” (Stebbins, 1974), cuna “cradle” (Graham *et al.*, 2004; Hughes & Eastwood 2006), atractor-de-especies “species-atractor” (Beckman & Witt, 2015) y tiempo-de-especiación “time-for-speciation” (Stephens & Wiens, 2003), que guardan una estrecha relación, no solo con las condiciones anteriormente mencionadas sino con las tasas de especiación, extinción y el tiempo de colonización (Chazot *et al.*, 2016). Todo esto ha sido punto de partida para muchas preguntas de investigación relacionadas a la diversidad y especiación de varios grupos taxonómicos con distribución en los Andes (Valderrama *et al.*, 2014; De-Silva *et al.*, 2015; Carvajal-Quintero *et al.*, 2015; Meza-Joya & Torres, 2016; Cadena *et al.*, 2016; Muñoz-Valencia *et al.*, 2022).

La mayor complejidad de la Cordillera se alcanza en los Andes del norte, en Colombia, donde se elevan las Cordilleras Occidental, Central y Oriental, siendo esta última la que presenta la historia orogénica más reciente (Caballero *et al.*, 2010) y a la cual se atribuyen importantes eventos como la formación del valle del Magdalena Medio y la cuenca de los Llanos (Chicangana & Kramer, 2013; Anderson *et al.*, 2016; Horton *et al.*, 2020). Al oeste de la Cordillera Oriental se encuentra la Serranía de los Yariguíes, una estribación montañosa que está aislada del este y norte

de la Cordillera Oriental por depresiones geográficas asociadas a valles y ríos en la región (e.g. Valle seco del Río Suárez y Sogamoso, depresiones de las cabeceras de los ríos Horta y Opón) (Donegan *et al.*, 2010). Esta estribación presenta una extensión de aproximadamente 500 000 hectáreas (Ha) en la que se encuentran ecosistemas de bosque andino, subandino y páramo, alcanzando una altitud de 3 400 m.s.n.m. (Donegan & Huertas, 2005) y posee unas condiciones climáticas y topográficas únicas que han promovido la existencia de nuevos linajes como Aves (Donegan *et al.*, 2005, 2013; Sedano *et al.*, 2010), mamíferos (Colmenares-Pinzón, 2021) anfibios (Muñoz-Ortiz *et al.*, 2015; Meza-Joya *et al.*, 2017), reptiles (Meneses-Pelayo & Ramírez, 2020), insectos (Huertas *et al.*, 2009;) y plantas (Aguilar-Cano *et al.*, 2018; Jara-Muñoz & Zabala-Rivera, 2018).

Los lagartos del género *Anolis* representan un modelo de estudio excepcional para evaluar procesos evolutivos promovidos por eventos geográficos y climáticos. Particularmente, las especies de este género han sido utilizadas como modelo de estudios de evolución y ecología (e.g., radiación adaptativa (Losos, 1992; Pinto *et al.*, 2008; Johnson *et al.*, 2010; Stroud & Losos, 2020)), además, son uno de los grupos de vertebrados más diversos y con mayor número de especies en el mundo (Uetz *et al.*, 2022). Esta gran diversidad y el creciente conocimiento del grupo han llevado a modificar su clasificación taxonómica en repetidas ocasiones (Losos *et al.*, 1998; Jackman *et al.*, 1999; Nicholson *et al.*, 2012; Castañeda & de Queiroz, 2013, Poe *et al.*, 2015, 2017; Prates *et al.*, 2017, 2020), siendo la clasificación en series la que se encuentra vigente (Castañeda & de Queiroz, 2013). Concretamente, la serie *heterodermus* constituye un grupo muy interesante debido a que representa un complejo de especies de *Anolis* de alta montaña distribuidas en los Andes tropicales que actualmente cuenta con siete especies reconocidas (*A. proboscis*, *A. orcesi*, *A. euskalerruari*,

*A. inderenae*, *A. vanzolinii*, *A. nicefori* y *A. heterodermus*) (Prates *et al.*, 2020) pero que aún presenta una compleja taxonomía sin resolver, debido a vacíos de información molecular y/o morfológica.

Dentro de este grupo resalta *Anolis heterodermus*, especie endémica de los Andes del norte, distribuida en un rango altitudinal de 1 800 a 3 750 m.s.n.m y la única de la serie *heterodermus* que se encuentra en las tres cordilleras y en la Serranía de los Yarigués (Dunn, 1944; Hellmich, 1949, Torres-Carvajal *et al.*, 2010; Nicholson *et al.*, 2012). Pese a que ha sido incluida en estudios de sistemática filogenética (Castañeda & de Queiroz 2011, 2013; Nicholson *et al.*, 2012, Vargas-Ramírez & Moreno-Arias, 2014), el conocimiento en torno a su historia evolutiva es escaso y poco concluyente, lo cual puede ser explicado porque la información molecular existente está limitada a una fracción de su rango de distribución. A pesar de esto, se tiene evidencia sustentada de la existencia de elevada estructura y diferenciación genética entre sus poblaciones que son geográficamente cercanas (Vargas-Ramírez & Moreno-Arias, 2014); dando indicios de la existencia de aislamiento por efecto de valles y ríos asociados a las montañas y de ambientes heterogéneos que limitan el intercambio de material genético.

Con base en lo anterior y en la necesidad de ampliar el conocimiento respecto a la biodiversidad de los Andes del norte, el presente trabajo tiene como objetivo evaluar los patrones filogeográficos y estructura genética de *A. heterodermus* incorporando información de dos marcadores mitocondriales de individuos de la Serranía de los Yarigués y de *A. nicefori* que hasta la fecha no habían sido incluidos en análisis previos.

## 2. Objetivos

### 2.1 Objetivo General

Evaluar los patrones filogeográficos y estructura genética en *Anolis heterodermus* de la Cordillera Oriental de los Andes colombianos.

### 2.2 Objetivos Específicos

Amplificar secuencias nucleotídicas de los genes Deshidrogenasa subunidad II (*ND2*) y Citocromo oxidasa I (*COI*).

Identificar las relaciones filogenéticas dentro de la serie *heterodermus* incluyendo datos moleculares de los individuos del PNN Serranía de los Yarigués, de Boyacá e individuos de *A. nicefori*.

Inferir la estructura genética entre poblaciones de *A. heterodermus* del norte y centro de la Cordillera Oriental.

Dilucidar los aspectos filogeográficos de *A. heterodermus* en la Cordillera Oriental.

## **2. Competencias**

Extrae ADN de tejidos de las especies consideradas en el estudio.

Amplifica segmentos de los genes Deshidrogenasa subunidad II (*ND2*) y Citocromo oxidasa I (*COI*) mediante la técnica de Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR).

Emplea herramientas bioinformáticas para explorar y analizar datos moleculares para la obtención de resultados.

Redacta un informe con contenido científico de manera adecuada para el desarrollo del proyecto.

### 3. Materiales y Métodos

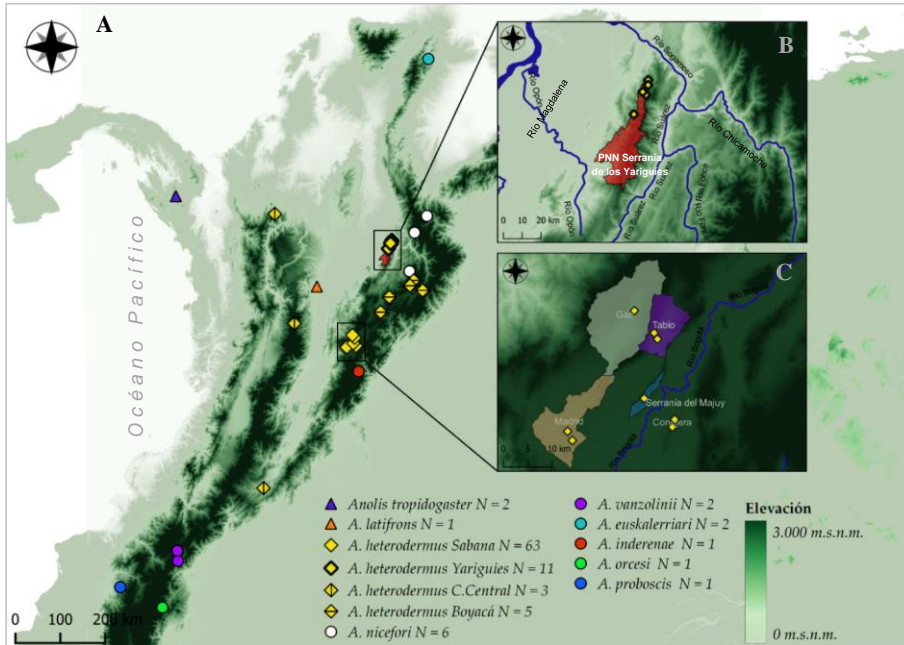
#### 3.1. Especímenes utilizados

En este trabajo se incluyeron muestras de *A. heterodermus* de la Serranía de los Yariguíes y del departamento de Boyacá que no habían sido analizados en estudios previos, ampliando significativamente la información molecular de la especie; además, también se adicionaron muestras de *A. nicefori* debido a que solamente existía hasta entonces información molecular de dos individuos y de un solo marcador (Figura 1).

Las muestras de tejido de *A. heterodermus* y *A. nicefori*, fueron obtenidas de individuos pertenecientes a la Colección Herpetológica (UIS-R) y la Colección de Tejidos (UIS-CT) del Museo de Historia Natural de la Universidad Industrial de Santander (MHN-UIS) y a la Colección de Tejidos del Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt (IAvH-CT). Los especímenes pertenecientes a *A. heterodermus* de la zona norte de la cordillera Oriental corresponden a individuos colectados en localidades de la Serranía de los Yariguíes (N=11), en jurisdicción de dos municipios de Santander (San Vicente de Chucurí (*Yari*) y El Carmen de Chucurí (*Yari1*)) y del departamento de Boyacá (N=5) correspondientes a 5 municipios (Samacá (*Boy1*), Tutazá (*Boy2*), Cerinza (*Boy3*), Tasco (*Boy4*) y Arcabuco (*Boy5*)). Las muestras de tejido de *A. nicefori* que se incluyeron en este trabajo pertenecen a individuos colectados en los municipios de Santa Bárbara (N=2) y Coromoro (N=2), Santander.

Las secuencias de los fragmentos de los genes *ND2* y *COI* de los individuos de la región central de la cordillera Oriental, demás especies que componen la serie *A. heterodermus* y especies utilizadas como grupo externo, fueron obtenidas de la base de datos de GenBank (*COI* N=74; *ND2*

N=19) (Harmon, 2003; Castañeda & de Queiroz, 2011; Vargas-Ramírez & Moreno-Arias, 2014; Poe *et al.*, 2015; Nicholson *et al.*, 2012) (Apéndice A1).



**Figura 1. Distribución geográfica de especímenes utilizados.** (A) Individuos de la serie heterodermus e individuos utilizados como grupo externo. (B) Vista del PNN Serranía de los Yariguíes (polígono rojo) y localidades de muestreo. (C) Vista del muestreo de la zona central de la Cordillera Oriental indicando los sitios con muestras. N hace referencia al número de muestras analizadas.

### 3.2. Extracción, Amplificación y Edición de secuencias de ADN

Se realizó la extracción de ADN de 20 muestras de tejido de hígado y cola de individuos de *A. heterodermus* y *A. nicefori* preservados en etanol al 96%, utilizando el kit de extracción comercial GeneJet Genomic (Thermo Scientific) y siguiendo el protocolo del fabricante. Posteriormente, se amplificaron mediante PCR fragmentos de los genes mitocondriales Deshidrogenasa subunidad II

(*ND2*) y Citocromo Oxidasa subunidad I (*COI*). Para el marcador *ND2* se utilizaron los primers Metf6 (5'-AAGCTTTCGGGCCCATACC-3') (Macey *et al.*, 1997) y HetN1R (5'-GCTATTAATAATTGGTAGGGG-3') (Vargas-Ramírez & Moreno-Arias, 2014). El protocolo de amplificación consistió en una desnaturalización inicial a 94° por 5 min seguido de 40 ciclos: 10 ciclos de desnaturalización a 94° por 35 s, anillamiento a 48° por 45 s y extensión a 72°, por 1 min; 30 ciclos de desnaturalización a 94° por 35 s, anillamiento a 55° por 45 s y extensión a 72°, por 1 min y un paso de extensión final a 72° por 10 min. En el caso del marcador *COI*, se utilizaron los primers RepCOI-F (5'-TNTTMTCAACNAACCACAAAGA-3') y RepCOI-R (5'-ACTTCTGGRTGKCCAAARAATCA-3') (Nagy *et al.*, 2012), el protocolo de amplificación consistió en una desnaturalización inicial a 94° por 3 min seguido de 40 ciclos de desnaturalización a 94° por 40 s, anillamiento a 48,5° por 30 s y extensión a 72°, por 1 min y un paso de extensión final a 72° por 7 min.

Cada reacción se condujo en un volumen final de 20µL que contenía 2 µL de muestra de ADN, 1X de buffer, 2 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,2 µM de dNTP's, 0,5 µM de cada primer y 1,5 u/µL de Platinum™ *Taq* DNA Polymerase (Thermo Scientific). La purificación y secuenciación de los productos amplificados fue realizada por el Centro de Secuenciación de ADN de la Universidad de los Andes (GenCore) y el Servicio de Secuenciación y Análisis Molecular (SSiGMOL) del Instituto de Genética de la Universidad Nacional de Colombia.

La edición de las secuencias obtenidas y la generación de las secuencias consenso fueron realizadas en el software CodonCode Aligner v.10.0.2 (CodonCode Co., USA), en el cual se verificó que no existieran codones de parada dentro de los marcos de lectura de las secuencias, en el orden de garantizar la correcta edición de estas. Posteriormente se realizó un alineamiento de las

secuencias en el software MEGA v.10.2.6 (Kumar *et al.*, 2018) utilizando el algoritmo ClustalW (Thompson *et al.*, 1994).

### 3.3. Análisis filogenético

Las estimaciones filogenéticas se realizaron por los métodos de Máxima Verosimilitud (MV) e Inferencia Bayesiana (IB), analizando tres matrices: una por cada marcador y una de los dos marcadores concatenados. Inicialmente, se seleccionó el modelo de sustitución nucleotídica para cada partición empleando el software jModelTest v.2.1.10 (Darriba *et al.*, 2012) bajo el Criterio de Información de Akaike (AIC) (COI =GTR+I+Gamma; ND2=HKY+I+Gamma; COI+ND2=GTR+I+Gamma). Posteriormente se llevó a cabo el análisis de MV en la plataforma web CIPRES (Miller *et al.*, 2010) utilizando el algoritmo RaxML v.8.2.12 implementado en XSEDE (Stamatakis, 2014). Para este análisis se empleó el modelo de sustitución GTR+I+Gamma para las matrices de COI y COI+ND2 y HKY+I+Gamma para la matriz de ND2 y un bootstrap no paramétrico de 1000 réplicas para evaluar el soporte de los nodos. Adicionalmente, se efectuó un análisis por Inferencia Bayesiana (IB) en el software MrBayes v.3.2.7a (Ronquist *et al.*, 2012) utilizando el mismo modelo de sustitución nucleotídica del análisis por MV. Se realizaron dos corridas paralelas con cuatro cadenas de Markov-Monte Carlo (MCMC), para un total de 10 millones de generaciones, muestreando cada 1000 generaciones y utilizando los siguientes priors: Tratio<sub>pr</sub>=fixed, Revmat<sub>pr</sub>=dirichlet, Aamodel<sub>pr</sub>=GTR, Statefreq<sub>pr</sub>=Dirichlet, Pinvar<sub>pr</sub>=fixed. Se descartó el 25% inicial de las topologías muestreadas como burn-in y se calculó el árbol consenso de mayoría obteniendo las probabilidades posteriores (PP) de cada nodo. Los taxones utilizados como grupo externo fueron *A. latifrons* y *A. tropidogaster*.

Comentado [P1]: corregir

### 3.4. Análisis de estructura y diferenciación genética

Los análisis poblacionales se llevaron a cabo utilizando información molecular del marcador *COI* de 90 individuos de *A. heterodermus*.

Para observar el número de haplotipos y las relaciones entre estos se realizó una red de haplotipos bajo el método de Máxima Parsimonia (MP) en el software PopART (Leigh & Bryant, 2015). Adicionalmente, con el objetivo estimar el número más probable de subpoblaciones genéticamente diferenciadas en *A. heterodermus*, se utilizó el método de agrupamiento bayesiano, utilizando el paquete rhierbaps y la librería del mismo nombre del repositorio CRAN en R (R Core Team, 2022) y los parámetros por defecto. Este análisis evalúa la probabilidad de diferentes grupos genéticos (clústers) ( $K=1$  a  $K=8$ ) y selecciona el mejor  $K$  en función de la menor probabilidad logarítmica de likelihood (lnL) (Cheng *et al.*, 2013).

Con el objetivo de evaluar la variabilidad intraespecífica de *A. heterodermus* e interespecífica con las demás especies de la serie *heterodermus*, se generó una matriz de distancias genéticas no corregidas por cada marcador en el software MEGA v.10.2.6 (Kumar *et al.*, 2018).

Por último, para evaluar la diferenciación genética entre los grupos inferidos con el método de agrupamiento bayesiano, se realizó un Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) y se estimaron los valores del estadístico  $\Phi_{ST}$  pareado utilizando distancias sin corregir y la significancia de estos fue evaluada mediante 2 000 permutaciones al azar. Adicionalmente, con la finalidad de medir el flujo genético entre dichas poblaciones, se estimó el número efectivo de migrantes ( $N_m$ ) por generación. Lo anterior fue realizado en el software Arlequin 3.5 (Excoffier & Lischer, 2010).

#### 4. Resultados

En el procedimiento de amplificación del marcador *COI* se generaron 16 nuevas secuencias de *A. heterodermus* correspondientes a los individuos de la Serranía de los Yariguíes (UIS-CT; UIS-R), Boyacá (IAvH-CT), y 4 secuencias de *A. nicefori* (UIS-R); la longitud de los fragmentos osciló entre las 550 y 600 pb. En el caso del marcador *ND2* se obtuvo una secuencia de *A. heterodermus* de la Serranía de los Yariguíes (UIS-R-3844), dos de Boyacá (IAvH-23432, IAvH-27155) y una secuencia de *A. nicefori* (UIS-R-3076); los fragmentos de *ND2* presentaron una longitud entre las 750 y 800 pb.

##### 4.1. Análisis filogenético

Las filogenias de Inferencia Bayesiana y de Máxima Verosimilitud obtenidas a partir de los tres conjuntos de datos evaluados indicaron que *A. heterodermus* representa un complejo de especies crípticas y que el estatus de especie de algunas de las especies pertenecientes a la serie *heterodermus*, aún es incierto y requiere la inclusión de más datos (e.g., para *A. vanzolinii*, *A. inderenae* y *A. nicefori*) (Figura 2 y 3). Cabe resaltar, que, aunque las matrices del set de datos concatenado (*COI+0ND2*) y de solo el marcador *ND2* tuvieron un número de muestras menor a la matriz de *COI*, en todos los análisis se contó con representación de como mínimo una muestra por cada localidad analizada.

Concretamente, para *A. heterodermus* los análisis filogenéticos indicaron que las muestras de la Serranía de los Yariguíes forman un grupo monofilético (clado B; Figuras 2 y 3). Otros grupos monofiléticos inferidos fueron, el clado A compuesto por *A. heterodermus* de Gachancipá (Gac), Tabio (Tab) y Boyacá (Boy) y por *A. nicefori* con soportes altos a moderados; el clado C compuesto por *A. heterodermus* de Huila, Antioquia (Ant) y Caldas (Cal) relacionados cercanamente a *A.*

*vanzolinii* y *A. inderenae*; y el clado D compuesto por *A. heterodermus* de Madrid (Mad), Majuy (Maj) y Conejera (Con) con soportes moderados a altos (Figura 2 y 3).

Los otros grupos monofiléticos obtenidos a partir de las reconstrucciones filogenéticas fueron, el clado E conformado por el taxón *Anolis* sp Z- SP2016 y *A. orcesi* con alto soporte, y el clado F conformado por los taxones de *A. euskalerrari* con soportes altos (Figura 2 y 3). Finalmente, en las reconstrucciones de *ND2* y evidencia total *A. proboscis* se ubica dentro de la serie *heterodermus* con soportes moderados y altos (Figura 2) mientras que en la reconstrucción basada en *COI* este taxón queda más distante de los demás integrantes de la serie *heterodermus* (Figura 3).

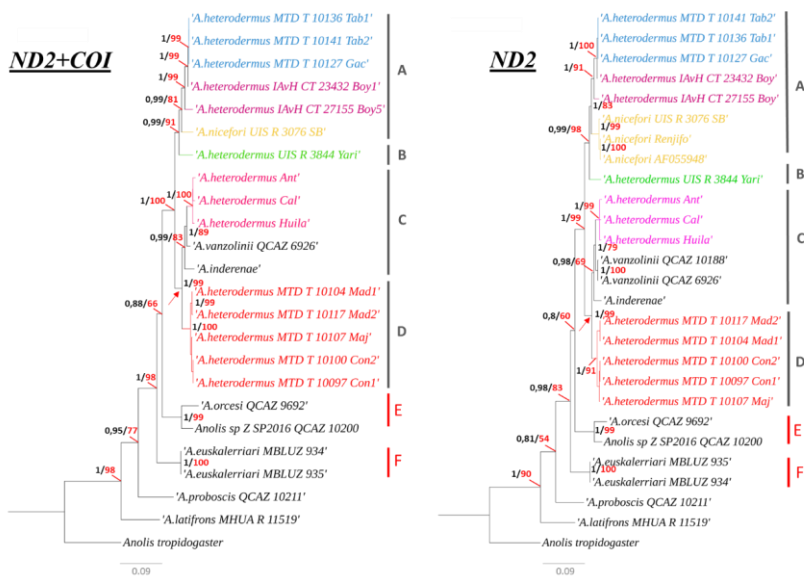
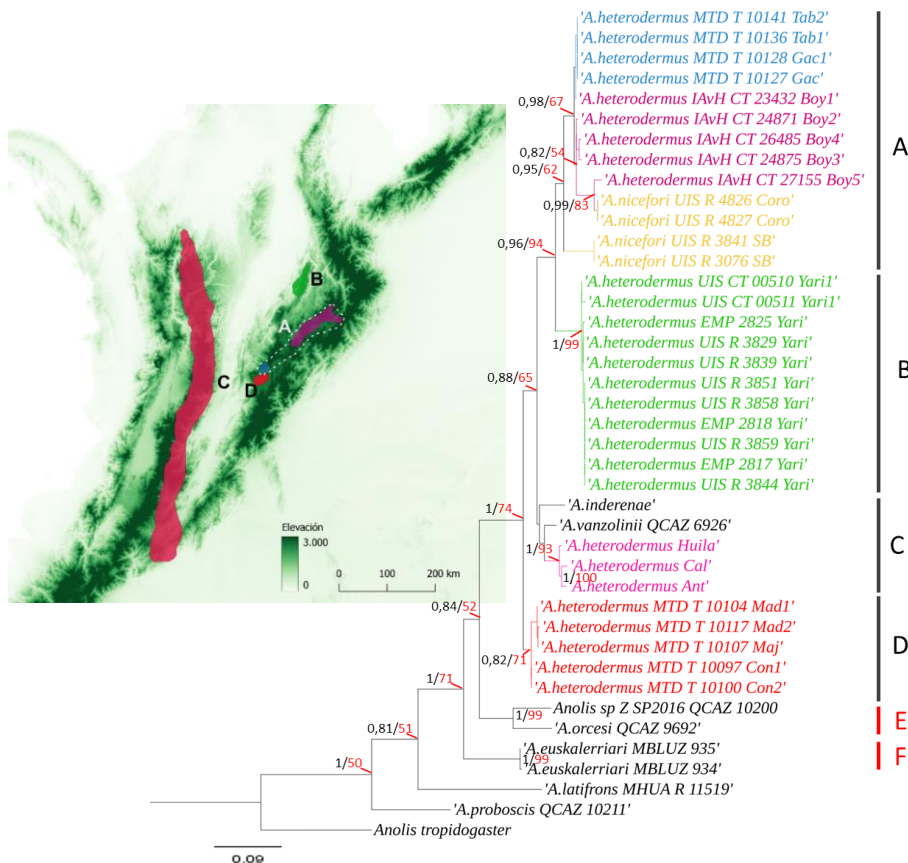


Figura 2. Árboles filogenéticos de *A. heterodermus* y sus especies cercanas obtenidos del análisis de *ND2+COI* y *ND2*. El soporte de los nodos es indicado como probabilidad posterior (PP) en color negro y

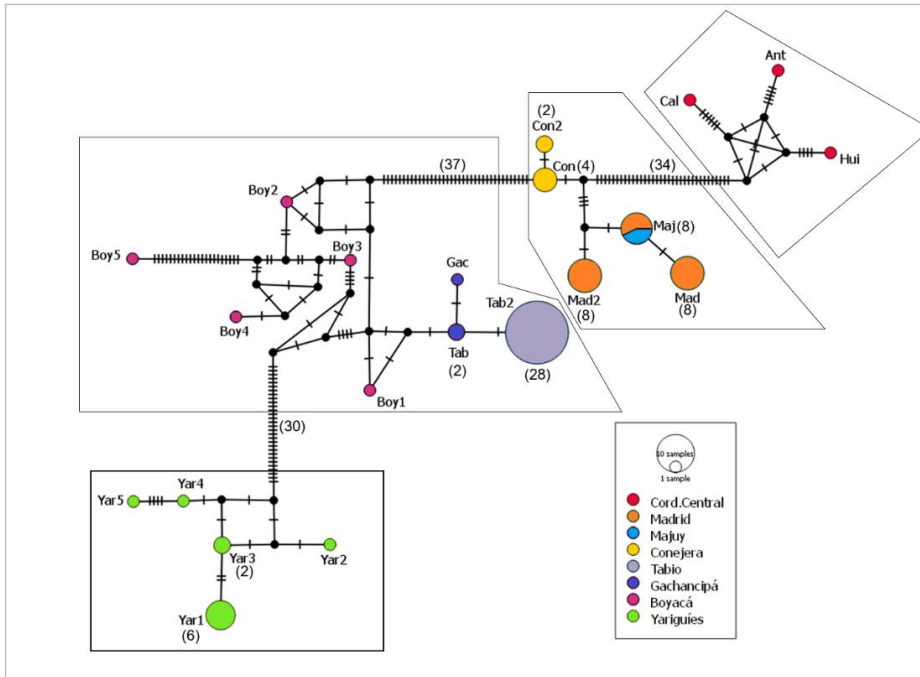
los valores de bootstrap de Máxima Verosimilitud se muestran en color rojo. Las flechas de color rojo indican la diferencia con respecto a la filogenia del marcador *COI* (ver figura 3).



**Figura 3.** Árbol filogenético de *A. heterodermus* y sus especies cercanas obtenido del análisis del marcador *COI*. Se muestran los clados principales en letras (A-G). El soporte de los nodos es indicado como probabilidad posterior (PP) en color negro y los valores de bootstrap de Máxima Verosimilitud se muestran en color rojo. La flecha de color rojo indica la diferencia con respecto a las filogenias basadas en *ND2* y *ND2+COI*. El mapa a la izquierda muestra la distribución geográfica de los clados definidos por las letras A, B, C y D.

#### 4.2. Análisis de estructura y diferenciación genética

La red de haplotipos de las secuencias de *COI* indicó cuatro haplogrupos dentro de *A. heterodermus* marcadamente diferenciados (Figura 4). (1) Haplogrupo Yarigués: Conformado por las muestras de la Serranía de los Yarigués. En total se identificaron cinco haplotipos únicos separados por 1 a 4 sustituciones nucleotídicas, de los cuales el más frecuente es **Yar1** con 6 individuos, seguido de **Yar3** con 2 individuos. Los 3 haplotipos restantes están presentes en un individuo cada uno. (2) Haplogrupo Cordillera Central: Conformado por las muestras de Antioquia, Huila y Caldas, en este grupo existen 3 haplotipos diferentes, correspondientes a cada uno de los individuos de la subpoblación incluidos en el análisis. (3) Haplogrupo Mad/Maj/Con: Constituido por las muestras de Madrid, Majuy y Conejera, en este haplogrupo fueron inferidos 5 haplotipos diferentes; los más frecuentes fueron los haplotipos **Mad** y **Mad2** con 8 individuos cada uno, seguido de los haplotipos Maj, con una frecuencia de 4 individuos presentes en las subpoblaciones de Madrid y Majuy y el haplotipo **Con** representado en 4 individuos de la subpoblación de Conejera. (4) Haplogrupo Tab/Gac/Boy: Constituido por 10 haplotipos correspondientes a las muestras de Tabio, Gachancipá y Boyacá, cada uno individuos de Boyacá representaron un haplotipo diferente (**Boy1-5**), el haplotipo más frecuente fue **Tab2** con una frecuencia de 28 individuos, seguido de los haplotipos **Tab** y **Gac** con una frecuencia de dos y un individuo, respectivamente.



**Figura 4.** Red de haplotipos de parsimonia estadística de *A. heterodermus* construida a partir de secuencias del marcador COL. Las líneas verticales sobre las ramas representan los pasos mutacionales y el largo de las ramas es proporcional a la cantidad de cambios dentro de la red. El tamaño de los círculos es proporcional a la cantidad de haplotipos iguales (n entre paréntesis) y los círculos negros de menor tamaño corresponden a haplotipos intermedios no observados. Los colores representan el origen geográfico de las muestras.

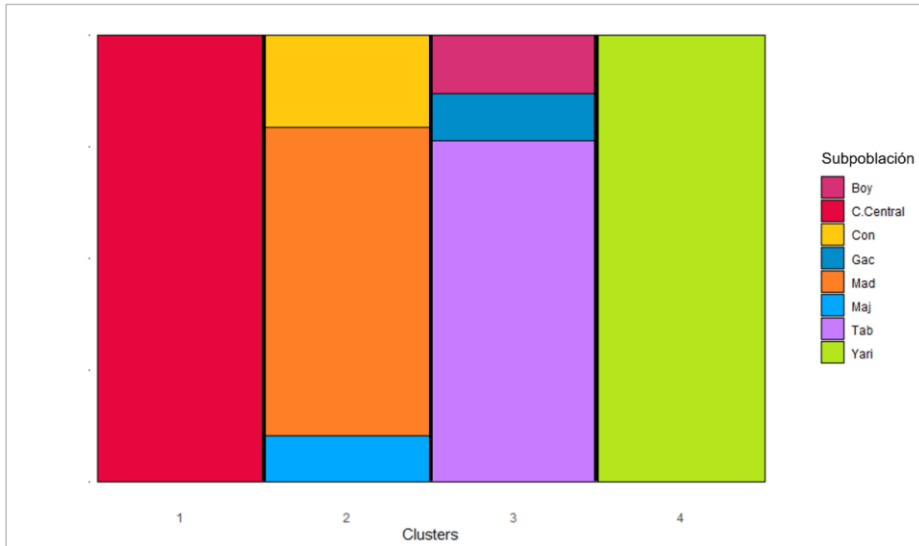
La matriz de distancias genéticas para cada uno de los marcadores indicó valores de diferenciación entre taxones que concuerdan con los resultados de las filogenias inferidas (Tabla 1). La diferenciación intraespecífica entre *A. heterodermus* de la Serranía de los Yariguies con

respecto a los *A. heterodermus* de las demás localidades presentó más del 7% de diferenciación genética para el marcador *ND2* y del 8% para *COI*. Finalmente, con respecto a las demás especies de la serie *heterodermus*, las distancias genéticas superaron el 10%.

Según el análisis de agrupamiento bayesiano, la diversidad genética de *A. heterodermus* está estructurada en 4 grupos genéticos (clústers) (Figura 5). El clúster 1 (C. Central) está constituido por los individuos de la subpoblación de la Cordillera central; el Clúster 2 (Mad/Maj/Con), lo componen individuos de las subpoblaciones de Conejera, Madrid y Majuy; en un tercer clúster (Tab7Gac/Boy) se agrupan las subpoblaciones de Tabio, Gachancipá y Boyacá y el clúster 4 (Yariguíes) está compuesto únicamente por la subpoblación de *A. heterodermus* de la Serranía de los Yariguíes.

	outgroup	<i>A.proboscis</i>	<i>A.euskalerrari</i>	<i>A.orcesi</i>	<i>A.inderenae</i>	<i>A.vanzolinii</i>	<i>A.nicefori</i>	<i>Cord.Central</i>	<i>Madrid/Majuy/Con</i>	<i>Tabio/Gac/Boy</i>	<i>Yariguíes</i>
outgroup		20,2	19,6	19,5	20,3	20,4	21,0	21,0	20,0	20,6	21,2
<i>A.proboscis</i>	23,3		19,1	19,9	18,5	17,9	19,1	17,7	17,7	18,2	18,2
<i>A.euskalerrari</i>	23,9	17,7		15,6	16,8	15,4	15,2	15,2	14,1	14,7	14,7
<i>A.orcesi</i>	25,0	20,0	16,3		16,0	14,5	15,9	14,9	15,7	15,0	15,0
<i>A.inderenae</i>	25,2	19,7	15,4	16,8		7,2	11,7	8,4	8,6	10,2	10,9
<i>A.vanzolinii</i>	24,1	17,9	14,5	16,2	5,1		10,6	6,0	7,8	9,9	9,0
<i>A.nicefori</i>	24,7	18,4	14,2	15,5	10,4	10,6		11,7	11,0	6,3	10,3
<i>Cord.Central</i>	25,0	18,5	14,2	16,8	6,2	3,4	11,2		9,0	10,3	10,0
<i>Madrid/Majuy/Con</i>	25,4	19,0	15,2	16,1	7,3	5,6	10,8	6,1		10,0	10,8
<i>Tabio/Gac/Boy</i>	24,6	19,6	14,3	14,6	9,8	9,8	6,6	10,2	10,0		8,6
<i>Yariguíes</i>	25,5	20,4	14,6	15,9	11,2	11,6	7,9	11,9	11,5	7,4	

**Tabla 1. Matriz de distancias p no corregidas.** Las distancias genéticas se basan en la información de los marcadores *ND2* (diagonal inferior) y *COI* (diagonal superior). Los valores se encuentran en porcentaje (%).



**Figura 5. Análisis de estructura genética de *A. heterodermus* basado en secuencias del marcador COI.**

Los colores dentro de cada grupo (clúster) genético representan el origen geográfico de las muestras.

La estructura genética indicada en el análisis anterior fue corroborada por los análisis de AMOVA y  $\Phi_{ST}$  pareado (Tabla 2 y 3). Específicamente, el AMOVA indicó que la mayor proporción de la variación genética se encuentra entre las subpoblaciones (93,2% de la varianza), mientras que un 6,8% es debida a la variación intrapoblacional. Los valores de  $\Phi_{ST}$  pareado mostraron una marcada diferenciación genética entre las cuatro subpoblaciones ( $\Phi_{ST}$  pareado  $>0,90$ ), además, el número efectivo de migrantes ( $N_m$ ) fue menor a un individuo por generación, indicando la ausencia de flujo genético entre las subpoblaciones (Tabla 3).

Fuente de variación	d.f.	Suma de cuadrados	Componentes de la varianza	Porcentaje de la variación
Entre poblaciones	3	1052,813	20,48053	93,16
Dentro de las poblaciones	77	115,853	1,50459	6,84

**Tabla 2. Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) de *A. heterodermus* empleando el marcador COI.**

Las muestras fueron agrupadas con base en los cuatro grupos inferidos en el análisis de agrupamiento bayesiano (ver Figura 5).

	Cordillera Central	Mad/Maj/Con	Tab/Gac/Boy	Yariguíes
Cordillera Central		0,047	0,037	0,049
Mad/Maj/Con	0,914 (+)		0,034	0,03
Tab/Gac/Boy	0,931 (+)	0,936 (+)		0,037
Yariguíes	0,911 (-)	0,943 (+)	0,931 (+)	

**Tabla 3.  $\Phi_{ST}$  de a pares y número de migrantes entre cuatro subpoblaciones de *A. heterodermus*.**

En la diagonal inferior se encuentran los valores de  $\Phi_{ST}$ , en la diagonal superior el número de migrantes. Frente a cada valor se encuentran los símbolos (+) o (-) los cuales representan un p-valor significativo y no significativo, respectivamente.

### 5. Discusión

El hallazgo más importante de este trabajo corresponde a la identificación de un linaje evolutivo independiente en la Serranía de los Yarigués, muestreo incluido por primera vez en reconstrucciones de la serie *heterodermus*. Este linaje es fuertemente soportado por los análisis filogenéticos y de genética de poblaciones. Aunque no se puede aproximar con exactitud el evento que propició la divergencia de este linaje, ya que en este trabajo no se realizaron estimaciones de los tiempos de divergencia, las inferencias que aquí se proponen, se basan en las estimaciones realizadas por Vargas-Ramírez y Moreno-Arias (2014), para la serie *heterodermus*.

La divergencia de este clado parece estar estrechamente relacionada a la historia orogénica y topográfica de esta porción de la Cordillera Oriental y posiblemente también a eventos climáticos que ocurrieron durante el Pleistoceno. Algunos eventos que posiblemente jugaron un papel en la formación de este linaje fueron el surgimiento de la estribación montañosa de la Serranía de los Yarigués (Caballero *et al.*, 2013) y el aislamiento de esta por los valles secos de los Ríos Suárez y Chicamocha (Anderson *et al.*, 2016; Horton *et al.*, 2020), los cuales pudieron fragmentar la distribución ancestral de *A. heterodermus* y promover su diversificación (Vargas-Ramírez y Moreno-Arias, 2014). Evidencia del surgimiento de nuevos linajes por la existencia de estas depresiones soportan esta hipótesis (Jara-Muñoz & Zabala-Rivera, 2018; Colmenares-Pinzón, 2021). Otro posible evento pudo haberse dado a partir de cambios en las condiciones climáticas que derivaron en la formación de ambientes propicios que habrían favorecido temporalmente la dispersión y colonización de un pequeño grupo de individuos hacia la Serranía de los Yarigués. En este punto, es fundamental mencionar que la promoción de la divergencia genética inter e intraespecífica en los *Anolis* continentales está fuertemente influenciada por la compleja

reorganización topográfica en las áreas de distribución y la heterogeneidad climática, que resultan en biomas complejos (Weir & Schluter, 2007) (este patrón es especialmente marcado en las regiones tropicales como los Andes del Norte y el Cerrado en Brasil (Guarnizo *et al.*, 2016)). Dichos biomas se componen de distintos tipos de vegetación que, en el caso de los *Anolis* puede determinar la estructura de comunidades de especies y el uso de recursos de algunas poblaciones debido a la competencia dependiendo de sus preferencias, este patrón, posiblemente pudo conducir a adaptaciones microevolutivas en una población de un linaje ancestral de *A. heterodermus*, en respuesta a cambios en los recursos disponibles, a su vez, estas adaptaciones pudieron favorecer la preferencia por determinados hábitats, lo cual se ha relacionado con características morfológicas y factores de comportamiento (Losos, 1994, 2010; Sanger *et al.*, 2008, Stroud & Losos, 2020).

En la porción central de la Cordillera Oriental existen dos linajes diferenciados (Mad/Maj/Con y Tab/Gac/Boy), la divergencia entre estos al parecer pudo estar relacionada al fraccionamiento de un linaje en un periodo glacial del Pleistoceno que restringió algunas poblaciones en zonas más altas, donde la vegetación también se acumuló y posiblemente favoreció la permanencia de estos nuevos grupos de individuos (Hooghiemstra *et al.*, 2006).

Por otro lado, el estatus de especie de algunas de las especies que integran la serie *heterodermus* (*sensu* Castañeda & de Queiroz, 2013) aún es incierto (e.g. *A. nicefori*). Sin embargo, cabe señalar que las relaciones dentro de la serie reportadas en este trabajo concuerdan con las inferidas en estudios previos (Castañeda & de Queiroz, 2013, Poe *et al.*, 2015, 2017; Prates *et al.*, 2017, 2020). Adicionalmente, estos resultados junto con los obtenidos por Vargas-Ramírez y Moreno-Arias en 2014, confirman que *A. heterodermus* representa un complejo de especies crípticas.

Existen cuatro linajes evolutivos independientes de *A. heterodermus* que deben ser considerados como especies candidatas, esto es soportado por las filogenias y los resultados del análisis de estructura genética, por los siguientes puntos: 1) Se conoce que para especies estrechamente relacionadas en el género *Anolis*, la divergencia entre secuencias es superior al 5% para el marcador *ND2* (D'Angiolella *et al.*, 2011; Gartner *et al.*, 2013) y de 3,7-7,1% en *COI* (Hofmann *et al.*, 2019), estos porcentajes de distancia genética fueron superados entre los filogrupos inferidos. 2) El agrupamiento bayesiano dedujo cuatro grupos como el número más probable de subpoblaciones genéticamente diferenciadas, concordando con los resultados filogenéticos y los haplogrupos de la red de parsimonia. 3) La variación genética es mayoritariamente atribuida a la existente entre subpoblaciones, las cuales se encuentran altamente estructuradas y aparentemente no presentan intercambio de material genético entre sí. El linaje que incluye los muestreos de Madrid, Majuy y Conejera podría corresponder a *A. heterodermus sensu stricto*, debido a que estas localidades se encuentran muy cerca de la localidad tipo de la especie (Barbour, 1920).

Dentro del clado compuesto por Gac/Tab/Boy también se recupera a *A. nicefori*, la cual, con base en estos análisis, no sería un grupo monofilético. Es importante resaltar que, en reconstrucciones filogenéticas anteriores, *A. nicefori* solo contaba con dos secuencias de un solo marcador. Adicionando información de muestras de otra localidad los resultados sugieren que podría existir un linaje diferenciado al sur del Cañón del Chicamocha, que presenta distancias genéticas mayores al 9% con respecto al linaje que está geográficamente cercano a la localidad tipo de *A. nicefori* (Dunn, 1944), al norte del Cañón (evidencia adicional en los Anexos B y C), es importante mencionar que esta barrera geográfica ha sido conductora de divergencia de linajes en otros grupos taxonómicos (Muñoz-Ortiz *et al.*, 2015; Arbeláez-Cortés & Trujillo-Arias, 2021). El

linaje correspondiente a la Cordillera Central, aunque es bien soportado por los análisis filogenéticos y poblacionales presenta diferencias entre las estimaciones de las relaciones filogenéticas usando cada marcador por separado y ambos marcadores concatenados con *A. vanzolinii* y *A. inderenae*, esta particularidad puede ser debida a la muy limitada información existente tanto de individuos de *A. heterodermus* de la Cordillera Central como de las especies mencionadas, que pueden estar generando ruido en los análisis filogenéticos e impidiendo la resolución de las relaciones.

## 6. Conclusiones

La adición de nueva información molecular de dos marcadores de especies de la serie *heterodermus* permitió identificar un linaje evolutivo independiente en la Serranía de los Yarigués, con elevada estructura y diferenciación genética respecto a otros linajes de la especie, el cual posiblemente divergió por las condiciones dadas por las características topográficas y climáticas heterogéneas de la Cordillera Oriental de los Andes.

*Anolis heterodermus* representa un complejo de especies crípticas y cada uno de los linajes inferidos deben considerarse como especies potencialmente putativas y candidatas a nuevas especies. *A. heterodermus sensu stricto* corresponde al linaje de la porción media de la Cordillera Oriental.

El estatus de especie de algunas de las especies que integran la serie *heterodermus* (*sensu* Castañeda & de Queiroz, 2013) aún es incierto (e.g. *A. nicefori*).

### 7. Recomendaciones

Para futuros análisis de las relaciones dentro de la serie *heterodermus* es importante ampliar tanto el número de marcadores genéticos como de secuencias que cubran la mayor parte del rango de distribución de cada una de las especies, esto debido a que existe un muestro muy limitado de algunas especies como *A. inderenae*, *A. vanzolinii* y de *A. heterodermus* de la Cordillera Occidental. Esto con el fin de dar más rigor científico a los resultados que se han obtenido y de resolver relaciones que aún continúan siendo problemáticas.

Enfocar nuevos estudios en la evaluación de la taxonomía de *A. nicefori* en función de los hallazgos inferidos en este trabajo.

### Referencias bibliográficas

Aguilar-Cano, J., Mendoza-Cifuentes, H., Ayala-Joya, M. (2018). Dos nuevas especies de árboles molinillo (Magnolia: Magnoliaceae) de la Serranía de los Yariguíes, departamento de Santander, Colombia. *Biota Colombiana* **19** (1), 27-42. <https://doi.org/10.21068/c2018.v19s1a04>

Anderson, V. J., Horton, B. K., Saylor, J. E., Mora, A., Tesón, E., Breecker, D. O., & Ketcham, R. A. (2016). Andean topographic growth and basement uplift in southern Colombia: Implications for the evolution of the Magdalena, Orinoco, and Amazon River systems. *Geosphere* **12** (4), 1235–1256. <https://doi.org/10.1130/GES01294.1>

Arbeláez-Cortés, E., Trujillo-Arias, N. (2021). Role of the Chicamocha River Canyon on the phylogeography of humid montane forest birds in Colombia. *Journal of Avian Biology* **52** (11) <https://doi.org/10.1111/jav.02833>

Código de campo cambiado

Barbour, T. (1920) A note on *Xiphocercus*. *Proc. New England zool. Club* **7**, 61-63.

Beckman EJ, Witt CC (2015) Phylogeny and biogeography of the New World siskins and goldfinches: rapid diversification in the Central Andes. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **87**, 28–45. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2015.03.005>

Código de campo cambiado

Caballero, V., Parra, M., Mora, A.R. (2010). Levantamiento de la Cordillera Oriental de Colombia durante el Eoceno Tardío- Oligoceno Temprano: Proveniencia sedimentaria en el sinclinal de Nuevo Mundo, Cuenca Valle Medio del Magdalena. *Boletín de Geología*. **32** (1), 45-77. Recuperado a partir de <https://revistas.uis.edu.co/index.php/revistaboletindegologia/article/view/1008>

Caballero, V., Mora, A., Quintero, I., Blanco, V., Parra, M., Rojas, L. E., Duddy, I. (2013). Tectonic controls on sedimentation in an intermontane hinterland basin adjacent to inversion structures: the Nuevo Mundo syncline, Middle Magdalena Valley, Colombia. *Geological Society, London, Special Publications* **377** (1), 315–342. <https://doi.org/10.1144/SP377.12>

Código de campo cambiado

Cadena, C.D., Pedraza, C., Brumfield, R. (2016). Climate, habitat associations and the potential distributions of Neotropical birds: Implications for diversification across the Andes. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas Físicas y Naturales* **40** (155), 275-287. <http://dx.doi.org/10.18257/raccefyn.280>

Carnaval, A. C., Waltari, E., Rodrigues, M. T., Rosauer, D., VanDerWal, J., Damasceno, R., Moritz, C. (2014). Prediction of phylogeographic endemism in an environmentally complex biome. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **281**(1792), 20141461. <https://doi.org/10.1098/rspb.2014.1461>

Código de campo cambiado

Carvajal-Quintero, J. D., Escobar, F., Alvarado, F., Villa-Navarro, F. A., Jaramillo-Villa, Ú., & Maldonado-Ocampo, J. A. (2015). Variation in freshwater fish assemblages along a regional elevation gradient in the northern Andes, Colombia. *Ecology and Evolution* **5** (13), 2608–2620. <https://doi.org/10.1002/ece3.1539>

Castañeda, M.R., de Queiroz, K. (2013). Phylogeny of the Dactyloa clade of *Anolis* lizards: New insights from combining morphological and molecular data. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology* **160**, 345–398. <https://doi.org/10.3099/0027-4100-160.7.345>

Código de campo cambiado

Chazot, N., Willmott, K. R., Condamine, F. L., De-Silva, D. L., Freitas, A. V. L., Lamas, G., Elias, M. (2016). Into the Andes: multiple independent colonizations drive montane diversity in the Neotropical clearwing butterflies Godyridina. *Molecular Ecology* **25** (22), 5765–5784. <https://doi.org/10.1111/mec.13773>

Código de campo cambiado

Cheng L, Connor TR, Siren J, Aanensen DM, Corander J (2013). “Hierarchical and spatially explicit clustering of DNA sequences with BAPS software.” *Molecular Biology and Evolution* **30**(5), 1224–1228. <http://dx.doi.org/10.1093/molbev/mst028>.

Código de campo cambiado

Chicangana, G., Kammer, A. (2013). Evolución tectónica de la cordillera oriental de Colombia. 1. Del océano Iapeto a la pangea: una visión preliminar. Segunda parte: Evolución geodinámica. *Geología colombiana* **38**, 75-88. Recuperado a partir de <https://revistas.unal.edu.co/index.php/geocol/article/view/61390>

Colmenares-Pinzón, J.E. (2021). Calling for a reassessment of rodent diversity in Colombia: description of a new species of *Neacomys* (Cricetidae: Oryzomyini) from the Magdalena Valley, with a new phylogenetic hypothesis for the genus and comments on its diversification. *Zootaxa* **4920** (4), 451–494. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4920.4.1>

Código de campo cambiado

D'Angiolella AB, Gamble T, Avila-Pires TCS, Colli GR, Noonan BP, Vitt LJ. (2011). *Anolis chrysolepis* Dumeril and Bibron, 1837 (Squamata: Iguanidae), revisited: molecular phylogeny and taxonomy of the *Anolis chrysolepis* species group. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology* **160**, 35–63. <https://doi.org/10.3099/0027-4100-160.2.35>

Darriba, D., Taboada, G.L., Doallo, R., Posada, D. (2012). jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing CircadiOmics: integrating circadian genomics, transcriptomics, proteomics. *Nature Methods* **9**, 772. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2111>

Código de campo cambiado

De-Silva, D., Elias, M., Willmott, K., Mallet, J. Day, J. (2015). Diversification of clearwing butterflies with the rise of the Andes. *Journal of Biogeography* **49** (1), 44-58. <https://doi.org/10.1111/jbi.12611>

Código de campo cambiado

Donegan, T., Huertas, B., Briceño, E. (2005). Discovery of a population stronghold of Gorgeted Wood-Quail *Odontophorus strophium*, a critically endangered Colombian endemic, with notes on ecology and vocalisations. *Continga* **23**, 74-77.

Donegan, T.M., Avendaño, J.E., Briceño-L, E.R., Luna, J.C., Roa, C., Parra, R., Turner, C., Sharp, M., Huertas, B. (2010). Aves de la Serranía de los Yarigués y tierras bajas circundantes, Santander, Colombia. *Cotinga* **32**, 72-89. Recuperado a partir de <https://www.neotropicalbirdclub.org/wp-content/uploads/2016/10/C32-Donagan-et-al.pdf>

Donegan, T., Avendaño, J., Lambert, F. (2013). A new tapaculo related to *Scytalopus rodriguezii* from Serranía de los Yarigués, Colombia. *Bulletin of the British Ornithologists' Club*, **133** (4), 256-271. Recuperado a partir de <https://boc-online.org/bulletins/downloads/BBOC1334-Donagan.pdf>

Dunn, E. R. (1944). The lizard genus *Phenacosaurus*. *Caldasia* **3**, 57-62. Recuperado a partir de <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/42441>

Excoffier, L. & Lischer, H. E. (2010). Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources* **10**, 564-567. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x>

Gartner, G. E. A., Gamble, T., Jaffe, A. L., Harrison, A., & Losos, J. B. (2013). Left-right dewlap asymmetry and phylogeography of *Anolis lineatus* on Aruba and Curaçao. *Biological Journal of the Linnean Society* **110** (2), 409–426. <https://doi.org/10.1111/bij.12131>

Código de campo cambiado

Graham, C.H., Ron, S.R., Santos, J.C., Schneider, C.J., Moritz, C. (2004). Integrating phylogenetics and environmental niche models to explore speciation mechanisms in dendrobatid frogs. *Evolution* **58**, 1781–1793. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2004.tb00461.x>

Código de campo cambiado

Guarnizo, C. E., Werneck, F. P., Giugliano, L. G., Santos, M. G., Fenker, J., Sousa, L., Colli, G. R. (2016). Cryptic lineages and diversification of an endemic anole lizard (Squamata, Dactyloidae) of the Cerrado hotspot. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **94**, 279–289. <https://doi:10.1016/j.ympev.2015.09.005>

Harmon, L. J. (2003). Tempo and Mode of Evolutionary Radiation in Iguanian Lizards. *Science* **301** (5635), 961–964. <https://10.1126/science.1084786>

Hellmich, W. (1949). Auf der Jagd nach der Paramo-Echse. *DATZ* **2** (5), 89-91

Hofmann, E. P., Nicholson, K. E., Luque-Montes, I. R., Köhler, G., Cerrato-Mendoza, C. A., Medina-Flores, M., ... Townsend, J. H. (2019). Cryptic Diversity, but to What Extent? Discordance Between Single-Locus Species Delimitation Methods Within Mainland Anoles (Squamata: Dactyloidae) of Northern Central America. *Frontiers in Genetics*, **10**. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00011>

Horton, B. K., Parra, M., Mora, A. (2020). Construction of the Eastern Cordillera of Colombia: Insights from the Sedimentary Record. In: Gómez, J. & Mateus-Zabala, D. (editors), *The Geology of Colombia, Volume 3 Paleogene – Neogene. Servicio Geológico Colombiano, Publicaciones Geológicas Especiales* **37**, 67-88. <https://doi.org/10.32685/pub.esp.37.2019.03>

Huertas, B., M., Ríos, C., Le Crom, J. F. (2009). A new species of *Splendeptychia* from the Magdalena Valley in Colombia (Lepidoptera: Nymphalidae: Satyrinae). *Zootaxa* **2014** (1), 51-58. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.2014.1.5>

Hooghiemstra H., Wijninga V.M., Cleef A.M. (2006). The paleobotanical records of Colombia: implications for biogeography and biodiversity. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **96**, 297–325. [https://doi.org/10.3417/0026-6493\(2006\)93\[297:TPROCI\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.3417/0026-6493(2006)93[297:TPROCI]2.0.CO;2)

Hughes C, Eastwood R. (2006). Island radiation on a continental scale: exceptional rates of plant diversification after uplift of the Andes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **103**, 10334–10339. <https://doi.org/10.1073/pnas.0601928103>

Código de campo cambiado

Jackman, T.R., Larson, A., de Queiroz, K., & Losos, J.B. (1999). Phylogenetic relationships and tempo of early diversification of *Anolis* lizards. *Systematics Biology* **48**, 254–285. <https://doi.org/10.1080/106351599260283>

Código de campo cambiado

Jara-Muñoz, O. A., Zabala-Rivera, J.C. (2018). Dos nuevas especies de Begonia (Begoniaceae) de la Serranía de los Yarigués (Santander, Colombia). *Novon: A journal for Botanical Nomenclature* **26** (4), 355–363. <https://doi.org/10.3417/2018226>

Johnson, M. A., Revell, L. J., & Losos, J. B. (2009). Behavioral convergence and adaptive radiation: effects of habitat use on territorial behavior in *Anolis* lizards. *Evolution* **64**(4), 1151–1159. <https://doi:10.1111/j.1558-5646.2009.00881.x>

Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, and Tamura K. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* **35**, 1547–1549. <https://10.1093/molbev/msy096>

Leigh, J., Bryant, D. (2015). POPART: full-feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology and Evolution* **6** (9), 1110-1116. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12410>

Código de campo cambiado

Losos, J. B. (1992). The Evolution of Convergent Structure in Caribbean *Anolis* Communities. *Systematic Biology* **41** (4), 403. <https://doi.org/10.1093/sysbio/41.4.403>

Código de campo cambiado

Losos, J. B. (1994). Integrative Approaches to Evolutionary Ecology: *Anolis* Lizards as Model Systems. *Annual Review of Ecology and Systematics* **25** (1), 467–493. <https://doi:10.1146/annurev.es.25.110194.002343>

Losos, J.B., Jackman, T.R., Larson, A., de Queiroz, K.& Rodriguez-Schettino, L. (1998). Contingency and determinism in replicated adaptative radiations of islands lizards. *Science* **279**, 2115-2118. <https://10.1126/science.279.5359.2115>

Código de campo cambiado

Losos, J. B. (2010). Adaptive radiation, ecological opportunity, and evolutionary determinism. *Nature* **175**, 623–639. <https://doi.org/10.1086/652433>

Código de campo cambiado

Macey, J. R., Larson, A., Ananjeva, N. B., & Papenfuss, T. J. (1997). Evolutionary Shifts in Three Major Structural Features of the Mitochondrial Genome Among Iguanian Lizards. *Journal of Molecular Evolution* **44**(6), 660-674. <https://doi.org/10.1007/pl00006190>

Meneses-Pelayo, E., Ramírez, J.P. (2020). A new species of the genus *Gonatodes* (Squamata: Sauria: Sphaerodactylidae) from the western flank of the Cordillera Oriental in Colombia, with description of its hemipenial morphology. *Zootaxa* **4729** (2), 207-227. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4729.2.4>

Meza-Joya, L., Torres, M. (2016). Spatial diversity patterns of *Pristimantis* frogs in the Tropical Andes. *Ecology and Evolution* **6** (7), 1901-1913. <https://doi.org/10.1002/ece3.1968>

Miller, M., Pfeiffer, W., Schwartz, T. (2012). "Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees". In: Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE), New Orleans, United States of America 14 November 2010, pp. 1–8. <https://doi.org/10.1109/GCE.2010.5676129>

Muñoz-Ortíz, A., Velásquez-Álvarez, C., Guarnizo, C., Crawford, A. (2014). Of peaks and valleys: testing the roles of orogeny and habitat heterogeneity in driving allopatry in mid-elevation frogs (Aromobatidae: *Rheobates*) of the northern Andes. *Journal of Biogeography* **42** (1), 193-205. <https://doi.org/10.1111/jbi.12409>

Código de campo cambiado

Muñoz-Valencia, V., Vélez-Martínez, G., Montoya-Lerma, J., Díaz, F. (2022). Role of the Andean uplift as an asymmetrical barrier to gene flow in the neotropical leaf-cutting ant *Atta cephalotes*. *Biotropica* **54**, 191-204. <https://doi.org/10.1111/2021.03.24.436865>

Myers, N., Mittermeier, R., Mittermeier, C., da Fonseca, G., Kent, J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* **403**, 853-858. <https://doi.org/10.1038/35002501>.

Nagy, Z. T., Sonet, G., Glaw, F., & Vences, M. (2012). First Large-Scale DNA Barcoding Assessment of Reptiles in the Biodiversity Hotspot of Madagascar, Based on Newly Designed *COI* Primers. *PLoS ONE* **7** (3): e34506. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034506>

Nicholson K.E., Crother B.I., Guyer C., Savage J.M. (2012). It is time for a new classification of anoles. *Zootaxa* **3477** 1–108. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3477.1.1>

Código de campo cambiado

Pinto, G., Mahler, D.L., Harmon, L.J., Losos, J.B. (2008). Testing the island effect in adaptative radiation: rates and patterns of morphological diversification in Caribbean and mainland *Anolis* lizards. *Proceedings of the Royal Society B* **275**, 2749-2757. <https://doi.org/10.1098/rspb.2008.0686>

Código de campo cambiado

Poe, S., Latella, I.M., Ayala-Varela, F., Yañez-Miranda, C., Torres-Carvajal, O. (2015). A new species of phenacosaur *Anolis* (Squamata; Iguanidae) from Peru and a comprehensive phylogeny of Dactyloa-clade *Anolis* based on new DNA sequences and morphology. *Copeia* **103**, 639–650. <https://doi.org/10.1643/CH-14-127>

Prates, I., Melo-Sampaio, P.R., Drummond, L.O., Teixeira Jr., M., Rodrigues, M.T., Carnaval, A.C. (2017): Biogeographic links between southern Atlantic Forest and western South America: rediscovery, re-description, and phylogenetic relationships of two rare montane anole lizards from Brazil. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **113**, 49-58. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2017.05.009>

Prates, I., Melo-Sampaio, P. R., de Queiroz, K., Carnaval, A. C., Rodrigues, M. T., & de Oliveira Drummond, L. (2020). Discovery of a new species of *Anolis* lizards from Brazil and its implications for the historical biogeography of montane Atlantic Forest endemics. *Amphibia-Reptilia* **41**(1), 87–103. <https://doi:10.1163/15685381-20191179>

Código de campo cambiado

R Core Team (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

Ronquist, R., Teslenko, M., van der Mark, P., Ayres, D.L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B. Liu, L., Suchard, M.A., Huelsenbeck, J.P. (2012). MrBayes 3.2: Efficient Bayesian Phylogenetic Inference and Model Choice Across a Large Model Space. *Systematic Biology* **61** (3), 539–542. <https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029>

Código de campo cambiado

Roy, M. 1997. Recent diversification in African greenbuls (Pycnonotidae: *Andropadus*) supports a montane speciation model. *Proceedings of the Royal Society London* **264**, 1337-1344. <https://doi.org/10.1098/rspb.1997.0185>

Código de campo cambiado

Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Sánchez-DelBarrio, J. C., Guirao-Rico, S., Librado, P., Ramos-Onsins, S. E. y Sánchez-Gracia, A. (2017). DnaSP 6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Datasets. *Molecular Biology and Evolution* **34**, 3299-3302. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx248>

Código de campo cambiado

RStudio Team (2022). RStudio: Integrated Development Environment for R. RStudio, PBC, Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.

Código de campo cambiado

Sanger, T. J., Losos, J., Gibson-Brown, J. (2008). A Developmental Staging Series for the Lizard Genus *Anolis*: A New System for the Integration of Evolution, Development, and Ecology. *Journal of Morphology* **269**, 129-137. <https://doi.org/10.1002/jmor.10563>

Sedano, R., Burns, K. (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. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2009.02200.x>

Código de campo cambiado


Stamatakis, A. (2014). RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* **30** (9), 1312-1313. <https://doi:10.1093/bioinformatics/btu033>

Stebbins GL (1974) Flowering Plants: Evolution Above the Species Level, p. 399. Arnold XVIII, London

Stephens PR, Wiens JJ (2003) Explaining species richness from continents to communities: the time-for-speciation effect in emydid turtles. *The American Naturalist* **161**, 112-128. <https://doi.org/10.1086/345091>

Stroud, J.T., Losos, J.B. (2020). Bridging the Process-Pattern Divide to Understand the Origins and Early Stages of Adaptive Radiation: A Review of Approaches With Insights From Studies of *Anolis* Lizards. *The Journal of heredity* **111** (1), 1-10. <https://doi.org/10.1093/jhered/esz055>

Código de campo cambiado

Thompson, J., Higgins, D., Gibson, T. (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* **22** (22): 4673-80. doi: 10.1093/nar/22.22.4673. 

Código de campo cambiado

Torres-Carvajal, F., Ayala, F., Carvajal-Campos, A. (2010). Reptilia, Squamata, Iguanidae, *Anolis heterodermus* Duméril, 1851: Distribution extensión, first record for Ecuador and notes on color variation. *Check List Journal of species lists and distribution* **6**, 189-190. <https://doi.org/10.15560/6.1.189>

Uetz, P., Freed, P. & Hosek, J. (eds.). (2022). The Reptile Database, <http://www.reptile-database.org>, accessed [mayo 10 de 2022].

Valderrama, E., Pérez-Emán, J. L., Brumfield, R. T., Cuervo, A. M., & Cadena, C. D. (2014). The influence of the complex topography and dynamic history of the montane Neotropics on the evolutionary differentiation of a cloud forest bird (*Premnoplex brunnescens*, Furnariidae). *Journal of Biogeography* **41**(8), 1533-1546. <https://doi:10.1111/jbi.12317>

Vargas-Ramírez, M., & Moreno-Arias, R. (2014). Unknown Evolutionary Lineages and Population Differentiation in *Anolis heterodermus* (Squamata: Dactyloidae) from the Eastern and

Central Cordilleras of Colombia Revealed by DNA Sequence Data. *South American Journal of Herpetology* **9** (2), 131-141. <https://doi:10.2994/sajh-d-13-00013.1>

Weir, J. T., & Schluter, D. (2007). The Latitudinal Gradient in Recent Speciation and Extinction Rates of Birds and Mammals. *Science* **315** (5818), 1574-1576. <https://science.org/doi/10.1126/science.1135590>

## Apéndices

## Apéndice A

Muestras, número de catálogo y números de acceso en GenBank de los individuos utilizados.

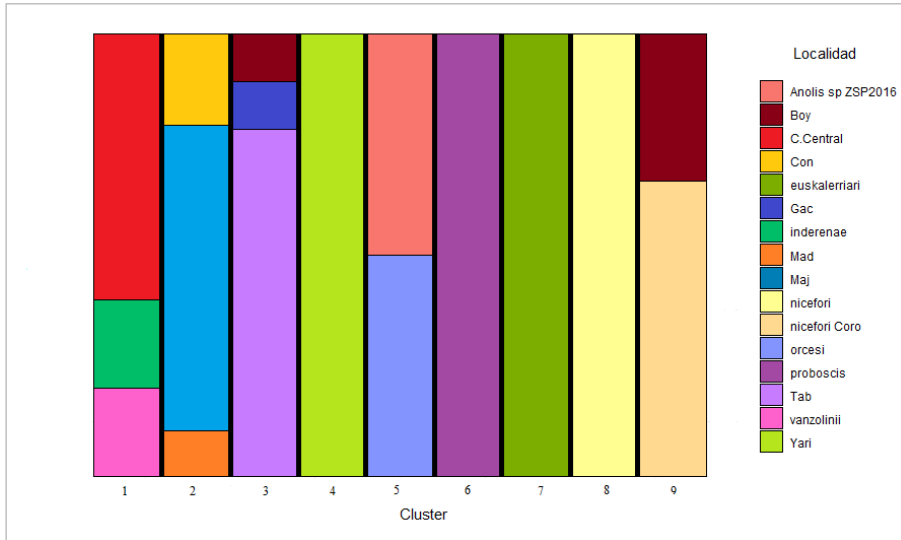
Especie	Localidad	Voucher	Números de acceso GenBank		
			COI	ND2	
<i>A. heterodermus</i>	Serranía de los Yariguíes	UIS-R-3829	Este trabajo		
		UIS-R-3839	Este trabajo		
		UIS-R-3844	Este trabajo	Este trabajo	
		UIS-R-3851	Este trabajo		
		UIS-R-3858	Este trabajo		
		UIS-R-3859	Este trabajo		
		UIS--3864	Este trabajo		
		UIS-CT-00510	Este trabajo		
		UIS-CT-00511	Este trabajo		
		EMP-2817	Este trabajo		
		EMP-2818	Este trabajo		
		EMP-2825	Este trabajo		
		Arcabuco, Boyacá	IAvH-CT-23432	Este trabajo	Este trabajo
		Tutazá, Boyacá	IAvH-CT-24871	Este trabajo	
		Cerinsa, Boyacá	IAvH-CT-24875	Este trabajo	
	Tasco, Boyacá	IAvH-CT-26485	Este trabajo		
	Arcabuco, Boyacá	IAvH-CT-27155	Este trabajo	Este trabajo	
	Tabio, Cundinamarca	MTD-T-10129	KC966794		
		MTD-T-10131	KC966796		
		MTD-T-10132	KC966797		
		MTD-T-10133	KC966798		
		MTD-T-10134	KC966799		
		MTD-T-10135	KC966800		
		MTD-T-10136	KC966801		
		MTD-T-10137	KC966802		
		MTD-T-10138	KC966803		
		MTD-T-10139	KC966804		
		MTD-T-10140	KC966805		
		MTD-T-10141	KC966806	KC966831	
		MTD-T-10142	KC966807		
MTD-T-10143		KC966808			
MTD-T-10144		KC966809			

	MTD-T-10145	KC966810	
	MTD-T-10146	KC966811	
	MTD-T-10147	KC966812	
	MTD-T-10148	KC966813	
	MTD-T-10149	KC966814	
	MTD-T-10150	KC966815	
	MTD-T-10151	KC966816	
	MTD-T-10152	KC966817	
	MTD-T-10153	KC966818	
	MTD-T-10154	KC966819	
	MTD-T-10155	KC966820	
	MTD-T-10156	KC966821	
	MTD-T-10157	KC966822	
	MTD-T-10158	KC966823	
	MTD-T-10126	KC966791	
Gachancipá, Cundinamarca	MTD-T-10127	KC966792	KC966827
	MTD-T-10128	KC966793	
	MTD-T-10130	KC966795	
	MTD-T-10103	KC966768	
	MTD-T-10104	KC966769	KC966828
	MTD-T-10108	KC966773	
	MTD-T-10109	KC966774	
	MTD-T-10110	KC966775	
	MTD-T-10111	KC966776	
	MTD-T-10112	KC966777	
	MTD-T-10113	KC966778	
	MTD-T-10114	KC966779	
Madrid, Cundinamarca	MTD-T-10115	KC966780	
	MTD-T-10116	KC966781	
	MTD-T-10117	KC966782	KC966829
	MTD-T-10118	KC966783	
	MTD-T-10119	KC966784	
	MTD-T-10120	KC966785	
	MTD-T-10121	KC966786	
	MTD-T-10122	KC966787	
	MTD-T-10123	KC966788	
	MTD-T-10124	KC966789	
	MTD-T-10125	KC966790	
Serranía del Majuy, Cundinamarca	MTD-T-10105	KC966770	
	MTD-T-10106	KC966771	
La Conejera, Cundinamarca	MTD-T-10107	KC966772	KC966826
	MTD-T-10096	KC966761	

		MTD-T-10097	KC966762	KC966824
		MTD-T-10098	KC966763	
		MTD-T-10099	KC966764	
		MTD-T-10100	KC966765	KC966825
		MTD-T-10101	KC966766	
		MTD-T-10102	KC966767	
	Palestina, La Guajira, Huila	MRC-145	JN112752	
	El Retiro, Anorí, Antioquia	MHUA-R-11265	JN112751	
	Río Blanco, Manizales, Caldas	MHUA-11396	JN112750	
		J. Renjifo 2537		AF337768
	Santa Bárbara, Santander	UIS-R-3076	Este trabajo	Este trabajo
<i>A. nicefori</i>	Santa Bárbara, Santander	UIS-R-3841	Este trabajo	
	Coromoro, Santander	UIS-R-4826	Este trabajo	
		UIS-R-4827	Este trabajo	
				AF055948
<i>A. vanzolinii</i>	Sucumbios, Ecuador	QCAZ-6926	JN112775	JN112712
		QCAZ-10188		KU316059
	Colombia	JMR-3744	JN112755	
<i>A. inderenae</i>				AY296145
<i>Anolis sp Z SP-2016</i>		QCAZ-10200		
<i>A. orcesi</i>		QCAZ-9692	KU316040	KU316051
		QCAZ-9692	KU316041	KU316052
<i>A. euskalerrari</i>	Serranía del Perijá, Venezuela	MBLUZ-934	JN112737	JN112678
	Serranía del Perijá, Venezuela	MBLUZ-935	JN112738	JN112679
<i>A. proboscis</i>		QCAZ-10211	KU316044	KU316057
<i>A. latifrons</i>	San Luis, Antioquia	MHUA-R-11519	JN112746	JN112685

**Apéndice B**

*Análisis de estructura genética para las especies de la serie heterodermus.*



**Apéndice C**

*Distancia genética entre las dos subpoblaciones de A. nicefori.*

	<i>A. nicefori Santa Bárbara</i>	<i>A. nicefori Coromoro</i>
<i>A. nicefori Santa Bárbara</i>		
<i>A. nicefori Coromoro</i>	9,5	

*Nota.* El valor se encuentra en porcentaje.