

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, Decana de América)

ESCUELA DE POSGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
UNIDAD DE POSGRADO



**Evaluación de la diversidad crítica en anfibios de amplia
distribución en la Amazonia peruana**

TESIS PARA OPTAR AL GRADO ACADÉMICO DE MAGÍSTER EN
ZOOLOGÍA CON MENCIÓN EN SISTEMÁTICA Y EVOLUCIÓN

Bach. Karen Yvette Siu Ting Salvatierra

LIMA – PERÚ

2012

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Christopher Creevey, por su entusiasmo, energía y apoyo constante, el cual ha sido un catalizador en las etapas más críticas del presente proyecto. Al Dr. Andrew Crawford, quien gracias a este trabajo me dio la oportunidad de empezar a trabajar con datos genéticos, lo cual marcó una nueva etapa en mis intereses de estudio. A la Dra. Rina Ramírez, por sus acertadas correcciones, apoyo y entusiasmo para la culminación de este trabajo. Al Mag. César Aguilar, por haber sido un mentor al inicio de este proyecto y en tantos otros, por sus valiosos comentarios a versiones previas del borrador y por haberme dado la oportunidad de aprender y conocer sobre la diversidad de anfibios y reptiles del Perú. A los miembros del jurado, Mag. Hernán Ortega, Mag. César Córdova, Dr. Pablo Ramírez y Dr. Gerardo Lamas, por su apoyo y valiosos comentarios durante la revisión del borrador de la tesis,

Este trabajo no hubiera sido posible sin la valiosísima ayuda, gestiones y muestras de: Rudolf Von May (Asociación para la Conservación de la Cuenca Amazónica), Pablo Venegas y Germán Chávez (Centro de Ornitología y Biodiversidad), Amy Driskell (Smithsonian Institution), Andrea Paz (Univ. de los Andes). Gracias al apoyo constante de los miembros del Dpto. de Herpetología del Museo de Historia Natural de la Univ. Nac. Mayor de San Marcos: Jesús Córdova, Claudia Torres, Juana Suárez, Juan Carlos Cusi, César Ramirez y muy en especial a Alfredo Guzmán por su apoyo en varias fases de la toma de datos y preparación de muestras. A los miembros del Laboratorio de Bioinformática y Evolución Molecular de la Univ. Nac. de Irlanda, Maynooth, en especial a Roberto Feuda, Dr. Davide Pisani y Dr. James McInerney, por facilitar el uso de clusters para algunos de los análisis realizados en este trabajo, e interesantes comentarios. Quiero agradecer también de manera especial a A. Amézquita, Vicky “Dardito” Flechas, Albertina Lima, Walter Hödl, R. Von May, Jusmell Huamán y C. Creevey por su apoyo en el trabajo de campo; y a Jason Brown, Evan Twomey, Alessandro Catenazzi, José Manuel Padial, P. Venegas y G. Chávez por compartir sus valiosos conocimientos de taxonomía. A amigos que de alguna forma apoyaron con ideas e información: Fanny Cornejo, Luis Figueroa, Juan Grados y Pedro Romero.

A las instituciones y personas que apostaron por este proyecto: Smithsonian Institution (secuenciamientos), Prof. Walter Hödl (Univ. de Viena), ACCA (a través de R. Von May), Tambopata Research Society (Beca TReeS), y en especial al CONCYTEC (Beca de Maestría).

Las gestiones administrativas fueron un componente importante en este trabajo. Muchas gracias a K. Ramírez, E. Suárez e I. Arce (DGFFS, MINAG), y a la Sra. Dora Aguilar (UNMSM) por su apoyo.

Finalmente, a mis padres: Amelia y Guillermo, y a mi hermano Edgar, por creer en mí y en mis capacidades. Gracias por su apoyo constante. Este trabajo va dedicado a ustedes.

CONTENIDO

	Pág.
1. Introducción	1
2. Antecedentes	3
3. Objetivos e Hipótesis	5
3.1 Objetivos	5
3.2 Hipótesis	5
4. Materiales y Métodos	6
4.1 Localidades de Muestreo	6
4.2 Método de Muestreo en Campo	7
4.3 Preparación de muestras colectadas	8
4.4 Etapa de revisión de los “ <i>vouchers</i> ”	8
4.5 Etapa de amplificación y secuenciamiento	9
4.6 Ensamblaje y edición de las secuencias	9
4.7 Estrategia de muestreo para el análisis filogenético	10
4.8 Compilación de base de datos y Alineamiento múltiple de secuencias	10
4.9 Análisis filogenético	11
4.9.1 Modelos de sustitución nucleotídica	11
4.9.2 Selección de grupos externos	12
4.9.3 Reconstrucción filogenética	12
4.10 Análisis cualitativo de la morfología	13
5. Resultados	14
5.1. Evaluación del grupo <i>Ameerega</i>	14
5.1.1. Alineamiento y caracterización de secuencias	14
5.1.2. Análisis filogenéticos	16
5.1.2.1. Modelos de sustitución nucleotídica	16
5.1.2.2. Reconstrucción filogenética	16
5.1.3. Distancia genética	20
5.1.4. Análisis morfológico	21
5.2. Evaluación de <i>Oreobates</i> y <i>Pristimantis</i>	22
5.2.1. Alineamiento y caracterización de secuencias	22
5.2.2. Análisis filogenéticos	25

	Pág.
5.2.2.1. Modelos de sustitución nucleotídica	25
5.2.2.2. Reconstrucción filogenética	25
5.2.3. Distancia genética	29
5.2.4. Análisis morfológico	30
5.3. Evaluación de <i>Hypsiboas</i>	32
5.3.1. Alineamiento y caracterización de secuencias	32
5.3.2. Análisis filogenéticos	35
5.3.2.1. Modelos de sustitución nucleotídica	35
5.3.2.2. Reconstrucción filogenética	35
5.3.3. Distancia genética	39
5.3.4. Análisis morfológico	42
5.4. Evaluación del grupo <i>Scinax</i>	47
5.4.1. Alineamiento y caracterización de secuencias	47
5.4.2. Análisis filogenéticos	49
5.4.2.1. Modelos de sustitución nucleotídica	49
5.4.2.2. Reconstrucción filogenética	49
5.4.3. Distancia genética	52
5.4.4. Análisis morfológico	55
6. Discusión	59
6.1. Implicancias taxonómicas: integrando datos genéticos y morfología	59
6.2. Uso de umbrales y determinación de especies candidatas	63
6.3. Ventajas y desventajas del uso del "DNA barcoding" en anfibios	64
6.4. Subestimación de la Biodiversidad y Conservación	65
7. Conclusiones	68
8. Recomendaciones	69
9. Referencias Bibliográficas	70
10. Anexos	

Lista de Figuras

	Pág.
Figura 1. Mapa de ubicación de las localidades de muestreo y procedencia de muestras para el presente estudio.	7
Figura 2. Transiciones y tranversiones comparadas contra las distancias a pares entre las secuencias 16S rRNA de <i>Ameerega</i> .	15
Figura 3. Transiciones y tranversiones comparadas contra las distancias a pares entre las secuencias COI de <i>Ameerega</i> .	16
Figura 4. Filogenia con el gen 16S rRNA de las especies de <i>Ameerega</i> incluidas en el análisis.	17
Figura 5. Filogenia con el gen COI de las especies de <i>Ameerega</i> incluidas en el análisis.	18
Figura 6. Filogenia de los genes 16S rRNA y COI concatenados de las especies de <i>Ameerega</i> incluidas en el análisis.	19
Figura 7. Vista dorsal y ventral de <i>Ameerega altamazonica</i> (a y b), <i>Ameerega rubriventris</i> (c y d), <i>Ameerega</i> sp. (e y f) y <i>Ameerega hahneli</i> (g y h).	22
Figura 8. Transiciones y tranversiones comparadas contra las distancias a pares entre las secuencias 16S rRNA de <i>Oreobates</i> y <i>Pristimantis</i> .	24
Figura 9. Transiciones y tranversiones comparadas contra las distancias a pares entre las secuencias COI de <i>Oreobates</i> y <i>Pristimantis</i> .	24
Figura 10. Filogenia con el gen 16S rRNA de las especies de <i>Pristimantis</i> y <i>Oreobates</i> incluidas en el análisis.	26
Figura 11. Filogenia con el gen COI de las especies de <i>Pristimantis</i> y <i>Oreobates</i> incluidas en el análisis.	27
Figura 12. Filogenia de los genes 16S rRNA y COI concatenados de <i>Pristimantis</i> y <i>Oreobates</i> .	28
Figura 13. Comparación entre poblaciones de <i>Oreobates quixensis</i> .	31
Figura 14. Comparación entre poblaciones de <i>Pristimantis reichlei</i> y <i>Pristimantis danae</i> .	32
Figura 15. Transiciones y tranversiones comparadas contra las distancias a pares entre las secuencias 16S rRNA de <i>Hypsiboas</i> .	34

	Pág.
Figura 16. Transiciones y tranversiones comparadas contra las distancias a pares entre las secuencias COI de <i>Hypsiboas</i> .	34
Figura 17. Filogenia con el gen 16S rRNA de las especies de <i>Hypsiboas</i> incluidas en el análisis.	36
Figura 18. Filogenia con el gen COI de las especies de <i>Hypsiboas</i> incluidas en el análisis.	37
Figura 19. Filogenia de los genes 16S rRNA y COI concatenados de <i>Hypsiboas</i> .	38
Figura 20. Comparación entre poblaciones de <i>Hypsiboas lanciformis</i> .	43
Figura 21. Comparación entre poblaciones de <i>Hypsiboas calcaratus</i>	44
Figura 22. Comparación entre poblaciones de <i>Hypsiboas geographicus</i> .	45
Figura 23. Comparación entre poblaciones de <i>Hypsiboas fasciatus</i>	46
Figura 24. Transiciones y tranversiones comparadas contra las distancias a pares entre las secuencias 16S rRNA de <i>Scinax</i> .	48
Figura 25. Transiciones y tranversiones comparadas contra las distancias a pares entre las secuencias COI de <i>Scinax</i> .	49
Figura 26. Filogenia con el gen 16S rRNA de las especies de <i>Scinax</i> incluidas en el análisis.	50
Figura 27. Filogenia con el gen COI de las especies de <i>Scinax</i> incluidas en el análisis.	51
Figura 28. Filogenia de los genes 16S rRNA y COI concatenados de <i>Scinax</i> .	52
Figura 29. Comparación entre poblaciones de <i>Scinax garbei</i>	56
Figura 30. Comparación entre poblaciones de <i>Scinax ictericus</i> (a – f) y <i>Scinax chiquitanus</i> (g – l).	57
Figura 31. Comparación entre poblaciones de <i>Scinax ruber</i> .	58

Lista de Tablas

	Pág.
Tabla 1. Resumen de secuencias obtenidas en el presente trabajo y obtenidas de trabajos previos para los marcadores 16S rRNA y COI.	11
Tabla 2. Test de saturación mutacional para los genes 16S rRNA y COI en el análisis de <i>Ameerega</i> .	15
Tabla 3. Porcentaje de disimilaridad del gen 16S rRNA entre las poblaciones de <i>Ameerega rubriventris</i> , <i>A. altamazonica</i> , <i>Ameerega</i> sp. de Panguana, y <i>Ameerega</i> sp. de Ivochote.	20
Tabla 4. Porcentaje de disimilaridad del gen 16S rRNA entre las poblaciones de <i>Ameerega hahneli</i> .	21
Tabla 5. Test de saturación mutacional para los genes 16S rRNA y COI en el análisis de <i>Oreobates</i> y <i>Pristimantis</i> .	23
Tabla 6. Porcentaje de disimilaridad del gen 16S rRNA entre las poblaciones de <i>Oreobates quixensis</i> .	29
Tabla 7. Porcentaje de disimilaridad del gen 16S rRNA entre las poblaciones de <i>Pristimantis danae</i> y <i>P. reichlei</i> .	30
Tabla 8. Test de saturación mutacional para los genes 16S rRNA y COI en el análisis de <i>Hypsiboas</i> .	33
Tabla 9. Porcentaje de disimilaridad del gen 16S rRNA entre las poblaciones de <i>Hypsiboas lanciformis</i> .	39
Tabla 10. Porcentaje de disimilaridad del gen 16S rRNA entre las poblaciones de <i>Hypsiboas calcaratus</i> .	40
Tabla 11. Porcentaje de disimilaridad del gen 16S rRNA entre las poblaciones de <i>Hypsiboas fasciatus</i> .	41
Tabla 12. Porcentaje de disimilaridad del gen 16S rRNA entre las poblaciones de <i>Hypsiboas geographicus</i> .	42

	Pág.
Tabla 13. Test de saturación mutacional para los genes 16S rRNA y COI en el análisis de <i>Scinax</i> .	48
Tabla 14. Porcentaje de disimilaridad del gen 16S rRNA entre las poblaciones de <i>Scinax garbei</i> .	53
Tabla 15. Porcentaje de disimilaridad del gen 16S rRNA entre las poblaciones de <i>Scinax ictericus</i> y <i>Scinax chiquitanus</i> .	54
Tabla 16. Porcentaje de disimilaridad del gen 16S rRNA entre las poblaciones de <i>Scinax ruber</i> .	55
Tabla 17. Clasificación de linajes divergentes del presente trabajo siguiendo los criterios de Vieites <i>et al.</i> 2009.	64

Lista de Anexos

Anexo I. Tabla de Secuencias incluidas en los análisis.

Anexo II. Sitios polimórficos informativos observados en el alineamiento de los haplotipos obtenidos con el gen 16S rRNA para el análisis de *Ameerega*.

Anexo III. Sitios polimórficos informativos observados en el alineamiento múltiple de las secuencias del gen 16S rRNA para el análisis de *Ameerega*.

Anexo IV. Sitios polimórficos informativos observados en el alineamiento de los haplotipos obtenidos con el gen COI para el análisis de *Ameerega*.

Anexo V. Sitios polimórficos informativos observados en el alineamiento múltiple de las secuencias del gen COI para el análisis de *Ameerega*.

Anexo VI. Sitios polimórficos informativos observados en el alineamiento de los haplotipos obtenidos con el gen 16S rRNA para el análisis de *Oreobates* y *Pristimantis*.

Anexo VII. Sitios polimórficos informativos observados en el alineamiento múltiple de las secuencias del gen 16S rRNA para el análisis de *Oreobates* y *Pristimantis*. ID=Código de la secuencia, HapID= Código dado para cada haplotipo. Datos de especie, país y localidad son proporcionados.

Anexo VIII. Sitios polimórficos informativos observados en el alineamiento de los haplotipos obtenidos con el gen COI para el análisis de *Pristimantis* y *Oreobates*.

Anexo IX. Sitios polimórficos informativos observados en el alineamiento múltiple de las secuencias del gen COI para el análisis de *Oreobates* y *Pristimantis*.

Anexo X. Sitios polimórficos informativos observados en el alineamiento de los haplotipos obtenidos con el gen 16S rRNA para el análisis de *Hypsiboas*.

Anexo XI. Sitios polimórficos informativos observados en el alineamiento múltiple de las secuencias del gen 16S rRNA para el análisis de *Hypsiboas*.

Anexo XII. Sitios polimórficos informativos observados en el alineamiento de los haplotipos obtenidos con el gen COI para el análisis de *Hypsiboas*.

Anexo XIII. Sitios polimórficos informativos observados en el alineamiento múltiple de las secuencias del gen COI para el análisis de *Hypsiboas*.

Anexo XIV. Sitios polimórficos informativos observados en el alineamiento de los haplotipos obtenidos con el gen 16S rRNA para el análisis de *Scinax*.

Anexo XV. Sitios polimórficos informativos observados en el alineamiento múltiple de las secuencias del gen 16S rRNA para el análisis de *Scinax*.

Anexo XVI. Sitios polimórficos informativos observados en el alineamiento de los haplotipos obtenidos con el gen COI para el análisis de *Scinax*.

Anexo XVII. Sitios polimórficos informativos observados en el alineamiento múltiple de las secuencias del gen COI para el análisis de *Scinax*.

Resumen

El objetivo del presente trabajo fue de evaluar la diversidad críptica de especies de anfibios de amplia distribución en la Amazonia de Perú, usando los marcadores genéticos más utilizados en el código de barras de anfibios (16S rRNA y COI), y tomando como modelo grupos taxonómicos para los cuales hay antecedentes de diferenciación morfológica y de divergencia genética. El enfoque geográfico del estudio estuvo principalmente definido en ocho localidades de la Amazonia de Perú: Jenaro Herrera, Gueppí, Curupa y Redondococha (en el Departamento de Loreto, norte de Perú); Panguana (Departamento de Huánuco, centro de Perú); Los Amigos, Inkaterra y Tambopata (las tres en el Departamento de Madre de Dios, sureste de Perú), abarcando una distancia geográfica de 1000 km de norte a centro y 790 km de centro a sur. Se enfocó el análisis en algunas especies nominales para cinco géneros: *Ameerega*, *Oreobates*, *Pristimantis*, *Hypsiboas* y *Scinax*. Se obtuvo un total de 183 secuencias con el gen 16S rRNA y 181 secuencias con el gen COI en el presente trabajo, las cuales fueron completadas con 407 secuencias del marcador 16S rRNA y 49 secuencias del marcador COI de la literatura. De los análisis filogenéticos se determinó que existe al menos dos linajes divergentes en *Ameerega*, un linaje divergente en *Oreobates*, dos linajes divergentes en *Pristimantis*, ocho en *Hypsiboas* y tres en *Scinax*. En el caso de *Ameerega*, las divergencias entre linajes con el gen 16S rRNA fueron bajas (entre 2% - 3%), mientras que en los linajes obtenidos para *Oreobates*, *Pristimantis*, *Hypsiboas* y *Scinax*, las divergencias tuvieron valores más altos (entre 4% - 8%). Se utilizó los lineamientos de la taxonomía integrativa y el criterio para clasificar linajes divergentes en especies candidatas confirmadas o no confirmadas. Los resultados de los análisis realizados muestran que hay linajes divergentes que podrían constituir especies candidatas, así se encontró un total de siete especies candidatas confirmadas (una del género *Ameerega*, una del género *Oreobates*, y cinco del género *Hypsiboas*) y diez especies candidatas sin confirmar (una del género *Ameerega*, dos del género *Pristimantis*, tres del género *Hypsiboas* y cuatro del género *Scinax*). Los resultados del presente estudio generan nueva e importante información que ayudará a incrementar el conocimiento de la diversidad en anfibios de Perú. Para lograr este fin, será necesario complementar con estudios a futuro que provean más datos de morfología y otros aspectos ecológicos y reproductivos que permitan entender la divergencia entre los grupos estudiados. De esta forma, se podría conseguir mejorar el conocimiento del estado taxonómico de dichas especies nominales.

Palabras clave: diversidad críptica, *Ameerega*, *Oreobates*, *Pristimantis*, *Hypsiboas*, *Scinax*, 16S rRNA, COI, análisis filogenéticos, especies candidatas, Amazonia, anfibios.

Abstract

The present work aimed to evaluate the cryptic diversity of amphibian species of widespread distribution in the Peruvian Amazon based on the most used genetic markers in amphibian barcoding (16S rRNA and COI), and taking taxonomic groups with a history of morphologic differentiation and genetic divergence as study models. The geographic approach of the study was mainly set on eight localities in the Peruvian Amazon: Jenaro Herrera, Gueppí, Curupa and Redondococha (Loreto Region, north of Peru), Panguana (Huanuco region, central Peru), Los Amigos, Inkaterra and Tambopata (all three in the Madre de Dios region, southeast Peru), covering a geographic distance of 1000 km approx. from north to centre and 790 km approx. from centre to south. The research was focused in some nominal species of five genera: *Ameerega*, *Oreobates*, *Pristimantis*, *Hypsiboas* and *Scinax*. A total of 183 16S rRNA sequences and 181 COI sequences were obtained in the present work. These were complemented with 407 16S rRNA sequences and 49 COI sequences from the literature. From the phylogenetic analyses it was found that at least two divergent lineages exist in *Ameerega*, one in *Oreobates*, two in *Pristimantis*, eight in *Hypsiboas* and three in *Scinax*. In *Ameerega*, the 16S rRNA divergences found between lineages were low (between 2% - 3%), while the lineages obtained for *Oreobates*, *Pristimantis*, *Hypsiboas* y *Scinax* had higher divergence values (between 4% - 8%). The work protocols of integrative taxonomy and the definitions of proposed categories of candidate species were used to classify divergent lineages into confirmed or unconfirmed candidate species. The results of the analyses carried out show that there are divergent lineages that could constitute candidate species. A total of seven confirmed candidate species (one from *Ameerega*, one from *Oreobates*, and five from *Hypsiboas*), and ten unconfirmed candidate species (one from *Ameerega*, two from *Pristimantis*, three from *Hypsiboas* and four from *Scinax*) were found. The results of this study provide new and important data that will be helpful in the study and increase of diversity of amphibians in Peru. In order to fulfill this, it is necessary to obtain more data on morphology and other ecological and reproductive aspects that complement the genetic data and that will allow to understand the divergence of the studied groups. This would lead to gain a better knowledge of the taxonomic status of such nominal species.

Key words: cryptic diversity, *Ameerega*, *Oreobates*, *Pristimantis*, *Hypsiboas*, *Scinax*, 16S rRNA, COI, phylogenetic analyses, candidate species, Amazon, amphibians.

1. Introducción

La cuenca amazónica abarca la tercera parte del área del continente sudamericano y alberga la mayor diversidad de vida en la tierra (Duellman 2005). La porción de cuenca amazónica en el Perú es la región con mayor diversidad de anfibios en el país (Lehr 2002; Duellman 2005). En algunos sitios de la Amazonia se han realizado estudios exhaustivos de la diversidad de herpetofauna (Duellman 2005). Estos trabajos han permitido conocer la ocurrencia de especies de amplia distribución a lo largo de la Amazonia. Sin embargo, debido a la baja vagilidad y alta filopatría en anfibios, se esperaría que en este grupo haya una alta estructura geográfica y endemismos (Blaustein *et al.* 1994). A decir verdad, los casos de fragmentación geográfica y genética son tan comunes en anfibios tropicales que Wynn y Heyer (2001) han cuestionado si realmente existen las especies de anfibios tropicales con distribución amplia.

Los estudios de morfología son importantes para el reconocimiento y descripción de especies. Sin embargo, los datos morfológicos no siempre han sido suficientemente útiles, especialmente en casos donde los grupos de estudio presentan caracteres muy conservativos o donde los caracteres resultantes son el producto de una evolución convergente, como se da frecuentemente en los anfibios (Fouquet *et al.* 2007b; Funk *et al.* 2011). La información de la genética molecular puede ayudar a revelar y delimitar linajes de evolución independiente (especies candidatas) dentro de un grupo de muestras con incertidumbre a nivel taxonómico. Además, permite obtener mayores evidencias que apoyen las investigaciones realizadas en campo sobre diversidad de especies y ayudan a acelerar el proceso del descubrimiento de especies (e.g., Köhler *et al.* 2005; Stuart *et al.* 2006).

Irónicamente, la tasa de nuevos descubrimientos incrementa de manera simultánea con la tasa de declive de especies (Lips *et al.* 2006). Esto nos sitúa en una carrera contra el tiempo por caracterizar de manera precisa y conservar la diversidad de anfibios (Hanken 1999). El uso de datos moleculares representa una herramienta importante para lograr estos objetivos. Por ese motivo, el uso de marcadores moleculares como la subunidad 16S del gen ribosomal (16S rRNA) y el gen de la citocromo oxidasa subunidad I (COI), permiten detectar la divergencia de linajes a niveles de especie y subespecie (Vences *et al.* 2005; Hebert *et al.* 2003). En el caso de los anfibios, el gen 16S rRNA es el más utilizado para fines taxonómicos, y representa uno de los marcadores para los que más se ha secuenciado especies. En el caso del gen COI, es reciente su aplicación para estudios de taxonomía y genética de poblaciones, pero tiene la ventaja de que está respaldado por una iniciativa que tiene como fin ayudar al

conocimiento de la biodiversidad, el “*Barcode of Life*” (www.barcodinglife.org/, Ratnasingham y Hebert 2007).

La iniciativa del “*Barcode of Life*” tiene como objetivo fomentar el estudio de la caracterización genética a través de un sitio web que permite el acceso libre, depósito, análisis y publicación de las secuencias génicas, teniendo como gen principal al Citocromo Oxidasa subunidad I (COI), aunque en la actualidad se ha incrementado el repositorio de otros marcadores moleculares. Esta iniciativa busca integrar la taxonomía tradicional basada en datos morfológicos con técnicas genéticas y herramientas nuevas manejando los datos en línea (e.g., Hebert *et al.* 2003; DeSalle *et al.* 2005; Will *et al.* 2005; Hajibabaei *et al.* 2006; Ratnasingham y Hebert 2007). Es en el marco de esta iniciativa, y siguiendo los criterios de la taxonomía integrativa (Dayrat 2005; Vieites *et al.* 2009; Padial *et al.* 2010) que se trabajó con ambos marcadores para evaluar la variación geográfica y genética en algunas especies de anfibios de amplia distribución en Perú, con el fin de probar la ocurrencia de patrones de divergencia y revelar posibles linajes divergentes.

2. Antecedentes

Los trabajos en genética a nivel poblacional en anfibios de la Amazonia son relativamente recientes y han sido manejados con un enfoque integral al complementarse con datos genéticos, morfológicos y reproductivos. Por ejemplo, Funk *et al.* (2007) y Funk *et al.* (2011) trabajaron con las ranas de distribución amazónica *Physalaemus petersi* e *Hypsiboas fasciatus*. En dichos trabajos utilizaron los datos moleculares, de canto y de comportamiento para identificar especies que habían sido descritas en el pasado, pero que en trabajos morfológicos fueron sinonimizadas a ésta. Otro ejemplo es la revisión que se hizo del complejo de *Ameerega hahneli*, un dendrobátido de amplia distribución en la Amazonia, que usando datos genéticos y de canto, lograron distinguir una especie nueva con distribución en San Martín y el norte de Huánuco (Twomey y Brown 2008). Un trabajo reciente con la especie de distribución amplia, *Pristimantis ockendeni*, reveló que contenía tres taxones crípticos que fueron descritos en base a la información molecular y morfológica (Elmer y Cannatella 2008). En el mismo género, *Pristimantis*, Padial y De la Riva (2009) encontraron que las poblaciones de las localidades por debajo de 1500 msnm del sureste de Perú y norte de Bolivia de *Pristimantis peruvianus*, en realidad componen una especie distinta y nueva, *P. reichlei*, y las poblaciones por encima de los 1500 msnm corresponden a *P. danae* y *P. koehleri*. Otros trabajos se han basado en datos de variación morfológica o de preferencia de hábitats en una misma especie de distribución amazónica para hacer una evaluación a nivel de DNA mitocondrial y nuclear. Así, Fouquet *et al.* (2007b) en la evaluación de dos especies de anfibios, *Scinax ruber* y *Rhinella margaritifera*, encontraron que habían hasta seis y once linajes respectivamente, que podían representar especies diferentes. Luego, en un trabajo de mayor escala geográfica, Fouquet *et al.* (2007a), utilizando solamente el marcador 16S rRNA y con un enfoque más orientado a las poblaciones de la Guyana Francesa y Guyana, hallaron que la diversidad de anfibios neotropicales estaba severamente subestimada, además de revelar varios linajes altamente divergentes en anfibios de la cuenca amazónica. De manera similar pero con un enfoque más orientado a las especies de Bolivia y combinando datos de morfología y canto, Jansen *et al.* (2011) encontraron 33 linajes divergentes de los cuales 16 son especies candidatas confirmadas.

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la variación geográfica y genética de algunas especies de anfibios de amplia distribución en la Amazonia que ocurren en dos comunidades de anfibios del centro y sur del Perú. Para alcanzar dicho objetivo, se utilizó un enfoque integrativo (el cual usa diferentes líneas de evidencia) y se hizo varios análisis filogenéticos de algunos de los linajes divergentes encontrados siguiendo los criterios de Vieites *et al.* (2009) y Padial *et al.* (2010). En el trabajo de Vieites *et al.* (2009)

se determinó un criterio con el cual se puede clasificar los linajes divergentes en especies candidatas confirmadas (CCS), especies candidatas sin confirmar (UCS) y linaje coespecífico de divergencia profunda (DCL). La categoría de CCS se aplica cuando hay información morfológica o de algún carácter que genere una barrera reproductiva, y que tengan un porcentaje de divergencia no corregida en el gen 16S rRNA de 3% o más (pero que puede ser incluso de 1-2% en algunos casos). La categoría de UCS se aplica cuando hay linajes que tienen divergencia no corregida de más del 3% (en el gen 16S rRNA) y para los cuales no hay suficiente información en morfología, bioacústica o distribución. La categoría de DCL se aplica cuando la divergencia no corregida en el gen 16S rRNA es de 3% o más, no hay diferencias morfológicas ni de cantos que apoyen la divergencia, pero hay co-ocurrencia con otros haplotipos de divergencia profunda. Vieites *et al.* (2009) usa el umbral de 3% que fue propuesto en un trabajo anterior de Fouquet *et al.* (2007a). El uso de umbrales fue propuesto anteriormente por Vences *et al.* (2005), quienes sugirieron uno de 6%, basado en un estudio de diversidad de anfibios en Madagascar. Aunque se discute el uso de un umbral para delimitar posibles especies candidatas, éste resulta muy útil al ser combinado o evaluado con diferentes líneas de evidencia que indiquen barreras pre-cigóticas (p.ej. diferencias en el canto, aunque esta línea de evidencia también podría representar variaciones ocurrentes entre poblaciones que todavía pueden considerarse como parte de una especie (Amézquita *et al.* 2009; Jansen *et al.* 2011); o patrones de variación en la morfología consistentes entre poblaciones (Vieites *et al.* 2009; Padial *et al.* 2010).

Con el objetivo de buscar linajes divergentes, se hizo comparaciones entre las secuencias obtenidas del muestreo y las ya existentes para la bibliografía para algunos grupos que presentaron variaciones morfológicas o que tuvieran algún problema taxonómico para el cual hubiera datos disponibles.

3. Objetivos e Hipótesis

3.1 Objetivos

3.1.1 Objetivo general

- Evaluar la variación geográfica y genética usando datos de los genes mitocondriales 16S rRNA y COI y datos de morfología externa de algunas especies de anfibios de amplia distribución en la Amazonia para identificar especies morfológicamente crípticas.

3.1.2 Objetivos específicos

- Caracterizar genéticamente las especies de anfibios usando los genes mitocondriales COI y 16S rRNA, las cuales constituyen nuevos datos para trabajos de “*DNA Barcoding*”, y que a su vez serán de utilidad en identificación de especies y taxonomía.
- Analizar la morfología externa de las especies candidatas (aquellas con considerable distancia genética) y caracterizar aquellas potencialmente nuevas.

3.2 Hipótesis

- Sobre la distancia genética y similaridad entre especies de anfibios compartidas en las localidades de estudio:

Ho = Las poblaciones no tienen distancias genéticas significativas que permiten separarlas entre sí. Es decir, las distancias genéticas son menores a un umbral de 3% (con el gen 16S rRNA), y no se agrupan en el análisis filogenético (usando los genes 16S rRNA y COI).

H1 = Las poblaciones presentan distancias genéticas significativas que permiten separarlas entre sí. Es decir, las distancias genéticas son mayores a un umbral de 3% (con el gen 16S rRNA), y se agrupan en el análisis filogenético (usando los genes 16S rRNA y COI).

- Sobre la morfología externa de las especies de anfibios compartidas en las localidades de estudio:

Ho = No se encontrará diferencias conspicuas en la morfología externa entre individuos de poblaciones distintas que hayan presentado distancia genética considerable.

H1 = Se encontrará diferencias conspicuas en la morfología externa entre individuos de poblaciones distintas que hayan presentado distancias genéticas considerables.

4. Materiales y Métodos

4.1 Localidades de Muestreo

El trabajo de campo se realizó en tres localidades con bosque conservado de la Amazonia de Perú: Estación Biológica Panguana (09°36'49.3"S, 74°56'07.8"W; 240m), en el Río Yuyapichis, provincia de Puerto Inca en el departamento de Huánuco, la Estación Biológica Río Los Amigos (Los Amigos) (12°34'07.7"S, 70°06'00.1"W; 270 m) en la unión del Río Los Amigos y el Río Madre de Dios, en la provincia de Manu, y el albergue Inkaterra en el Río Madre de Dios, provincia de Tambopata, en el departamento de Madre de Dios (12°32'11.8"S, 69°02'58.2"W; 202 m) (Figura 1). Las evaluaciones de campo se hicieron: en Panguana entre noviembre del 2007 y enero del 2008; en Los Amigos en enero del 2009; y en Inkaterra en enero del 2010.

Las localidades de Panguana y Los Amigos corresponden a áreas de conservación privadas. Panguana es una propiedad privada que ha sido conservada por más de 40 años por la Familia Koepcke, y es un área de fácil acceso a través del Río Yuyapichis. Los Amigos es una concesión de conservación privada manejada por una ONG (Asociación para la Conservación de la Cuenca Amazónica, ACCA), la cual forma parte de una red de áreas de conservación en los departamentos adyacentes de Cusco y Madre de Dios. En el caso de Inkaterra, ésta es un área privada que es trabajada como albergue ecoturístico y área de conservación, la cual además promueve la investigación de la diversidad en sus áreas y concesiones. Se escogió estas tres localidades para el muestreo en base a dos motivos: 1) dichas áreas cuentan con un inventario de diversidad que se ha construido a lo largo de varios años, lo cual permite tener una mejor idea para la identificación de las especies trabajadas (Schlüter 2005; Von May *et al.* 2009; Duellman 2005); y 2) en dichas áreas se promueve el estudio de biodiversidad y se logró conseguir acceso o financiamiento por parte de las entidades que las manejan.

Ya que el objetivo del estudio implicaba un enfoque de variación geográfica, se escogió incluir algunas localidades en el departamento de Loreto (norte de Perú) y de otra área de importancia en conservación, en el departamento de Madre de Dios, de las cuales hubiese muestras disponibles. De esta forma, se complementó con muestras procedentes del área de Tambopata (12°39'S, 69°10'W; 190 m aprox.), provincia de Tambopata, departamento de Madre de Dios; del área de Gueppí (00°11'S, 75°21'W; 220 m aprox), y las localidades de Curupa (02°53'07.6"S, 73°01'00.1"W; 125 m), Redondococha (00°34'16.7"S, 75°13'09.2"W; 192 m) y Jenaro Herrera (04°53'56.8"S, 73°39'00.1"W; 140 m), todas en la provincia de Maynas, departamento de Loreto (figura 1), las cuales fueron proporcionadas por colegas.



Figura 1. Mapa de ubicación de las localidades de muestreo y procedencia de muestras para el presente estudio.

4.2 Método de Muestreo en Campo

El método para detección de las especies de anfibios que se utilizó es el de relevamiento por encuentros visuales (REV) a manera de búsquedas libres y sin restricciones (Angulo *et al.* 2006), ya que el presente trabajo no tuvo como objetivo estimaciones de abundancia y este método permitió lograr un mayor número de observaciones. De cada espécimen se obtuvo una serie de fotografías y otros datos de

ecología cuando éstos estuvieron disponibles, siguiendo los protocolos de Heyer *et al.* (1994) y Angulo *et al.* (2006).

4.3 Preparación de muestras colectadas

Para la preparación de las muestras colectadas se sacrificó al individuo esparciendo una pequeña cantidad de Benzocaína al 8% en gel sobre el dorso e ingles (en el caso de anuros pequeños) y se inyectó una pequeña cantidad de Halatal en el corazón (en el caso de anuros grandes). Para la obtención de las muestras de tejido para secuenciamiento de DNA, se extrajo una porción de hígado y músculo de los individuos sacrificados (usando pinzas y tijeras de disección esterilizadas) la cual fue fijada en una solución de Dimetil sulfóxido (DMSO) o en alcohol al 96%. Luego, se fijaron los individuos en las posiciones sugeridas por Heyer *et al.* (1994) y sumergidos en una solución de formol al 10%. Posteriormente, se trasladaron los ejemplares a una solución de alcohol al 70% para su preservación final. Las muestras de renacuajos obtenidos se sacrificaron también con anestésico local y se extrajo tejido de la cola o del hígado. La larva se fijó en formol 10% según Altig (1970) después de obtenida la muestra de tejido.

Todos los tejidos obtenidos y el total de ejemplares “*vouchers*” colectados fueron depositados en la colección del Departamento de Herpetología del Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (MUSM). Una copia de los tejidos fueron exportados para ser procesados en el Laboratorio de Biología Analítica del Instituto Smithsonian en Maryland, Estados Unidos.

4.4 Etapa de revisión de los “*vouchers*”

La identificación de las especies se realizó con la ayuda de un estereoscopio Nikon SMZ800 en las instalaciones del Departamento de Herpetología del MUSM. Para la identificación de las especies se utilizó la guía de anfibios por Von May *et al.* (2007), y las descripciones de especies por Schlüter (2005) y Duellman (2005). Además, para las comparaciones se utilizaron especímenes de la colección herpetológica del MUSM.

4.5 Etapa de amplificación y secuenciamiento

Las muestras de tejidos fueron procesadas para la obtención del DNA y amplificadas por PCR siguiendo los protocolos estandarizados en el Laboratorio de Biología Analítica del Instituto Smithsonian, Maryland, Estados Unidos. Se amplificaron las regiones que correspondieron a los segmentos de los genes mitocondriales Citocromo Oxidasa I (COI) y 16S rRNA. La selección de los marcadores está basada en que el gen mitocondrial COI es una secuencia corta (aprox. 600 pares de base) con una tasa de sustitución nucleotídica alta, lo cual la hace sensible a las modificaciones mutacionales que han ocurrido en un tiempo relativamente reciente. La región del gen 16S rRNA, el cual también es de origen mitocondrial, es una secuencia con longitud similar (aprox 600 pares de bases) que posee secciones altamente conservadas y secciones altamente variables, lo cual nos permite analizar cambios en el DNA de linajes un poco más antiguos que las del gen COI. Además, el gen 16S rRNA ha sido el más utilizado en estudios poblacionales de anfibios hace varios años y la secuencia de dicho gen es la más muestreada y disponible en anfibios. Para la amplificación por PCR del gen COI se usaron los primers propuestos por Folmer *et al.* (1994) y usados en el programa del “Barcode of Life”: LCO-1490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3') y HCO-2198 (5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA-3'). Para la amplificación del gen 16S rRNA, se usaron los primers propuestos por Palumbi *et al.* (1991) Sar-L (5'-CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3') y Sbr-H (5'-CCGGTCTGAACTCAGATCACGT-3'). Los fragmentos amplificados de DNA fueron purificados en columnas de Sephadex y resuspendidas en formamida. Los fragmentos luego fueron secuenciados en un secuenciador automatizado ABI 3130 en el Laboratorio de Biología Analítica del Instituto Smithsonian, Maryland, Estados Unidos.

4.6 Ensamblaje y edición de las secuencias

Para el primer conjunto de muestras, las provenientes de Panguana, se analizaron los cromatogramas obtenidos del secuenciador con el programa Sequencher[®], y se procedió a hacer el ensamblaje de las hebras “forward” y “reverse” usando el mismo programa. Para el siguiente conjunto de secuencias (las de Madre de Dios) se procedió a analizar los cromatogramas del siguiente conjunto de muestras, las de Madre de Dios, con los programas Phred[®] y Phrap[®] (P. Green y B. Ewing, ambos programas disponibles a través de los autores). Phred otorga valores de probabilidad para cada pico y asigna la base correspondiente para dicha posición. La ventaja de dichos programas es que permiten hacer el análisis y ensamblaje de las secuencias más rápidamente y con un

alto nivel de confiabilidad, ya que se puede establecer umbrales de calidad para interpretar los cromatogramas y pre-programar el análisis y ensamblaje de las secuencias. Se utilizó los parámetros prefijados del programa. Para ver la calidad de las secuencias se hizo un alineamiento múltiple en MUSCLE (Edgar 2004) para ver si la homología de las secuencias era constante en toda la muestra obtenida, y se hizo un árbol con el algoritmo *Bio-Neighbour Joining* de Gascuel (1997), el cual se basa en las distancias entre secuencias y entre grupos anidados de secuencias, para identificar muestras que fueran discordes con el resto (y que por ende pudieran tener algún error de edición o identificación).

4.7 Estrategia de muestreo para el análisis filogenético

Con el objetivo de buscar linajes divergentes, se hizo comparaciones entre las secuencias obtenidas del muestreo y las ya existentes en las bases de datos para algunas especies que presentaron variaciones morfológicas o que tuvieran algún problema taxonómico para el cual hubiera datos disponibles. Además, se incluyó las especies hermanas y más relacionadas a dichas especies nominales para poder evaluar el monofiletismo de los linajes estudiados.

En concreto, el análisis se dividió de esta forma:

- Especies de *Ameerega* (con énfasis en el grupo de *Ameerega hahneli*, *A. rubriventris* y *A. altamazonica*, con distribución en el Perú).
- *Oreobates* y *Pristimantis* (con énfasis en las especies con distribución en el Perú).
- *Hypsiboas* (con énfasis en las especies del grupo de *Hypsiboas albopunctatus* con distribución en el Perú).
- *Scinax* (con énfasis en las especies con distribución en el Perú).

4.8 Compilación de base de datos y Alineamiento múltiple de secuencias

Los trabajos de donde se obtuvo datos para las comparaciones a nivel molecular fueron: Wiens *et al.* (2010), Padial y De la Riva (2009), Padial *et al.* (2008), Santos *et al.* (2009), Twomey y Brown (2008), Hedges *et al.* (2008), Roberts *et al.* (2006), Faivovich *et al.* (2005), Wiens *et al.* (2005), Vences *et al.* (2003) y Lotters y Vences (2000) todos disponibles en GenBank (Página web: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) (ver tabla 1 y Anexo I). Se reunió un total de 590 secuencias del gen 16S rRNA y 230 secuencias del gen COI, las cuales fueron trabajadas para cada grupo taxonómico que se definió.

Tabla 1. Resumen de secuencias obtenidas del presente trabajo y obtenidas de trabajos previos para los marcadores 16S rRNA y COI.

Análisis	16S rRNA			COI		
	Presente trabajo	Trabajos previos	Total	Presente trabajo	Trabajos previos	Total
<i>Ameerega</i>	54	252	306	47	49	96
<i>Pristimantis</i>	41	78	119	47	0	47
<i>Hypsiboas</i>	38	30	68	36	0	36
<i>Scinax</i>	50	47	97	51	0	51
	183	407	590	181	49	230

Los alineamientos múltiples que combinan las secuencias obtenidas en el presente trabajo y aquellas recabadas de la literatura fueron hechos por separado para cada gen. Se utilizó el programa AQUA v. 1.1 (Muller *et al.* 2010), el cual utiliza los programas MUSCLE (Edgar 2004), MAFFT (Kato 2010) y RASCAL (Thompson *et al.* 2003) para producir alineamientos y selecciona el mejor alineamiento en base a un sistema de puntuaciones establecido por el programa norMD (Thompson *et al.* 2001). Luego, se eliminó las zonas altamente variables del alineamiento con Gblocks (Castresana 2000) para evitar los sitios ambiguos y algunos detalles del alineamiento fueron editados a mano en el editor de alineamientos Jalview (Waterhouse *et al.* 2009). Además, se calculó la distancia genética entre y dentro de los grupos de estudio para los que se enfocó el análisis usando el programa Mega v.4.1 (Tamura *et al.* 2007).

Finalmente, se realizó el análisis de saturación mutacional con el programa DAMBE (Xia y Xie 2001). Se hizo una gráfica del número de transiciones y transversiones que ocurren entre cada combinación de secuencias a pares (ver Resultados).

4.9 Análisis filogenético

4.9.1 Modelos de sustitución nucleotídica

Los modelos de sustitución nucleotídica que mejor describen cada partición de datos fueron hallados usando el programa Modelgenerator (Keane *et al.* 2006). Se tomó en cuenta el criterio que diera mejores valores de Máxima Verosimilitud (ML) y este análisis se realizó para cada gen. Las particiones presentaron el mismo modelo de sustitución nucleotídica (el modelo GTR + gamma).

4.9.2 Selección de grupos externos

Para determinar los grupos externos para cada análisis filogenético se revisó en la literatura qué especies son las más relacionadas y las más distantes para los grupos estudiados. Además, para aprovechar los análisis y las muestras tomadas, también se incluyó en la selección algunas especies de géneros relacionados. Este enfoque nos permite evaluar si las poblaciones de las especies analizadas forman parte de un grupo monofilético o si están más relacionadas con especies hermanas.

Así, en el caso de las especies de *Ameerega* colectadas, para determinar la relación entre éstas y los grupos hermanos más próximos, se incluyó en el análisis a las especies más relacionadas a *Ameerega hahneli* y a *Ameerega altamazonica*, para las cuales hay información de los genes COI y 16S rRNA. Para el análisis de las especies de *Oreobates* y *Pristimantis* colectadas se incluyó a representantes de *Oreobates* y *Pristimantis* más relacionadas a éstas, al igual que para el análisis de las especies de *Hypsiboas* y de *Scinax* colectadas.

4.9.3 Reconstrucción filogenética

Se realizó una primera reconstrucción filogenética con el método de ML por cada gen en cada conjunto taxonómico (para evitar el efecto de datos faltantes en la matriz de datos) usando el programa Phyml 3.0 (Guindon *et al.* 2010). Luego se realizó otro análisis filogenético con el método de ML concatenando los alineamientos de ambos genes para cada grupo taxonómico estudiado. Todos los análisis filogenéticos realizados fueron realizados con 100 iteraciones de *bootstrap* para evaluar el soporte de los nodos. Dado que las topologías para ambos análisis y los índices de soporte no causaron ningún conflicto, se consideró al final el análisis concatenado el cual provee mayor cobertura en el muestreo y mayor resolución en los nodos de los grupos más recientes.

Para la observación de los árboles resultantes se utilizó el programa Figtree v1.3.1 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>) y el programa "Interactive Tree of Life" (Letunic y Bork 2007).

4.10 Análisis cualitativo de la morfología

Se llevó a cabo un análisis cualitativo de la morfología externa de los ejemplares colectados de los grupos para los cuales se encontró divergencias moleculares altas que se reflejaran en las topologías obtenidas de los análisis filogenéticos. Basado en esto, se restringió este análisis en los siguientes grupos taxonómicos: *Ameerega altamazonica*, *Ameerega hahneli*, *Oreobates quixensis*, *Pristimantis reichlei*, *Pristimantis danae*, *Hypsiboas calcaratus*, *Hypsiboas geographicus*, *Hypsiboas fasciatus*, *Hypsiboas lanciformis*, *Scinax garbei*, *Scinax ictericus* y *Scinax ruber*. El fin de este análisis fue el de identificar los especímenes en base a los caracteres utilizados en las descripciones de los taxones evaluados, siguiendo el enfoque de Vieites *et al.* (2009) y Padial *et al.* (2010). Si los ejemplares colectados no coincidían con ninguna de las descripciones, entonces se le asigna la categoría de “sp.”, lo que significa que podría corresponder a una especie candidata que debe luego corroborarse con otra fuente de información.

5. Resultados

5.1 Evaluación del grupo *Ameerega*

5.1.1 Alineamiento y caracterización de secuencias

Se utilizó un total de 306 y 96 secuencias para el análisis filogenético de *Ameerega* con el gen 16S rRNA y COI respectivamente. El Anexo I resume las secuencias incluidas en el presente análisis.

El alineamiento múltiple de las secuencias del gen 16S rRNA resultó en 478 sitios alineados. Las porciones conservadas están entre las posiciones 0-178, 237-298 y 311-478. Se observó presencia de *indels*, *gaps*, y regiones altamente variables predominantemente en la porción media del alineamiento, además de numerosas mutaciones puntuales a lo largo del alineamiento. El alineamiento presentó 262 sitios conservados, 214 sitios variables y 144 sitios informativos.

El alineamiento múltiple de las secuencias del gen COI resultó en 650 sitios alineados. La distribución de las zonas conservadas es más homogénea que la observada en el gen 16S rRNA. Se observó poca presencia de *indels* y *gaps*, y numerosas mutaciones puntuales a lo largo del alineamiento. El alineamiento presentó 386 sitios conservados, 264 sitios variables y 231 sitios informativos.

El test de saturación mutacional realizado en DAMBE muestra que las secuencias de 16S rRNA y COI tienen poca saturación ($p=0.00$, $I_{ss} < I_{ss.c}$, según Xia y Lemey 2009) por lo cual las secuencias obtenidas son útiles para realizar el análisis filogenético (ver tabla 2).

Tabla 2. Test de saturación mutacional para los genes 16S rRNA y COI en el análisis de *Ameerega*. Num OTU= Número de Unidades Taxonómicas Operativas, *Iss* = Índice de saturación mutacional; *Iss.c* = valor crítico en el cual las secuencias pierden señal filogenética, entonces *Iss.cSym* y *Iss.cAsym* son los valores críticos medidos para topologías idealmente simétricas y asimétricas. T = estadístico T de Student, DF = grados de libertad y P= *p-value* son los valores del test estadístico que prueba si el resultado es significativo (P<0.05).

Num OTU	<i>Iss</i>	<i>Iss.cSym</i>	T	DF	P	<i>Iss.cAsym</i>	T	DF	P
Gen 16S rRNA									
4	0.101	0.777	33.492	241	0.0000	0.760	32.628	241	0.0000
8	0.106	0.732	28.592	241	0.0000	0.629	23.869	241	0.0000
16	0.112	0.659	24.190	241	0.0000	0.461	15.423	241	0.0000
32	0.114	0.683	24.712	241	0.0000	0.359	10.647	241	0.0000
Gen COI									
4	0.134	0.786	34.372	376	0.0000	0.756	32.772	376	0.0000
8	0.129	0.740	30.146	376	0.0000	0.629	24.681	376	0.0000
16	0.133	0.697	26.619	376	0.0000	0.488	16.759	376	0.0000
32	0.135	0.689	25.571	376	0.0000	0.359	10.346	376	0.0000

Nota: Se utilizó el test de 2 colas.

El análisis de saturación mutacional muestra que la tasa de transiciones y transversiones en ambos genes (16S rRNA y COI) tienen una distribución similar en las secuencias y no tienen muestra evidente de saturación.

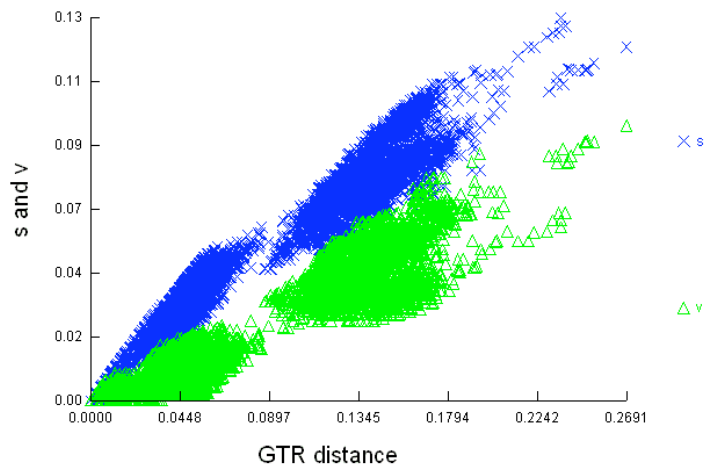


Figura 2. Transiciones y tranversiones comparadas contra las distancias a pares entre las secuencias 16S rRNA de *Ameerega*. s=Transiciones (aspas azules), v=Transversiones (triángulos verdes). El modelo de distancia utilizado fue el de GTR (Tavaré 1986).

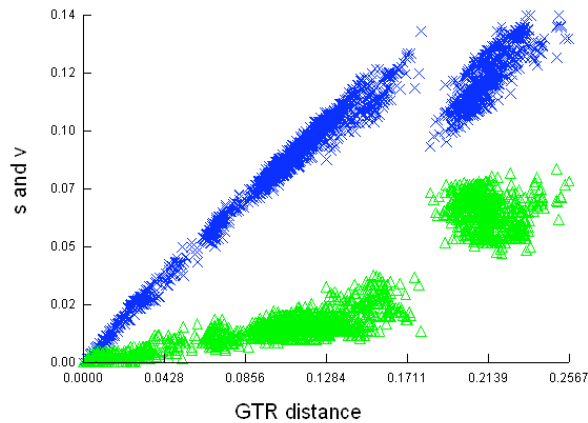


Figura 3. Transiciones y tranversiones comparadas contra las distancias a pares entre las secuencias COI de *Ameerega*. s=Transiciones (aspas azules), v=Tranversiones (triángulos verdes). El modelo de distancia utilizado fue el de GTR (Tavaré 1986).

Al observar los sitios polimórficos informativos de las secuencias del gen 16S rRNA, se encontró 119 haplotipos que agrupan en su mayoría, a las secuencias proveniente de las localidades de colecta de las especies nominales (ver Anexo II y III). De igual manera, con las secuencias del gen COI, se encontró un total de 55 haplotipos, las cuales, en su mayoría, agrupan a las secuencias proveniente de las localidades de colecta de las especies nominales (ver Anexo IV y V).

5.1.2 Análisis filogenético

5.1.2.1 Modelos de sustitución nucleotídica

En el análisis de *Ameerega*, se obtuvo que para el criterio de información Akaike, el modelo de sustitución nucleotídica con mayor valor de ML fue el de GTR + Γ para ambos genes 16S rRNA y COI. El modelo GTR (*General Time Reversible Model* en inglés) es un modelo complejo que asume frecuencias diferentes de las bases nucleotídicas, y diferencias en las tasas de sustitución para cada par de bases. Además, la distribución *gamma* (Γ) es usada para modelar la tasa de variación entre sitios.

5.1.2.2 Reconstrucción filogenética

El árbol obtenido con el método de ML para el gen 16S rRNA (Figura 4) nos da como resultado que la especie *Ameerega altamazonica* (clado verde) está más relacionada a *A. rubriventris* (clado amarillo). *Ameerega* sp. de la localidad de Panguana

es la especie hermana del clado formado por las dos anteriores (clado rojo). La especie nominal *Ameerega hahneli* (clado morado) aparece más relacionada a *Ameerega puchripecta* (ver Figura 4).

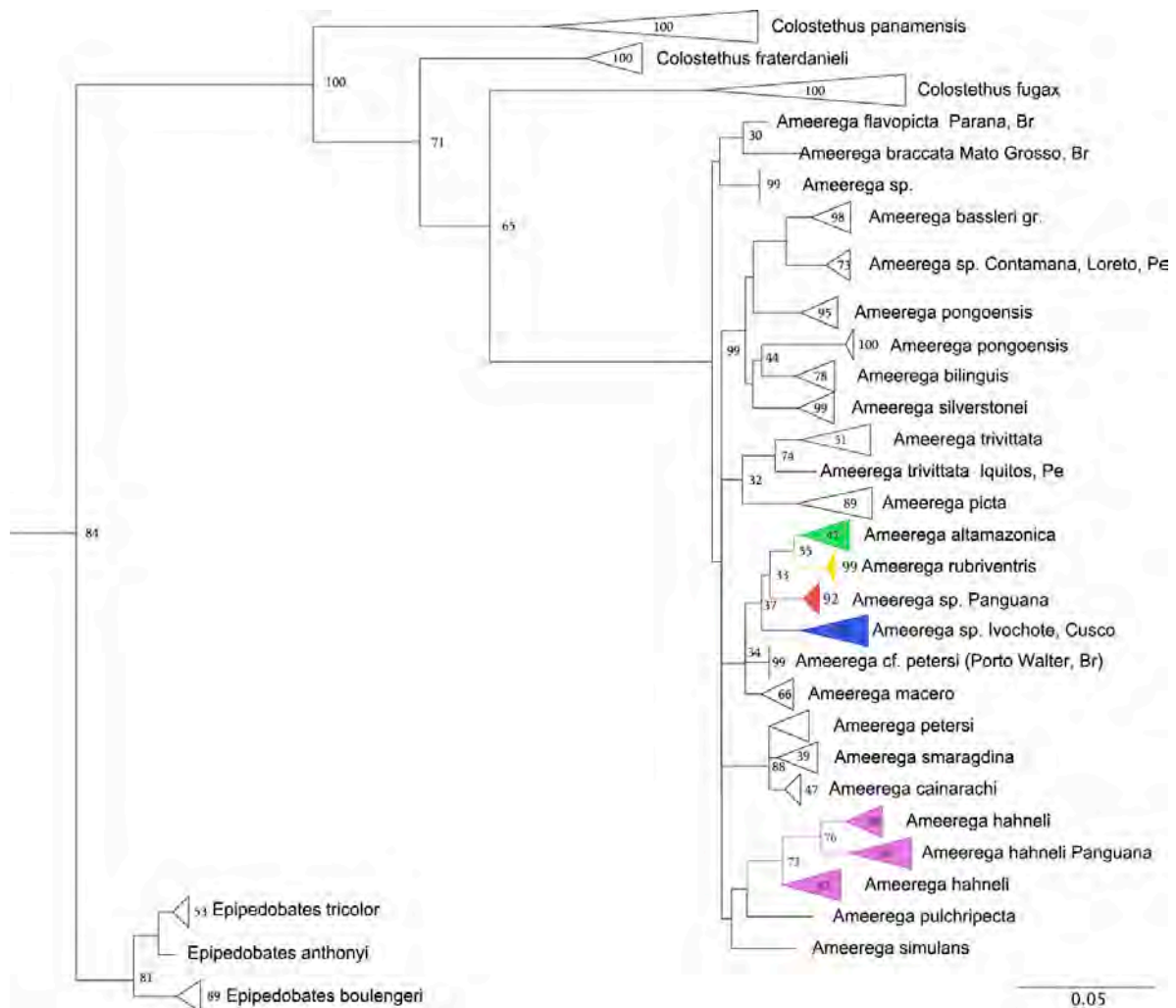


Figura 4. Filogenia con el gen 16S rRNA de las especies de *Ameerega* incluidas en el análisis. Nodos sin valores de soporte representan valores de *bootstrap* < 30%. En rojo, el clado de *Ameerega* sp. de la localidad de Panguana, Huánuco; en verde el clado de *Ameerega altamazonica*; en amarillo el clado de *Ameerega rubriventris*, la especie hermana de *Ameerega altamazonica*; en azul el clado de *Ameerega* sp. de Ivochote; en morado el clado de la especie nominal *Ameerega hahneli*. La escala representa 5 sustituciones por cada 100 nucleótidos.

El árbol obtenido para el gen COI (figura 5) muestra que la población de *Ameerega* sp. de Panguana se agrupa con *A. trivittata*, en un clado separado del conformado por las poblaciones de la especie nominal *Ameerega hahneli*. No se pudo incluir a *A. altamazonica* en este análisis porque no existen secuencias de este gen disponibles. Este análisis también muestra que la especie nominal *Ameerega hahneli*

(clado morado) tiene seis grupos distintos que corresponden a zonas geográficas distintas: Panguana (centro de Perú), Leticia (sureste de Colombia), Porto Walter (oeste de Brasil), Madre de Dios (sureste de Perú), Manaus (norte de Brasil) y Jenaro Herrera (noreste de Perú).

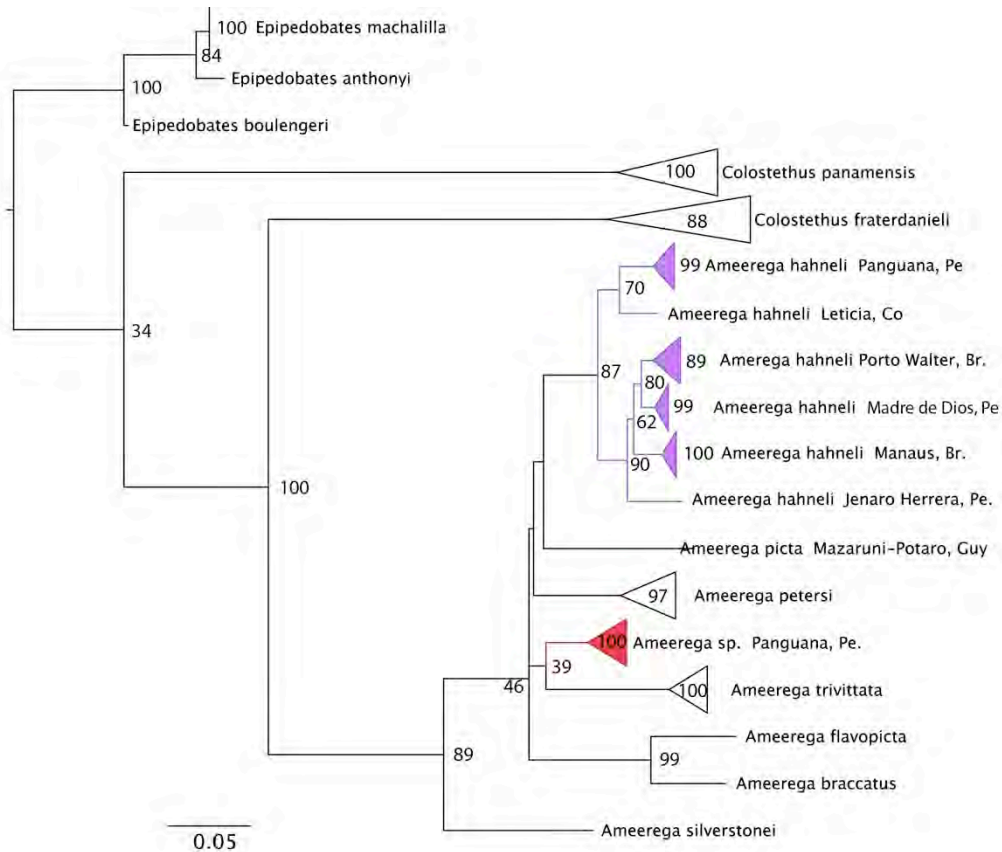


Figura 5. Filogenia con el gen COI de las especies de *Ameerega* incluidas en el análisis. Nodos sin valores de soporte representan valores de *bootstrap* < 30%. En rojo, el clado de *Ameerega* sp. de la localidad de Panguana, Huánuco; en morado el clado de la especie nominal *Ameerega hahneli*. La escala representa 5 sustituciones por cada 100 nucleótidos.

Dado que los modelos de sustitución nucleotídica son los mismos, es viable concatenar las secuencias de los genes analizados. El análisis filogenético concuerda con los resultados de la filogenia del gen 16S rRNA y aquellos para los que hay datos en COI (figura 6). *Ameerega* sp. de Panguana aparece como una especie más relacionada a *Ameerega altamazonica* y a *A. rubriventris*, siendo la especie hermana del clado conformado por las dos anteriores, mientras que *A. hahneli* aparece más relacionada a *A. pulchripsecta*.

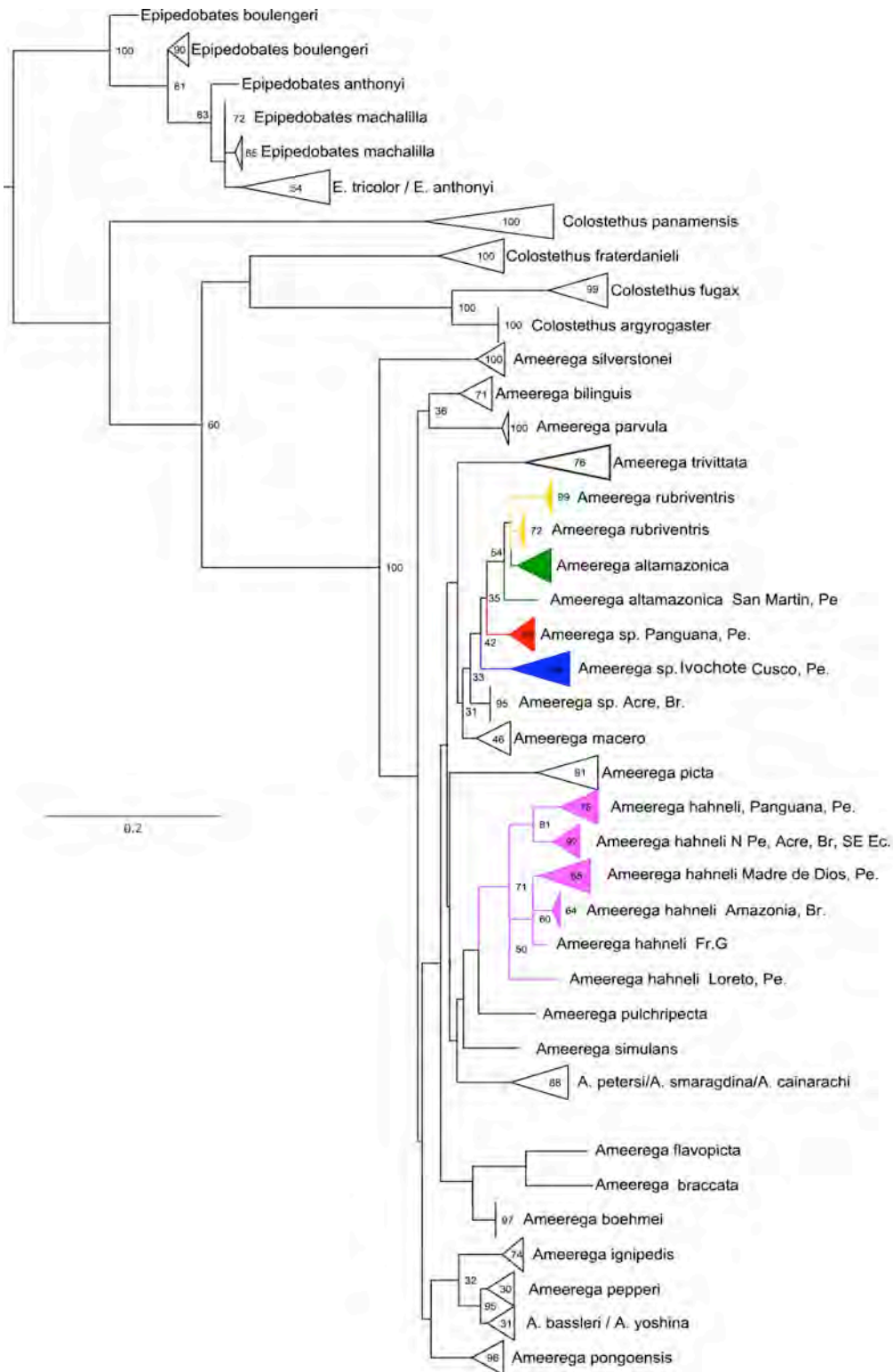


Figura 6. Filogenia de los genes 16S rRNA y COI concatenados de las especies de *Ameerega* incluidas en el análisis. Nodos sin valores de soporte representan valores de *bootstrap* < 30%. En rojo, el clado de *Ameerega* sp. de la localidad de Panguana, Huánuco; en verde el clado de *Ameerega altamazonica*; en amarillo el clado de *Ameerega rubriventris*, la especie hermana de *Ameerega altamazonica*; en azul el clado de *Ameerega* sp. de Ivochote; en morado el clado de la especie nominal *Ameerega hahneli*. La escala representa 2 sustituciones por cada 10 nucleótidos.

5.1.3 Distancia genética

Se midió la distancia genética del gen 16S rRNA entre las poblaciones de las especies nominales *Ameerega altamazonica*, *A. rubriventris*, *Ameerega* sp. de Panguana, Huánuco y *Ameerega* sp. de Ivochote, Cusco. De éste se observa que los porcentajes de disimilaridad entre todos estos grupos están entre 1.50% y 3.63% (ver tabla 3). Además se midió la distancia genética entre las poblaciones asignadas a *Ameerega hahneli*, y de éste se observó que los porcentajes de disimilaridad están entre 0.00% y 3.38% (ver tabla 4). Cabe destacar que el porcentaje de disimilaridad promedio del clado de *A. hahneli* es de 1.78% (un valor bastante bajo), por lo que se consideró que no era necesario medir las distancias entre clados.

Tabla 3. Porcentaje de disimilaridad del gen 16S rRNA entre las poblaciones de *Ameerega rubriventris*, *A. altamazonica*, *Ameerega* sp. de Panguana, y *Ameerega* sp. de Ivochote. Valores corresponden al promedio clado (el cual en este caso representa la localidad). Valores en diagonal representan los porcentajes de disimilaridad dentro de cada localidad o grupo.

	rubriventris	altamazonica	sp. Panguana	sp. Ivochote
rubriventris	0.14			
altamazonica	1.50	0.60		
sp. Panguana	2.57	2.21	0.31	
sp. Ivochote	3.63	2.66	3.16	1.67

Tabla 4. Porcentaje de disimilaridad del gen 16S rRNA entre las poblaciones de *Ameerega hahneli* (clado morado). Valores corresponden al promedio por localidad. Valores en diagonal representan los porcentajes de disimilaridad dentro de cada localidad o grupo. Abreviaciones: SE=Sureste; Ec=Ecuador; Co=Colombia; Br=Brasil; Bo=Bolivia; FrG=Guyana Francesa; M_de_Dios=Madre de Dios; NC= No calculable, al tener sólo una secuencia.

	SE-Ec	SE-Co	Loreto	San Mrtn	Hnco.	Br-Amzn	FrG	Br-Acre	MDios	Ucyl	Csco	Bo-Cbja
SE-Ec	0.56											
SE-Co	1.46	NC										
Loreto	2.30	1.83	2.34									
SanMartín	1.46	0.84	1.62	NC								
Huánuco	2.07	2.39	2.47	2.37	0.34							
Br-Amazonas	2.96	2.54	1.95	2.69	2.62	0.10						
FrG	2.93	2.09	1.78	2.09	2.79	0.63	NC					
Br-Acre	3.23	2.81	2.00	2.96	2.87	0.76	0.90	0.42				
M_de_Dios	3.38	2.96	2.07	3.16	2.62	0.94	1.10	0.77	0.10			
Ucayali	3.35	2.93	2.04	2.93	2.64	0.93	1.12	0.76	0.12	0.14		
Cusco	3.14	2.72	1.88	2.72	2.55	0.84	1.05	0.69	0.05	0.07	NC	
Bo-Cobija	3.14	2.72	1.88	2.72	2.58	0.84	1.05	0.69	0.03	0.07	0.00	NC

5.1.4 Análisis morfológico

Se revisó el patrón de coloración de los especímenes de *Ameerega altamazonica*, *Ameerega hahneli*, *Ameerega* sp. y *Ameerega rubriventris*. De este resultado, se encontró que la mayor distinción entre las cuatro se encuentra en el patrón de coloración: teniendo *A. altamazonica* un patrón de coloración más parecido al de *Ameerega* sp. de Panguana. Sin embargo, el primero presenta un patrón marmoleado con manchas azules pequeñas en el vientre, mientras que la población de Panguana presenta manchas casi blancas y más grandes. Ambas se distinguen de *Ameerega rubriventris* en el patrón de coloración ventral, el cual es marmoleado también en esta última, pero de color anaranjado (ver figura 7).

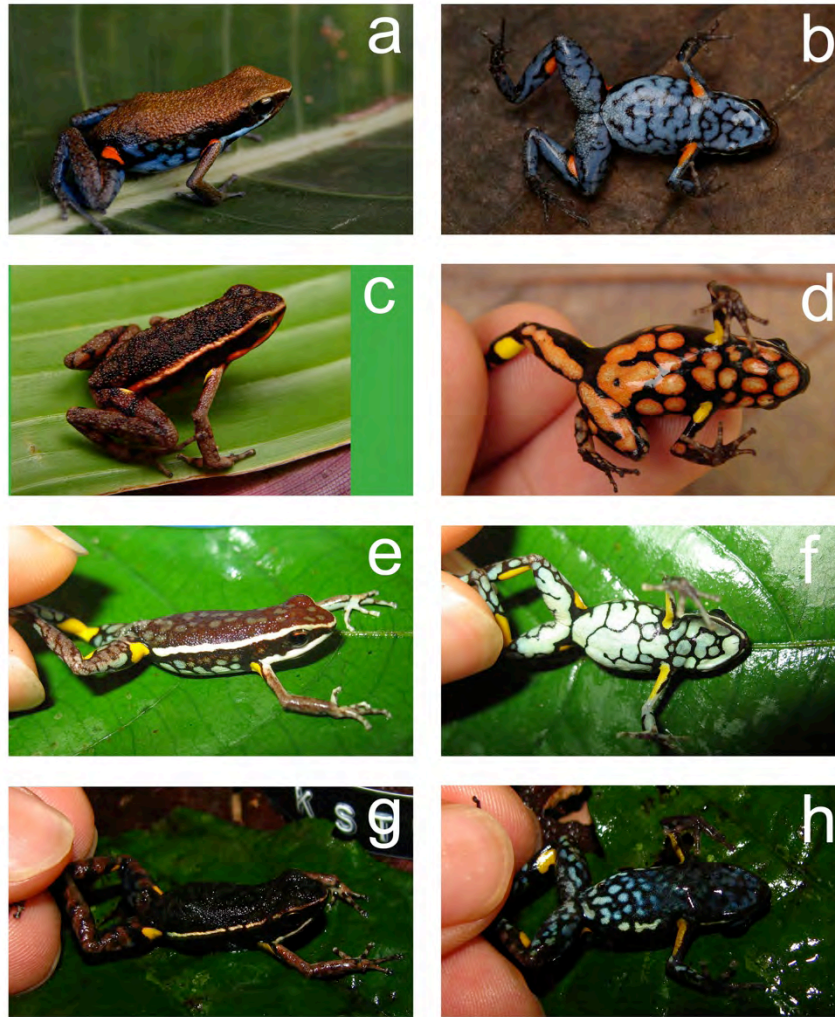


Figura 7. Vista dorsal y ventral de *Ameerega altamazonica* (a y b), *Ameerega rubriventris* (c y d), *Ameerega* sp. (e y f) y *Ameerega hahneli* (g y h). Fotos a y b: cortesía E. Twomey, c y d: cortesía J. Brown (www.dendrobates.org).

5.2 Evaluación de *Oreobates* y *Pristimantis*

5.2.1 Alineamiento y caracterización de secuencias

Se utilizó un total de 119 secuencias del gen 16S rRNA y 47 secuencias del gen COI para el análisis filogenético de *Oreobates* y *Pristimantis*. El Anexo I resume las secuencias incluidas en el presente análisis.

El alineamiento múltiple de las secuencias del gen 16S rRNA resultó en 496 sitios alineados. Las porciones conservadas están entre las posiciones 0-111, 178-218 y 350-496. Se observó presencia de *indels*, *gaps*, y regiones altamente variables

predominantemente en la porción media del alineamiento, además de numerosas mutaciones puntuales a lo largo del alineamiento. El alineamiento presentó 264 sitios conservados, 232 sitios variables y 199 sitios informativos.

El alineamiento múltiple de las secuencias del gen COI resultó en 640 sitios alineados. La distribución de las zonas conservadas es más homogénea que la observada en el gen 16S rRNA. Se observó regiones variables en la parte inicial y final del alineamiento (más debido a la falta de datos), poca presencia de *indels* y *gaps*, y numerosas mutaciones puntuales a lo largo del alineamiento. El alineamiento presentó 342 sitios conservados, 298 sitios variables y 264 sitios informativos.

El test de saturación mutacional realizado en DAMBE muestra que las secuencias de 16S rRNA y COI tienen poca saturación (valores de p son todos menores a 0.025, y el valor de $I_{ss} < I_{ss.c}$, según Xia y Lemey 2009), por lo cual son útiles para realizar el análisis filogenético (ver tabla 5).

Tabla 5. Test de saturación mutacional para los genes 16S rRNA y COI en el análisis de *Oreobates* y *Pristimantis*. Num OTU= Número de Unidades Taxonómicas Operativas, I_{ss} = Índice de saturación mutacional; $I_{ss.c}$ = valor crítico en el cual las secuencias pierden señal filogenética, entonces $I_{ss.cSym}$ y $I_{ss.cAsym}$ son los valores críticos medidos para topologías idealmente simétricas y asimétricas. T = estadístico T de Student, DF = grados de libertad y P= *p-value*, son los valores del test estadístico que prueba si el resultado es significativo ($P < 0.05$).

Num OTU	I_{ss}	$I_{ss.cSym}$	T	DF	P	$I_{ss.cAsym}$	T	DF	P
=====									
Gen 16S rRNA									
4	0.170	0.778	23.866	263	0.0000	0.758	23.055	263	0.0000
8	0.169	0.732	20.552	263	0.0000	0.627	16.701	263	0.0000
16	0.168	0.667	17.734	263	0.0000	0.465	10.555	263	0.0000
32	0.170	0.682	17.996	263	0.0000	0.356	6.518	263	0.0000
Gen COI									
4	0.237	0.780	19.094	290	0.0000	0.756	18.254	290	0.0000
8	0.222	0.733	16.345	290	0.0000	0.626	12.907	290	0.0000
16	0.225	0.675	13.371	290	0.0000	0.470	7.296	290	0.0000
32	0.225	0.682	13.163	290	0.0000	0.354	3.702	290	0.0003
=====									

Nota: Se utilizó el test de 2 colas.

El análisis de saturación mutacional muestra que la tasa de transiciones y transversiones en ambos genes (16S rRNA y COI) tienen una distribución similar en las secuencias y no tienen muestra evidente de saturación.

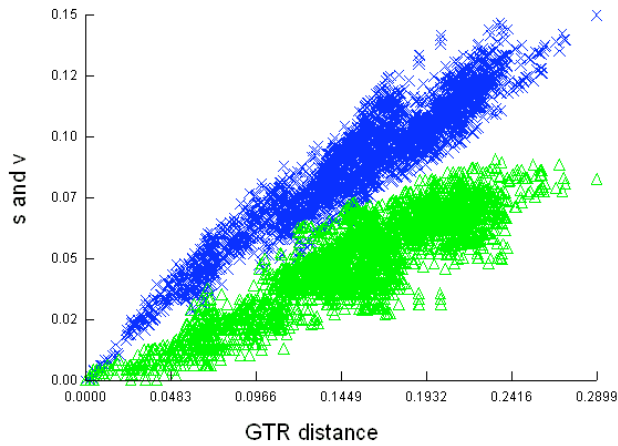


Figura 8. Transiciones y tranversiones comparadas contra las distancias a pares entre las secuencias 16S rRNA de *Oreobates* y *Pristimantis*. s=Transiciones (aspas azules), v=Transversiones (triángulos verdes). El modelo de distancia utilizado fue el de GTR (Tavaré 1986).

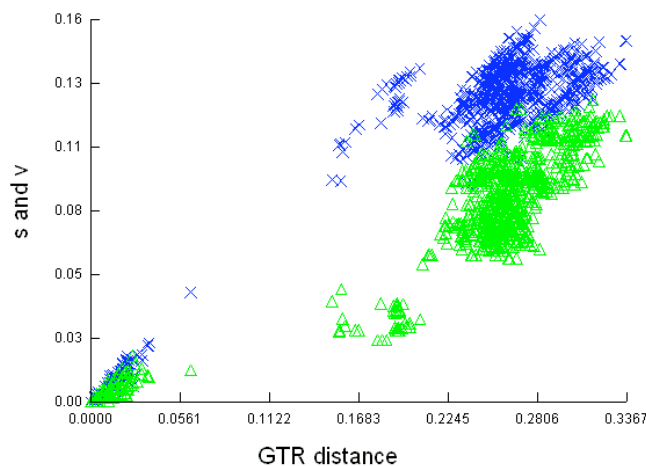


Figura 9. Transiciones y tranversiones comparadas contra las distancias a pares entre las secuencias COI de *Oreobates* y *Pristimantis*. s=Transiciones (aspas azules), v=Transversiones (triángulos verdes). El modelo de distancia utilizado fue el de GTR (Tavaré 1986).

Al observar los sitios polimórficos informativos de las secuencias del gen 16S rRNA, se encontró 65 haplotipos que agrupan, en su mayoría, a las secuencias según los respectivos sitios de colecta (ver Anexos VI y VII). De igual manera, con las secuencias del gen COI, se encontró un total de 22 haplotipos, las cuales, en su mayoría, agrupan a las secuencias según los respectivos sitios de colecta (ver Anexos VIII y IX).

5.2.2 Análisis filogenéticos

5.2.2.1 Modelos de sustitución nucleotídica

En el análisis de *Oreobates* y *Pristimantis*, se obtuvo que para el criterio de Akaike, el modelo de sustitución nucleotídica con mayor valor de Máxima verosimilitud fue el de GTR + Γ para ambos genes 16S rRNA y COI. El modelo GTR (*General Time Reversible Model* en inglés) es un modelo complejo que asume frecuencias diferentes de las bases nucleotídicas, y diferencias en las tasas de sustitución para cada par de bases. Además, la distribución *gamma* (Γ) es usada para modelar la tasa de variación entre sitios.

5.2.2.2 Reconstrucción filogenética

En el árbol obtenido con el método de ML para el gen 16S rRNA (Figura 10) es posible ver que las poblaciones de *Oreobates quixensis* del SE de Perú y del NO de Bolivia (clado celeste) se agrupan con la muestra de Loreto, N de Perú, con valores de soporte bajos. La población de *O. quixensis* de Panguana (centro de Perú) constituye un grupo hermano para este clado. También se observa, que para el caso de *Pristimantis reichlei* (clados anaranjado y verde) y *P. danae* (clados morados), los clados se agrupan por localidades con un alto valor de soporte y las ramas de dichos clados son largas (las ramas largas representan un número alto de sustituciones nucleotídicas, las cuales pueden interpretarse como diferencias acumuladas). Sin embargo, los valores de soporte de los nodos, los cuales determinan las posiciones de dichos clados en la topología, son bajos (figura 10). Según la topología final obtenida con este gen, *P. reichlei* (representada por los clados color anaranjado y verde) se anida en la especie nominal *Pristimantis danae* (clados con color morado), lo cual sugiere que *P. danae* sea una especie polifilética.

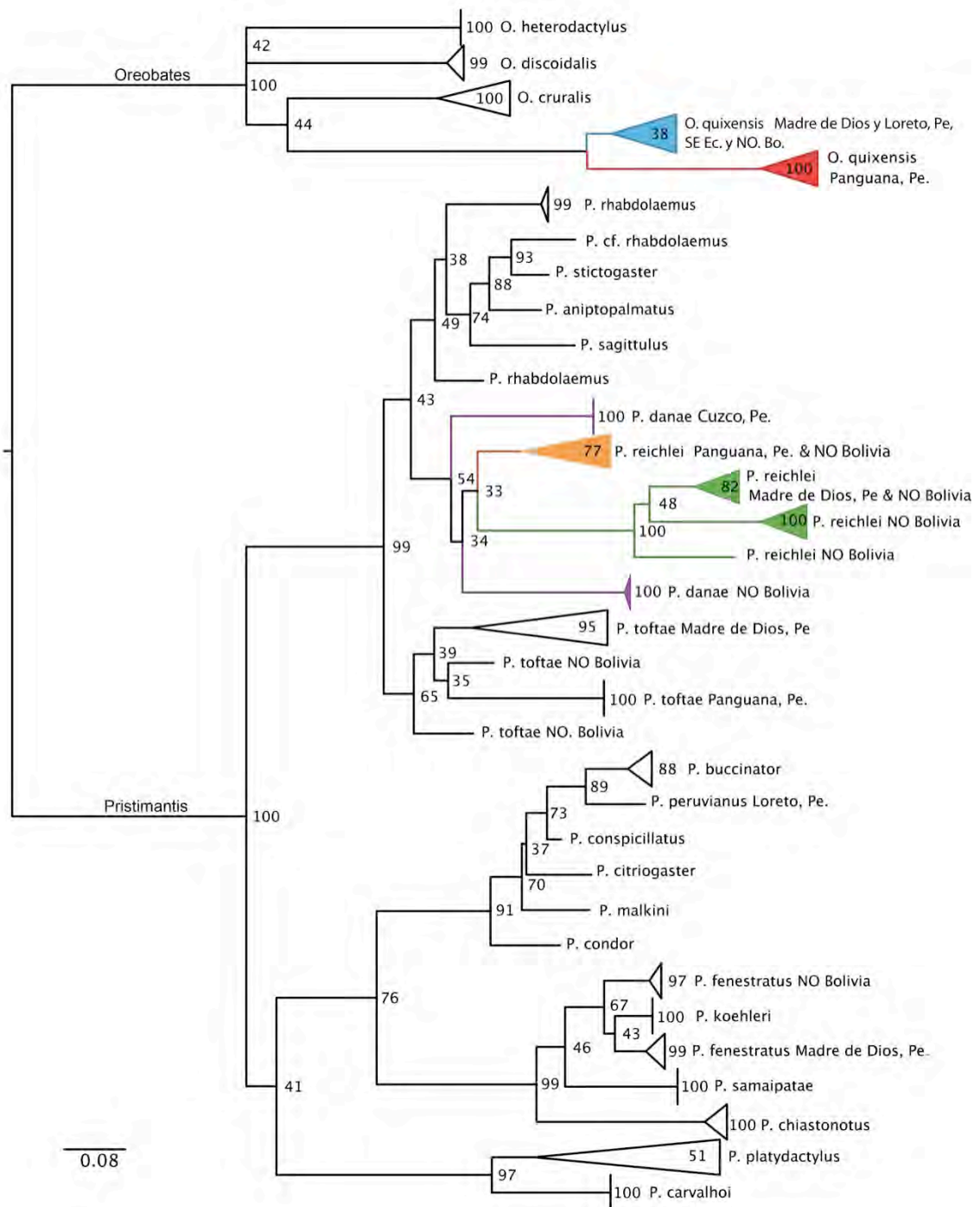


Figura 10. Filogenia con el gen 16S rRNA de las especies de *Pristimantis* y *Oreobates* incluidas en el análisis. Nodos sin valores de soporte representan valores de *bootstrap* < 30%. En rojo, el clado de *Oreobates quixensis* de la localidad de Panguana, Huánuco; en celeste la rama que representa la muestra de *O. quixensis* de Madre de Dios y la población de Loreto. En morado los clados de las poblaciones putativas de *Pristimantis danae*; en anaranjado, el clado de la población de *Pristimantis reichlei* de Panguana y en verde la población de *P. reichlei* de Madre de Dios. La escala representa 8 sustituciones por cada 100 nucleótidos.

El árbol obtenido para el gen COI muestra que, como lo observado con el gen 16S rRNA, la población de *Oreobates quixensis* de Panguana no se agrupa en el clado formado por las poblaciones de Madre de Dios y Loreto en Perú. De este resultado también se observa que a pesar de que la población de *O. quixensis* de Loreto se agrupa con la de Madre de Dios, éstas tienen ramas largas que representarían un mayor número de sustituciones nucleotídicas (lo cual se puede interpretar como diferencias acumuladas entre ambos clados, ver figura 11).

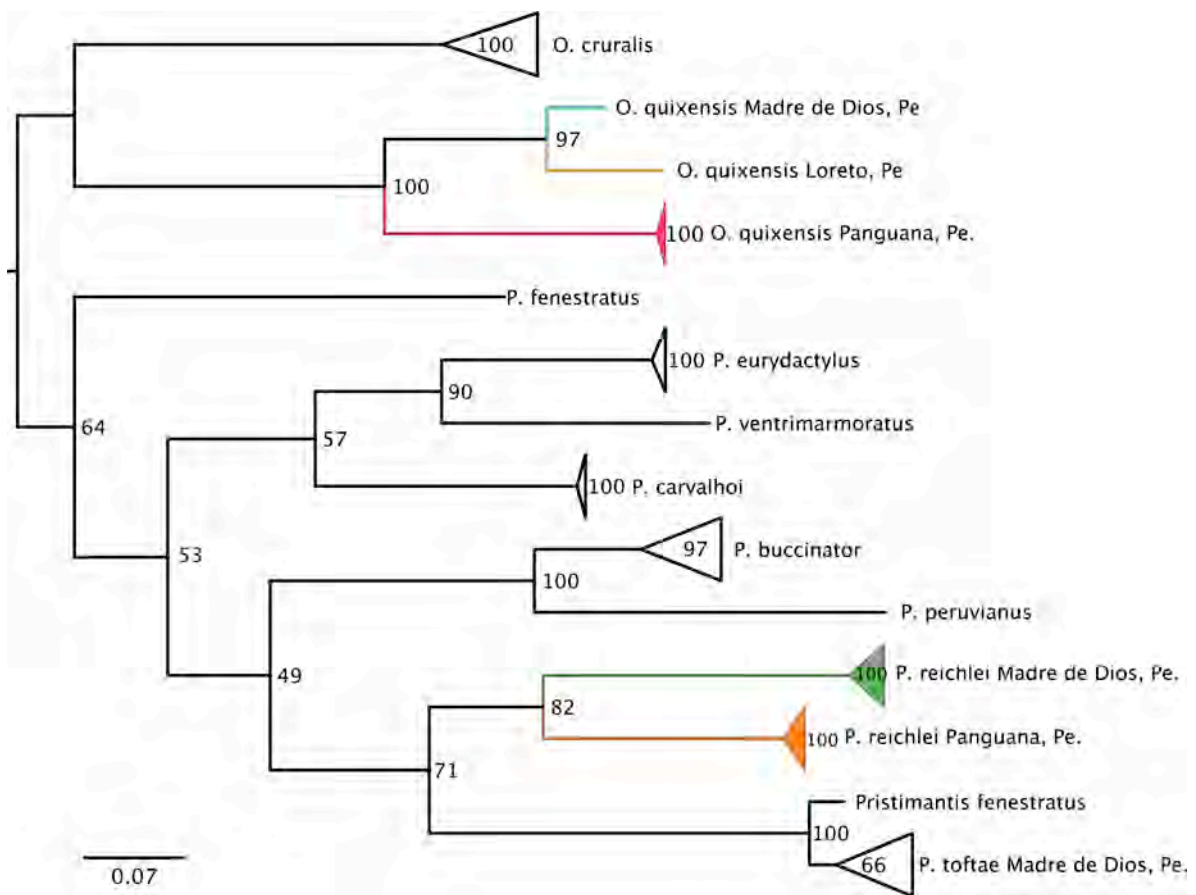


Figura 11. Filogenia con el gen COI de las especies de *Pristimantis* y *Oreobates* incluidas en el análisis. Nodos sin valores de soporte representan valores de *bootstrap* < 30%. En rojo, el clado de *Oreobates quixensis* de la localidad de Panguana, Huánuco; en celeste la rama que representa la muestra de *O. quixensis* de Madre de Dios y en amarillo ocre la población de Loreto. En anaranjado, el clado de la población de *Pristimantis reichlei* de Panguana y en verde la población de *P. reichlei* de Madre de Dios. La escala representa 7 sustituciones por cada 100 nucleótidos.

Dado que los modelos de sustitución nucleotídica son los mismos, es viable concatenar los datos de los genes encontrados. El análisis filogenético (figura 12) concuerda en su mayoría con los resultados de la filogenia del gen 16S rRNA. Hay una mejor resolución para *P. reichlei*, donde las poblaciones del SE de Perú y NO de Bolivia se agrupan en un clado (en verde), mientras que la población de Panguana está más cerca de la especie nominal *P. danae*.

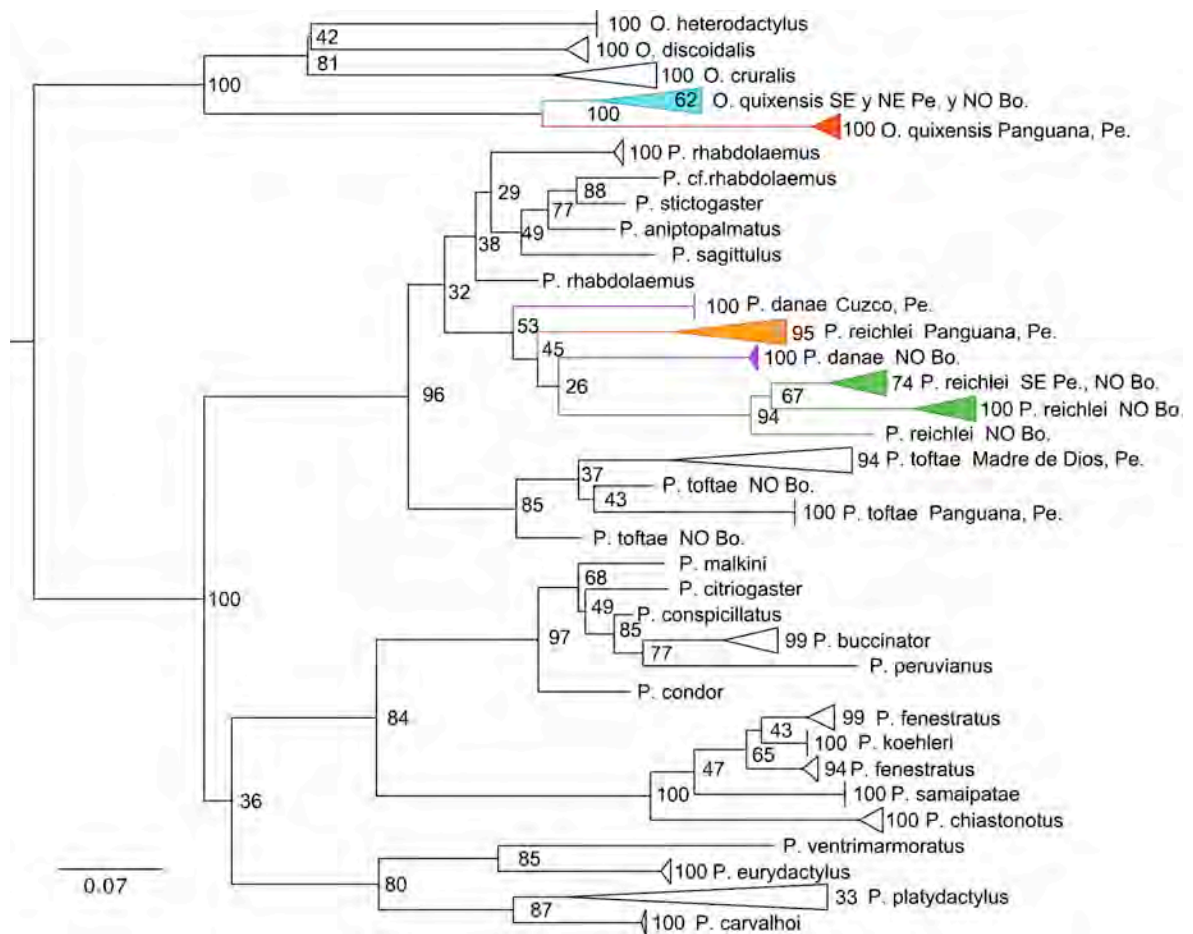


Figura 12. Filogenia de los genes 16S rRNA y COI concatenados de *Pristimantis* y *Oreobates*. Nodos sin valores de soporte representan valores de *bootstrap* < 30%. En rojo, el clado de *Oreobates quixensis* de la localidad de Panguana, Huánuco; en celeste la rama que representa la muestra de *O. quixensis* de Madre de Dios y la población de Loreto. En morado los clados de las poblaciones putativas de *Pristimantis danae*; en anaranjado, el clado de la población putativa de *Pristimantis reichlei* de Panguana y en verde la población de *P. reichlei* de Madre de Dios y el NO de Bolivia. La escala representa 7 sustituciones por cada 100 nucleótidos.

5.2.3 Distancia genética

Se midió la distancia genética del gen 16S rRNA entre las poblaciones de *Oreobates quixensis*, *Pristimantis danae* y *P. reichlei*. En el caso de *Oreobates quixensis*, se observó que la población de Panguana diverge del clado conformado por las otras poblaciones (Ecuador, Loreto, Los Amigos y NO de Bolivia – color celeste y amarillo) en 6.05% (ver tabla 6 A y B). El clado que contiene la población de Panguana tiene un porcentaje de disimilaridad bajo de 0.91% (en color rojo), mientras que el clado que contiene al resto de las poblaciones (clado celeste y amarillo) tiene un porcentaje de disimilaridad bajo de 2.12% (ver tabla 6 B).

Tabla 6. Porcentaje de disimilaridad del gen 16S rRNA entre las poblaciones de *Oreobates quixensis*. A) Presenta los valores promedios por localidad. B) Presenta los valores promedios por clados. Valores en diagonal representan los porcentajes de disimilaridad dentro de cada localidad o grupo. Abreviaciones: LAmig = Los Amigos; Ec = Ecuador; Bo = Bolivia; NC= No calculable, al tener sólo una secuencia.

A)	Ecuador	Loreto	Panguana	Los Amigos	Bolivia
Ecuador	0.00				
Loreto	2.22	NC			
Panguana	6.00	6.55	0.91		
Los Amigos	2.32	2.42	5.39	NC	
Bolivia	2.32	3.43	6.30	1.61	NC

B)	Loreto/LAmig/Ec./Bo	Panguana
Loreto/LAmig/Ec./Bo	2.12	
Panguana	6.05	0.91

En el caso de *Pristimantis danae* se observa que las poblaciones de Bolivia y Cuzco presentan porcentajes de disimilaridad altos (entre 6.13% - 10.58%) cuando se compara con el resto de las poblaciones de *Pristimantis reichlei* (ver tabla 7 A), y si se compara la disimilaridad entre ambas, también tiene un porcentaje de 7.49%. En el caso de *P. reichlei*, cabe destacar que la población que presenta disimilaridad más alta contra el resto es la de Bolivia, mientras que las otras poblaciones en el Perú (Puno, Cuzco e Inkaterra) presentan valores entre 2.22% y 3.36% (ver tabla 7 A), el porcentaje de disimilaridad promedio entre todas las poblaciones de *P. reichlei* del SE de Perú y NO de Bolivia es de 4.53% (tabla 7 B).

Tabla 7. Porcentaje de disimilaridad del gen 16S rRNA entre las poblaciones de *Pristimantis danae* y *P. reichlei*. A) Presenta los valores promedios por localidad. B) Presenta los valores promedios por clados. Valores en diagonal representan los porcentajes de disimilaridad dentro de cada localidad o grupo. Abreviaciones: dan= poblaciones asignadas a *P. danae*; rei=poblaciones asignadas a *P. reichlei*; Pang=Panguana; SE=Sureste; NC= No calculable, al tener sólo una secuencia.

A)	dan- Bolivia	dan Cuzco	rei- Panguana	rei- Puno	rei- Bolivia	rei- Cuzco	rei- Inkaterra
dan- Bolivia	0.07						
dan Cuzco	7.49	0.00					
rei- Panguana	6.13	6.25	0.47				
rei- Puno	9.07	9.68	7.33	NC			
rei- Bolivia	10.48	10.58	7.39	5.44	1.61		
rei- Cuzco	9.25	9.88	7.73	2.28	6.12	3.90	
rei- Inkaterra	8.70	10.08	6.99	2.22	5.65	3.36	NC

B)	danae	reichlei Pang	reichlei SE
danae	6.19		
reichlei Pang	6.19	0.47	
reichlei SE	9.81	7.47	4.35

5.2.4 Análisis morfológico

Se revisó el patrón de coloración de los especímenes de *Oreobates quixensis* y *Pristimantis reichlei*. De este resultado, se encontró que la mayor diferencia entre las tres poblaciones de *O. quixensis* se encuentra en los gránulos del área dorsal (siendo mucho más recargado y prominente en la población de Los Amigos), y en la coloración ventral, donde la población de Panguana presenta un vientre más claro y liso, a diferencia de las poblaciones de Los Amigos y Loreto que presentan un patrón marmoleado con manchas oscuras y piel ligeramente granulada (ver figura 13).

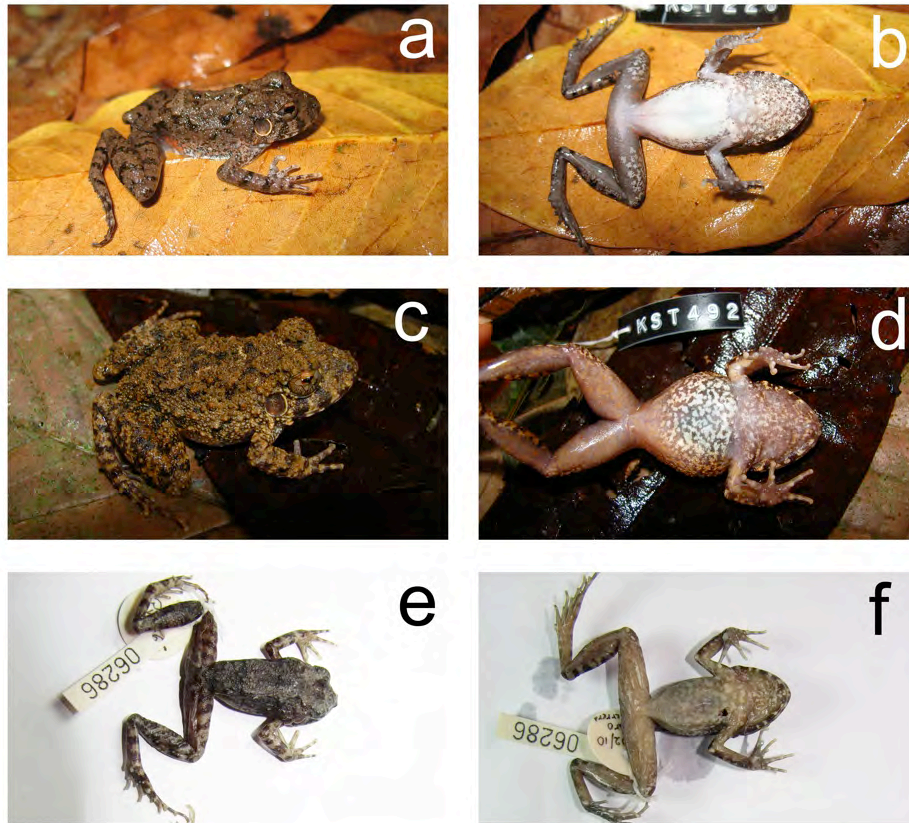


Figura 13. Comparación entre poblaciones de *Oreobates quixensis*: Vista dorsal y ventral de un espécimen de la población de Panguana (a y b), de la población de Los Amigos (c y d), y de la población de Loreto (e y f).

En el caso de *Pristimantis reichlei*, no fue posible encontrar diferencias conspicuas en el patrón de coloración ni textura de la piel entre las poblaciones estudiadas (ver figura 14). No se tuvo acceso a los especímenes de *P. danae* para los cuales se incluyó las secuencias (ya que fueron sacadas de un estudio previo de Padial y De la Riva 2009), pero se contó con algunos especímenes de la localidad tipo (parte alta del Parque Nacional Manu) como referencia. De esta comparación se observa que la especie *P. reichlei* se distingue de *P. danae* en la ausencia del ligero pliegue dorsolateral (el cual está presente en *P. danae*) y manchas anaranjadas grandes en la región dorsal de los muslos (manchas más pequeñas en color amarillo y anaranjado en *P. danae*) (ver figura 14).

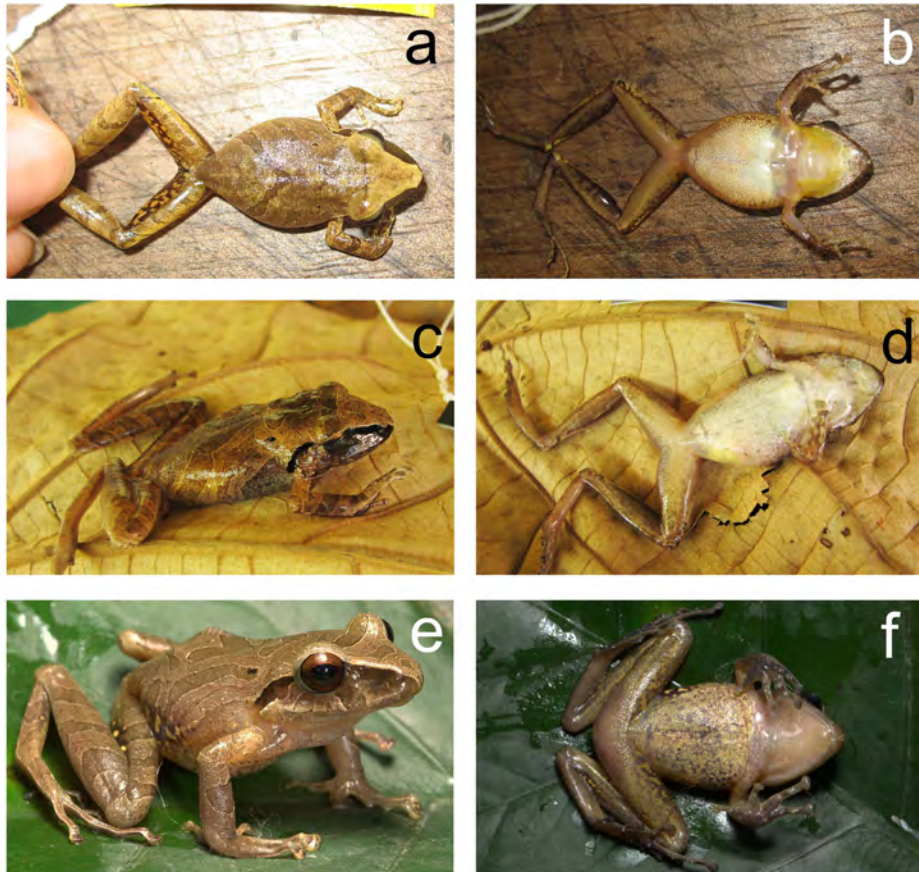


Figura 14. Comparación entre poblaciones de *Pristimantis reichlei* y *Pristimantis danae*: Vista dorsal y ventral de un espécimen la población de Panguana (a y b), de la población de Inkaterra (c y d), y de la especie *Pristimantis danae* de la parte alta de Cusco (e y f). Fotos e y g: cortesía A. Catenazzi.

5.3 Evaluación de *Hypsiboas*

5.3.1 Alineamiento y caracterización de secuencias

Se utilizó un total de 68 secuencias del gen 16S rRNA y 36 secuencias del gen COI para el análisis filogenético de *Hypsiboas*. El Anexo I resume las secuencias incluidas en el presente análisis.

El alineamiento múltiple de las secuencias del gen 16S rRNA resultó en 536 sitios alineados. Las porciones conservadas están entre las posiciones 0-215, 285-338, 345-389 y 405-536. Se observó presencia de *indels*, *gaps*, y regiones altamente variables predominantemente en la porción media del alineamiento, además de numerosas

mutaciones puntuales a lo largo del alineamiento. El alineamiento presentó 324 sitios conservados, 209 sitios variables y 157 sitios informativos.

El alineamiento múltiple de las secuencias del gen COI resultó en 615 sitios alineados. La distribución de las zonas conservadas es más homogénea que la observada en el gen 16S rRNA. Se observó regiones más variables en la parte inicial y final del alineamiento, poca presencia de *indels* y *gaps*, y numerosas mutaciones puntuales a lo largo del alineamiento. El alineamiento presentó 349 sitios conservados, 266 sitios variables y 231 sitios informativos.

El test de saturación mutacional realizado en DAMBE muestra que las secuencias de 16S rRNA y COI tienen poca saturación (valores de *p* son todos menores a 0.025, y el valor de *Iss* < *Iss.c*, según Xia y Lemey 2009), por lo cual son útiles para realizar el análisis filogenético (ver tabla 8).

Tabla 8. Test de saturación mutacional para los genes 16S rRNA y COI en el análisis de *Hypsiboas*. Num OTU= Número de Unidades Taxonómicas Operativas, *Iss* = Índice de saturación mutacional; *Iss.c* = valor crítico en el cual las secuencias pierden señal filogenética, entonces *Iss.cSym* y *Iss.cAsym* son los valores críticos medidos para topologías idealmente simétricas y asimétricas. T = estadístico *T* de *Student*, DF = grados de libertad y *P*= *p-value*, son los valores del test estadístico que prueba si el resultado es significativo ($P < 0.05$).

Num OTU	<i>Iss</i>	<i>Iss.cSym</i>	T	DF	<i>P</i>	<i>Iss.cAsym</i>	T	DF	<i>P</i>
Gen 16S rRNA									
4	0.130	0.779	27.692	267	0.0000	0.757	26.786	267	0.0000
8	0.132	0.732	22.582	267	0.0000	0.627	18.599	267	0.0000
16	0.130	0.668	19.529	267	0.0000	0.466	12.194	267	0.0000
32	0.133	0.682	19.479	267	0.0000	0.355	7.876	267	0.0000
Gen COI									
4	0.195	0.792	28.839	449	0.0000	0.759	27.232	449	0.0000
8	0.198	0.747	23.047	449	0.0000	0.635	18.358	449	0.0000
16	0.200	0.712	20.308	449	0.0000	0.502	11.995	449	0.0000
32	0.203	0.697	19.044	449	0.0000	0.370	6.435	449	0.0000

Nota: Se utilizó el test de 2 colas.

El análisis de saturación mutacional muestra que las tasas de transiciones y transversiones en ambos genes (16S rRNA y COI) tienen una distribución similar en las secuencias y no tienen muestra evidente de saturación.

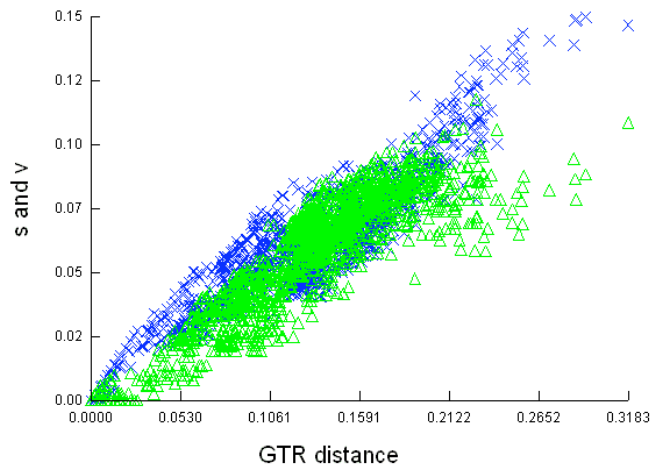


Figura 15. Transiciones y tranversiones comparadas contra las distancias a pares entre las secuencias 16S rRNA de *Hypsiboas*. s=Transiciones (aspas azules), v=Tranversiones (triángulos verdes). El modelo de distancia utilizado fue el de GTR (Tavaré 1986).

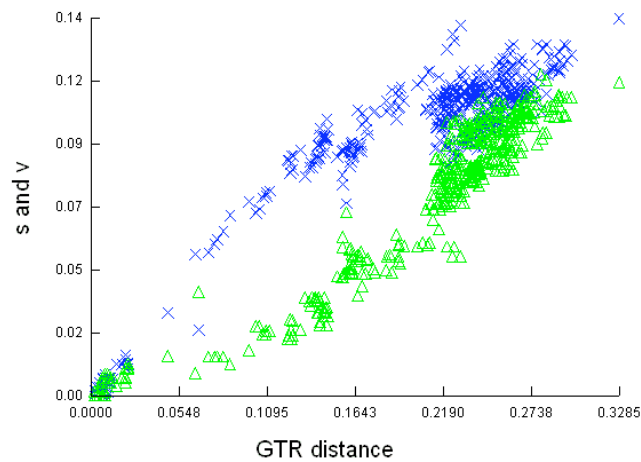


Figura 16. Transiciones y tranversiones comparadas contra las distancias a pares entre las secuencias COI de *Hypsiboas*. s=Transiciones (aspas azules), v=Tranversiones (triángulos verdes). El modelo de distancia utilizado fue el de GTR (Tavaré 1986).

Al observar los sitios polimórficos informativos de las secuencias del gen 16S rRNA, se encontró 43 haplotipos que se agrupan en su mayoría, según las localidades de colecta de las especies nominales (ver Anexos X y XI). De igual manera, con las secuencias del gen COI, se encontró un total de 26 haplotipos, los cuales, en su mayoría, se agrupan según las localidades de colecta de las especies nominales (ver Anexos XII y XIII).

5.3.2 Análisis filogenético

5.3.2.1 Modelos de sustitución nucleotídica

En el análisis de *Hypsiboas*, se obtuvo que para el criterio de Akaike, el modelo de sustitución nucleotídica con mayor valor de Máxima verosimilitud fue el de GTR + Γ para ambos genes 16S rRNA y COI. El modelo GTR (*General Time Reversible Model* en inglés) es un modelo complejo que asume frecuencias diferentes de las bases nucleotídicas, y diferencias en las tasas de sustitución para cada par de bases. Además, la distribución *gamma* (Γ) es usada para modelar la tasa de variación entre sitios.

5.3.2.2 Reconstrucción filogenética

En el árbol obtenido con el método de ML para el gen 16S rRNA (Figura 17) se puede resaltar los casos de las especies nominales *Hypsiboas lanciformis*, *Hypsiboas calcaratus*, *Hypsiboas fasciatus* e *Hypsiboas geographicus*. En el caso de *H. lanciformis*, ésta presenta dos clados: uno que contiene una población de Loreto (NE) y una de Madre de Dios (SE) de Perú; y otro clado que contiene una población más restringida de la frontera entre Perú y Ecuador (Figura 17). Para *H. calcaratus* se observa también dos clados: uno con poblaciones cercanas a la zona de Iquitos en la región de Loreto (NE de Perú); y otro clado que contiene poblaciones adyacentes de la zona del Gueppí (N de Perú) y la región Napo (SE de Ecuador) y una población de la Guyana Francesa. En el caso de la especie nominal *H. fasciatus*, se distinguen cinco clados (ver figura 15) un primer clado que corresponde a la población de Panguana (C de Perú); un segundo clado que incluye a las poblaciones de Guyana, Guyana Francesa y Surinam; un tercer clado que incluye las poblaciones de Loreto (N de Perú), un cuarto clado que corresponde a la población cerca de Inkaterra, en Madre de Dios; y finalmente un quinto clado con la población de Los Amigos, en Madre de Dios (SE de Perú). Finalmente, en el caso de *H. geographicus* se encontró dos clados, uno que contiene poblaciones de Loreto (N de Perú), Guyana Francesa y Guyana; y otro clado que contiene las poblaciones de Madre de Dios y una de la Guyana Francesa.

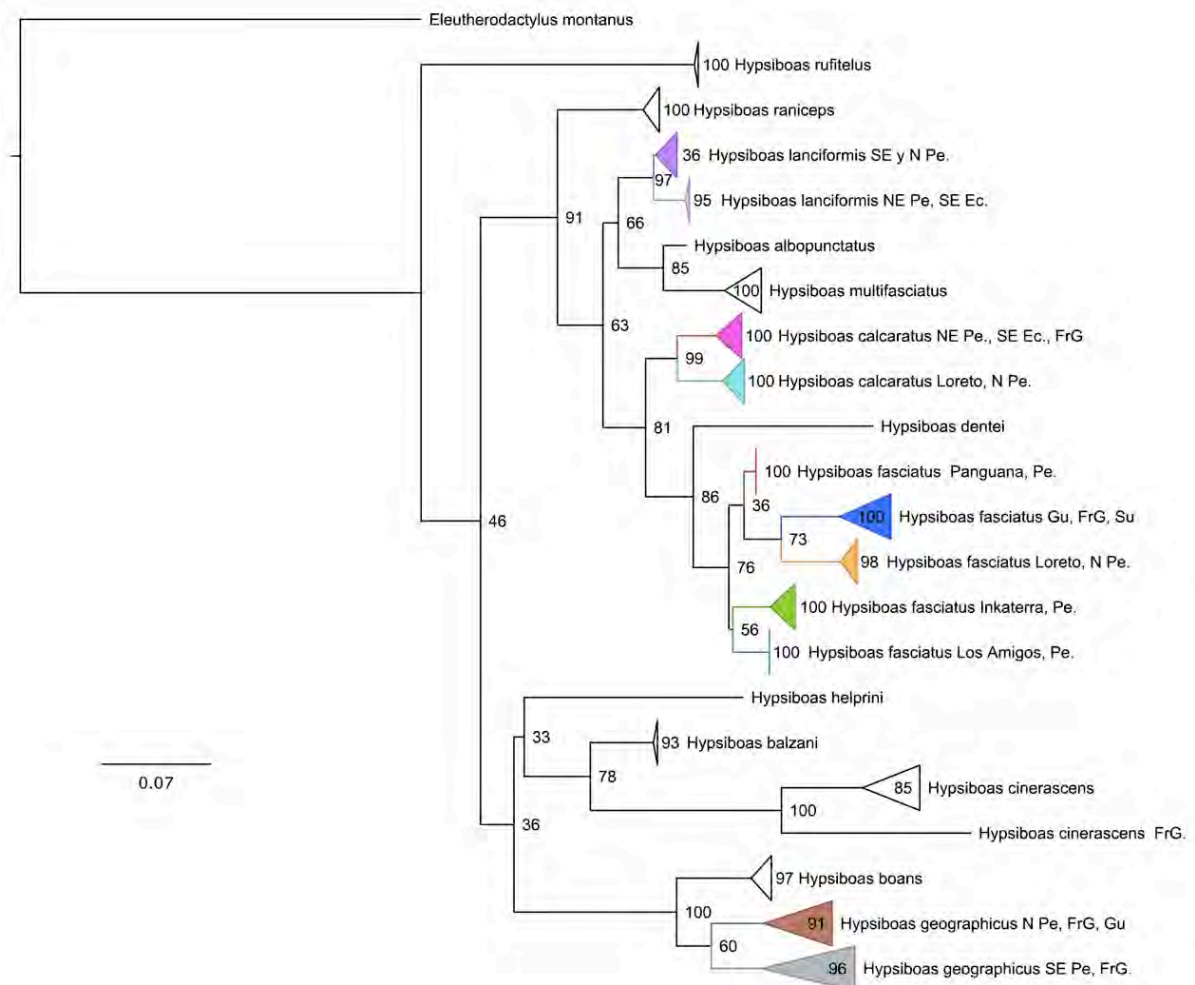


Figura 17. Filogenia con el gen 16S rRNA de las especies de *Hypsiboas* incluidas en el análisis. Nodos sin valores de soporte representan valores de *bootstrap* < 30%. En lila y rosado claro, clados asignados a *H. lanciformis*; en fucsia y celeste claro, clados asignados a *H. calcaratus*; en rojo, azul, anaranjado, verde claro y verde oscuro, clados asignados a *H. fasciatus*; en marrón y gris, clados asignados a *H. geographicus*. La escala representa 7 sustituciones por cada 100 nucleótidos.

En el árbol obtenido para el gen COI (figura 18) se observa que *H. lanciformis* presenta dos clados (uno de Loreto, N de Perú; y otro con las poblaciones de Madre de Dios (SE de Perú). En este caso no se puede ver las relaciones con otras poblaciones existentes (como se observa en el análisis del gen 16S rRNA), ya que no existen secuencias del gen COI para esas muestras. En el caso de *H. calcaratus*, sólo se observa la población de Loreto (con muestras provenientes de zonas relativamente cercanas a Iquitos), ya que para las otras tampoco se pudo obtener secuencias del gen COI. En el caso de *H. fasciatus*, se observan los mismos clados que los obtenidos para el

gen 16S rRNA (a diferencia de la falta de las poblaciones de la Guyana, Guyana Francesa y Surinam), debido a la falta de secuencias COI para éstas. Finalmente, para *H. geographicus* se observa los mismos dos clados que los obtenidos en el análisis previo, pero en este caso, el clado de la especie *Hypsiboas boans* cae entre ambos clados.

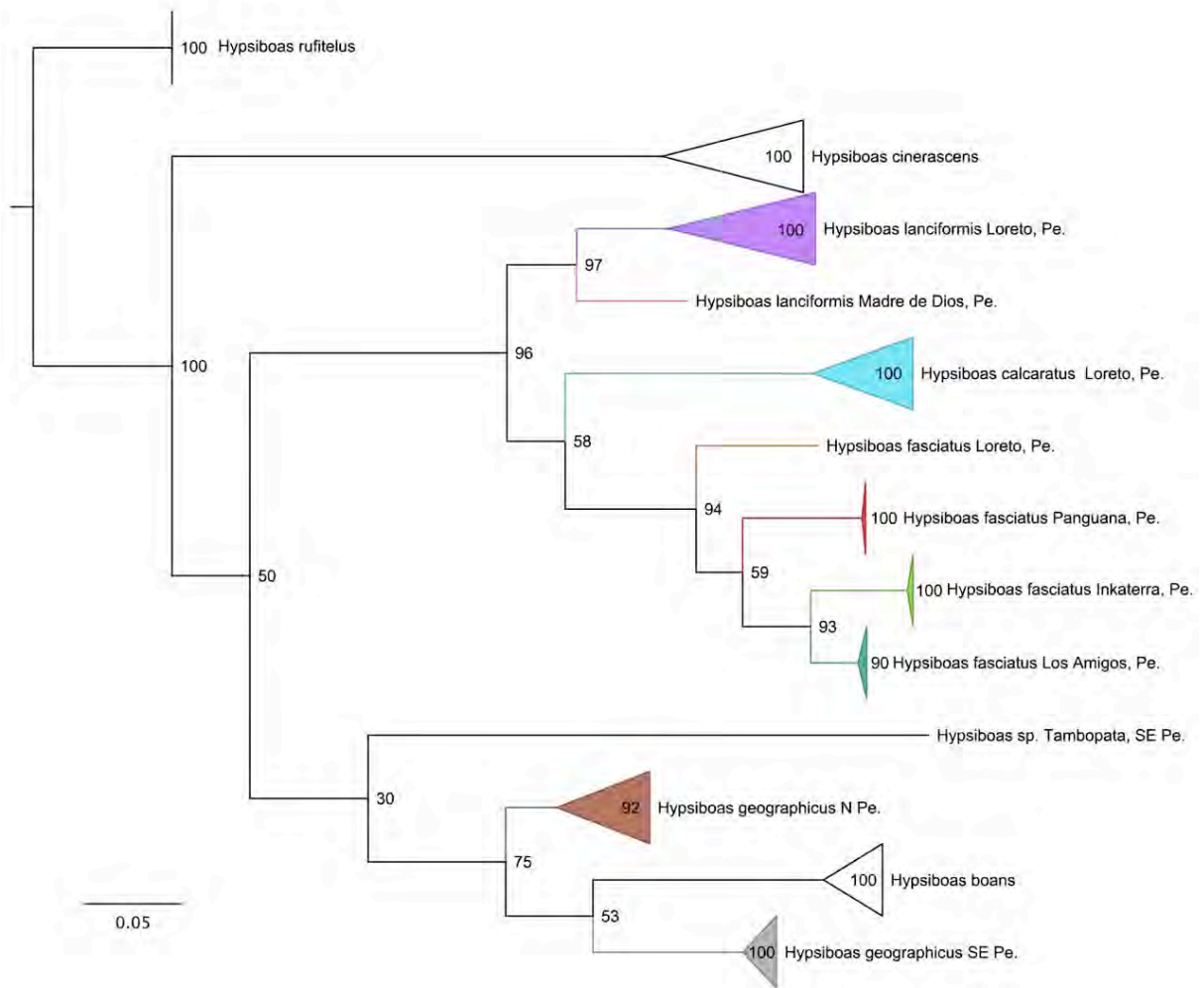


Figura 18. Filogenia con el gen COI de las especies de *Hypsiboas* incluidas en el análisis. En lila y rosado claro, clados asignados a *H. lanciformis*; en celeste claro, clado asignado a *H. calcaratus* de Loreto; en rojo, anaranjado, verde claro y verde oscuro, clados asignados a *H. fasciatus*; en marrón y gris, clados asignados a *H. geographicus*. La escala representa 5 sustituciones por cada 100 nucleótidos.

Dado que los modelos de sustitución nucleotídica son los mismos, es viable concatenar los datos de los genes encontrados. El análisis filogenético (figura 19) concuerda en su mayoría con la topología obtenida en resultados de la filogenia del gen

16S rRNA, sólo que para aquellos nodos donde la topología de los árboles del gen 16S rRNA y de COI no coincide, los valores de soporte son menores. En el caso de *H. geographicus*, donde la topología presenta una gran diferencia con lo obtenido en el gen 16S rRNA, se puede observar que el resultado del gen 16S rRNA predomina sobre el del gen COI, recuperándose así la monofilia del grupo (pero perdiendo valor de soporte).

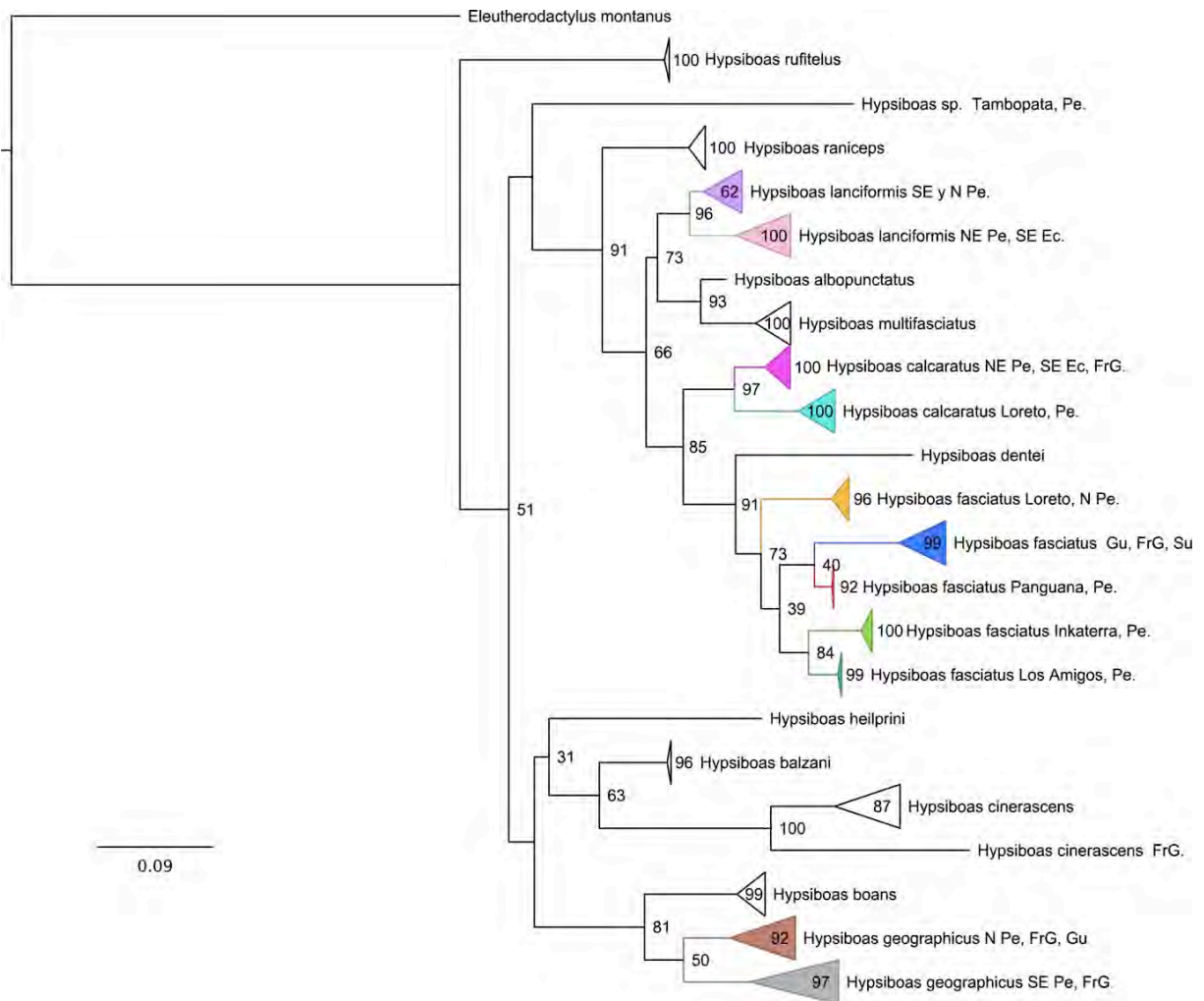


Figura 19. Filogenia de los genes 16S rRNA y COI concatenados de *Hypsiboas*. Nodos sin valores de soporte representan valores de *bootstrap* < 30%. En lila y rosado claro, clados asignados a *H. lanciformis*; en fucsia y celeste claro, clados asignados a *H. calcaratus*; en rojo, azul, anaranjado, verde claro y verde oscuro, clados asignados a *H. fasciatus*; en marrón y gris, clados asignados a *H. geographicus*. La escala representa 9 sustituciones por cada 100 nucleótidos.

5.3.3 Distancia genética

Se midió la distancia genética entre las poblaciones de *Hypsiboas lanciformis*, *H. calcaratus*, *H. fasciatus* e *H. geographicus*.

En la comparación a pares de las poblaciones de *H. lanciformis*, se observa que éstas tienen porcentajes de disimilaridad entre 0.00% y 2.61% (Tabla 9 A). Cuando se agrupa en clados (siguiendo la filogenia de los genes concatenados), el clado que contiene a las poblaciones de Curupa, Redondococha y Pastaza (en color rosado) tiene un porcentaje de disimilaridad interno de 0.19%, mientras que el clado que contiene las poblaciones de Alpahuayo y Los Amigos (color morado) tiene un porcentaje de disimilaridad interno de 2.49%. Ambos clados difieren entre sí en un 3.28% (Tabla 9 B).

Tabla 9. Porcentaje de disimilaridad del gen 16S rRNA entre las poblaciones de *Hypsiboas lanciformis*. A) Presenta los valores promedios por localidad. B) Presenta los valores promedios por clados. Valores en diagonal representan los porcentajes de disimilaridad dentro de cada localidad o grupo. Abreviaciones: Ec=Ecuador; Alp=Alpahuayo; LAmig=Los Amigos; Cur= Curupa; Red=Redondococha; NC=No calculable, al tener sólo una secuencia.

A)	Curupa	Redondo-cocha	Pastaza, Ec	Alpahuayo	Los Amigos
Curupa	NC				
Redondococha	0.19	NC			
Pastaza, Ec.	0.19	0.00	NC		
Alpahuayo	2.43	2.24	2.24	NC	
Los Amigos	2.61	2.43	2.43	1.68	NC

B)	Alp/LAmig	Cur/Red/Ec.
Alp/LAmig	2.49	
Cur/Red/Ec.	3.28	0.19

En la comparación a pares de las poblaciones de *H. calcaratus*, se observa que éstas tienen porcentajes de disimilaridad entre 0.00% y 5.60% (Tabla 10 A). Cuando se agrupa en clados (siguiendo la filogenia de los genes concatenados), el clado que contiene a las poblaciones de Curupa, Jenaro Herrera y Anguilla (en color celeste) tiene un porcentaje de disimilaridad interno de 1.48%, mientras que el clado que contiene las poblaciones de Redondococha, Napo y Guyana Francesa (color fucsia) tiene un porcentaje de disimilaridad interno de 1.85%. Ambos clados difieren entre sí en un 6.36% (Tabla 10 B).

Tabla 10. Porcentaje de disimilaridad del gen 16S rRNA entre las poblaciones de *Hypsiboas calcaratus*. A) Presenta los valores promedios por localidad. B) Presenta los valores promedios por clados. Valores en diagonal representan los porcentajes de disimilaridad dentro de cada localidad o grupo. Abreviaciones: Fr.G= Guyana Francesa; Red=Redondococha; Nap=Napo; Cur=Curupa; JenH=Jenaro Herrera; Ang=Anguilla; NC= No calculable, al tener sólo una secuencia.

A)

	Curupa	Jenaro Herrera	Anguilla	Redondo-cocha	Napo, Ecuador	Fr.G
Curupa	NC					
Jenaro Herrera	1.31	NC				
Anguilla	1.12	1.31	NC			
Redondococha	5.60	5.04	5.22	NC		
Napo, Ecuador	5.41	5.04	5.22	0.00	NC	
Fr.G	4.10	4.10	3.73	1.68	1.68	NC

B)

	Red/Nap/Fr.G	Cur/JenH/Ang
Red/Nap/Fr.G	1.85	
Cur/JenH/Ang	6.36	1.48

En la comparación a pares de las poblaciones de *H. fasciatus*, se observa que éstas tienen porcentajes de disimilaridad entre 0.19% y 5.93% (Tabla 11 A). Cuando se agrupa en clados (siguiendo la filogenia de los genes concatenados), el clado que contiene a las poblaciones de Guyana Francesa, Guyana y Surinam (en color azul) tiene un porcentaje de disimilaridad interno de 1.76%, el clado que contiene las poblaciones de Gueppí y Curupa (color anaranjado) tiene un porcentaje de disimilaridad interno de 0.93%, el clado que contiene sólo individuos de Inkaterra (en color verde claro) tiene un porcentaje de disimilaridad interno de 0.06%, y los clados con individuos de la población de Panguana (color rojo) y de Los Amigos (color verde oscuro) tienen un porcentaje de disimilaridad interno de 0.00% . Las diferencias entre los clados están entre 3.39% y 7.45%, siendo la más baja entre Inkaterra y Panguana y la más alta entre los clados de Gueppí/Curupa y las Guyanas (Tabla 11 B).

Tabla 11. Porcentaje de disimilaridad del gen 16S rRNA entre las poblaciones de *Hypsiboas fasciatus*. A) Presenta los valores promedios por localidad. B) Presenta los valores promedios por clados. Valores en diagonal representan los porcentajes de disimilaridad dentro de cada localidad o grupo. Abreviaciones: LAmig=Los Amigos; Fr.G= Guyana Francesa; Gu= Guyana; Su=Surinam; Gue=Gueppi; Cur=Curupa; NC=No calculable, al tener sólo una secuencia.

A)	Gueppi	Curupa	LAmig	Panguana	Inkaterra	Fr.G	Guyana	Surinam
Gueppi	NC							
Curupa	1.03	0.19						
Los Amigos	4.48	4.76	0.00					
Panguana	4.48	4.76	2.80	0.00				
Inkaterra	5.60	5.93	3.43	3.28	0.60			
Fr.G	5.41	5.50	5.83	4.48	5.47	2.61		
Guyana	5.41	5.41	5.60	4.29	5.37	1.40	NC	
Surinam	5.04	5.13	5.22	4.10	4.96	1.31	0.19	NC

B)	Fr.G/Gu/Su	LAmig	Inkaterra	Gue/Cur	Panguana
Fr.G/Gu/Su	1.76				
Los Amigos	6.61	0.00			
Inkaterra	5.54	3.99	0.06		
Gue/Cur	7.45	5.30	6.12	0.93	
Panguana	4.99	3.76	3.39	5.09	0.00

En la comparación a pares de las poblaciones de *H. geographicus*, se observa que éstas tienen porcentajes de disimilaridad entre 0.17% y 6.90% (Tabla 12 A). Cuando se agrupa en clados (siguiendo la filogenia de los genes concatenados), el clado que contiene a las poblaciones de Curupa, Jenaro Herrera, Grand Santí y Guyana (en color marrón) tiene un porcentaje de disimilaridad interno de 3.60%, mientras que el clado que contiene las poblaciones de Trinité, Tambopata, Los Amigos e Inkaterra (color gris) tiene un porcentaje de disimilaridad interno de 1.20%. Ambos clados difieren entre sí en un 6.22% (Tabla 12 B).

Tabla 12. Porcentaje de disimilaridad del gen 16S rRNA entre las poblaciones de *Hypsiboas geographicus*. A) Presenta los valores promedios por localidad. B) Presenta los valores promedios por clados. Valores en diagonal representan los porcentajes de disimilaridad dentro de cada localidad o grupo. Abreviaciones: Fr.G= Guyana Francesa; LAmig ó LAm = Los Amigos; Cu=Curupa; JHe=Jenaro Herrera; Gu=Guyana; Tam=Tambopata; Ink=Inkaterra; NC=No calculable, al tener sólo una secuencia.

A)	Curupa	Jenaro Herrera	Fr.G – Grand Santi	Guyana	Fr.G - Trinite	Tambo-pata	LAmig	Inkaterra
Curupa	NC							
Jenaro Herrera	4.48	NC						
Fr.G - Grand Santi	2.99	3.36	NC					
Guyana	3.54	3.73	0.37	NC				
Fr.G - Trinite	6.53	6.90	6.34	6.53	NC			
Tambopata	5.83	5.08	4.93	5.12	3.71	0.30		
Los Amigos	5.97	4.85	4.66	4.85	3.73	0.27	NC	
Inkaterra	5.78	5.04	4.85	5.04	3.54	0.17	0.19	NC

B)	Cu/JHe/Fr.G/Gu	Fr.G/Tam/LAm/Ink
Cu/JHe/Fr.G/Gu	3.60	
Fr.G/Tam/LAm/Ink	6.22	1.20

5.3.4 Análisis morfológico

Se revisó el patrón de coloración de los especímenes de *Hypsiboas lanciformis*, *H. calcaratus*, *H. fasciatus* y *H. geographicus*. En el caso de *H. lanciformis* se encontró que la mayor diferencia entre las tres poblaciones se encuentra en el patrón de coloración dorsal (en especímenes fijados). En las poblaciones del norte de Perú (Redondococha y Curupa) los especímenes presentaron franjas más oscuras (ver figura 20 c), y en particular el espécimen de Redondococha presentó una línea oscura en el medio del dorso. El único espécimen colectado para Los Amigos presentó un dorso marrón claro uniforme y sin manchas (ver figura 20 a). Otra diferencia encontrada fue en el patrón de coloración ventral donde el espécimen de Los Amigos presenta una mancha oscura en la región gular (flecha roja, figura 20 b), mientras que los especímenes de Loreto no la presentaron (figura 20 d). La ausencia de manchas blancas en la región de la cintura pectoral en el espécimen de Curupa podría deberse a su estadio juvenil.

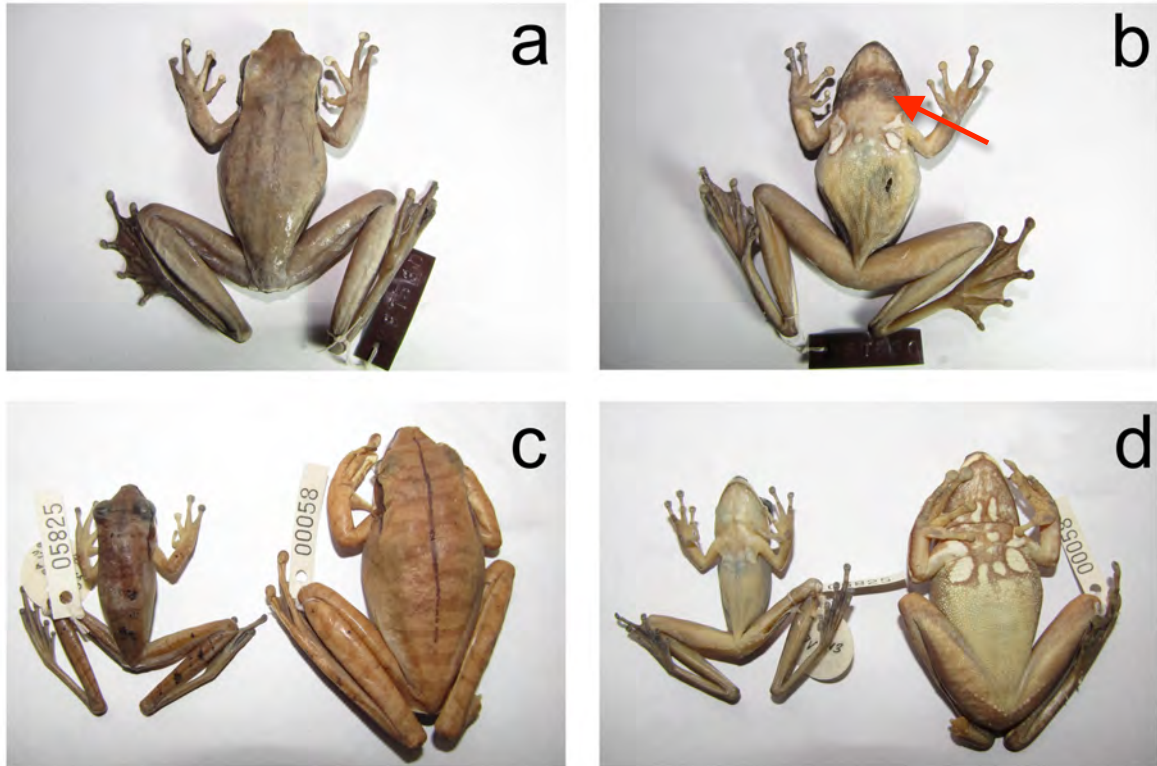


Figura 20. Comparación entre poblaciones de *Hypsiboas lanciformis*: Vista dorsal y ventral de un espécimen la población de Los Amigos (a y b), y de la población de Curupa (CORBIDI 5825) y Redondococha (CORBIDI 0058) (c y d).

En el caso de *H. calcaratus*, se observó en los especímenes fijados algunas diferencias en el patrón de manchas laterales y de la coloración dorsal. El único espécimen revisado de la población de Redondococha (CORBIDI 0062) presentó manchas negras más grandes sobre un fondo crema que las del espécimen de Jenaro Herrera (CORBIDI 06182) (figura 21 b), y en el dorso se observó que el espécimen de Redondococha presenta barras horizontales marrón oscuro, mientras que en el espécimen de Jenaro Herrera presentó como unas líneas marrones en forma de rombo. Además se encontró que el espécimen de Jenaro Herrera presenta un pliegue en el antebrazo y más glándulas en la región anal, a diferencia del espécimen de Redondococha que no presenta pliegue y tiene menos glándulas (figura 21 b).

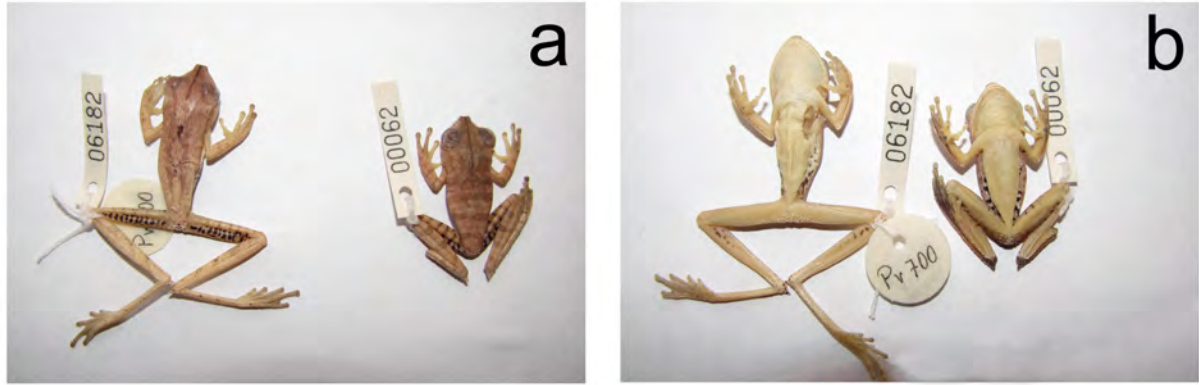


Figura 21. Comparación entre poblaciones de *Hypsiboas calcaratus*: Vista dorsal (a) y ventral (b) de un espécimen la población de Jenaro Herrera (CORBIDI 06182) y de la población de Redondococha (CORBIDI 0062).

En el caso de *H. geographicus*, se observó en los especímenes fijados que el espécimen de Curupa (CORBIDI 5809) y Jenaro Herrera (6180) difieren en la coloración dorsal, ya que el de Curupa tiene un color marrón oscuro uniforme, no presenta línea media ni barras oscuras en el muslo; mientras que el espécimen de Jenaro Herrera es color beige claro, presenta una línea media oscura interrumpida, tiene líneas oscuras delgadas en forma de “v” y presenta barras oscuras en el muslo. Otra diferencia está en la coloración dorsal del muslo, ya que el espécimen de Curupa presenta manchas negras con patrón “atigrado” sobre fondo crema, mientras que el espécimen de Jenaro Herrera sólo presenta una mancha negra que cubre toda el área dorsal del muslo (figura 22 a). La población de Tambopata presenta variaciones en la coloración dorsal y ventral, pudiendo presentarse coloración dorsal sin manchas, hasta un patrón marmoleado (figura 22 c), y en el lado ventral, hay una variación en la densidad de manchas oscuras en la región abdominal y gular (figura 22 d). Los únicos especímenes revisados de Inkaterra y de Los Amigos son muy parecidos entre sí, y sólo difieren en el color del iris en vida, el cual es rojo oscuro en el espécimen de Inkaterra y en el espécimen de Los Amigos es un rojo claro (figura 22 e y g). En lo demás, ambos especímenes comparten el patrón de coloración en la región dorsal, lateral y ventral con el espécimen CORBIDI 5188 de Tambopata.

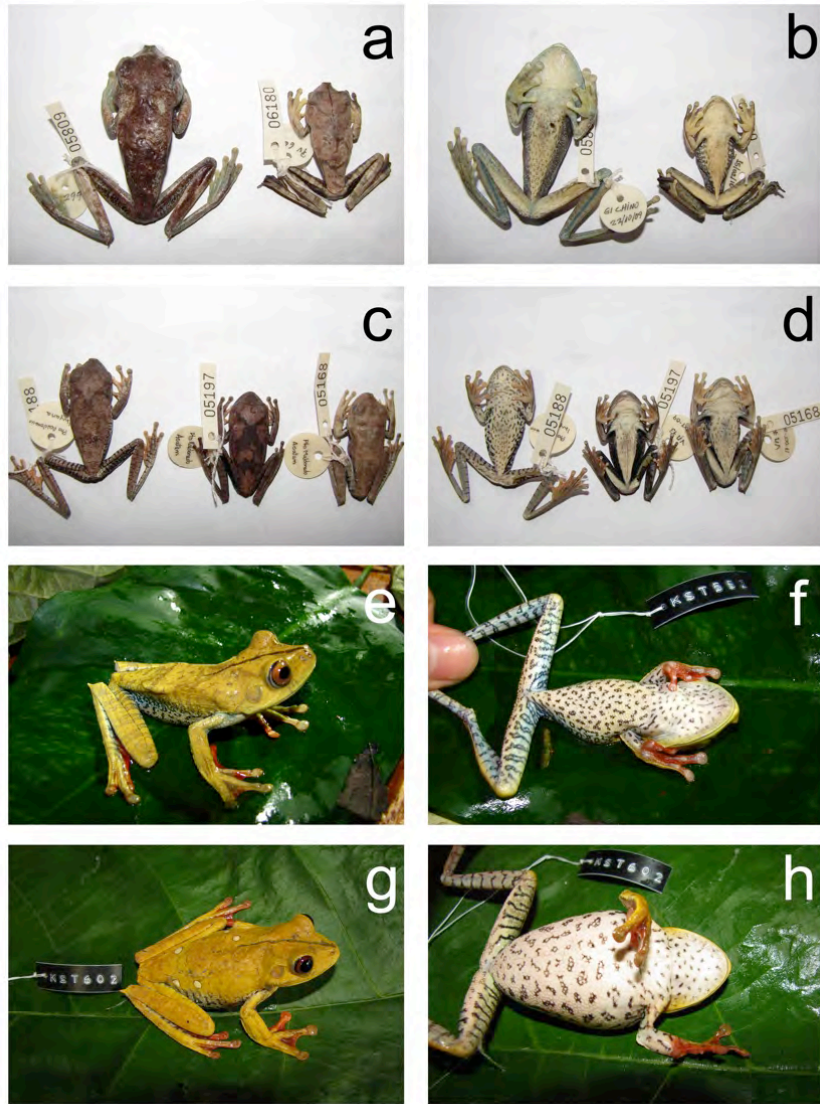


Figura 22. Comparación entre poblaciones de *Hypsiboas geographicus*: Vista dorsal (a) y ventral (b) de especímenes de Curupa (CORBIDI 5809) y Jenaro Herrera (CORBIDI 6180); vista dorsal (c) y ventral (d) de la población de Tambopata, vista dorsal (e) y ventral (f) de la población de Los Amigos, vista dorsal (g) y ventral (h) de la población de Inkaterra.

En el caso de *H. fasciatus*, se observó que hay variación en el patrón de coloración dorsal y lateral. Los especímenes de Panguana presentan un patrón de coloración similar al espécimen de Curupa (figura 23 a – d). Las poblaciones de Inkaterra y de Los Amigos presentan patrones de coloración muy parecidos incluso con la misma variación: individuos que tienden a la reducción de manchas negras en el dorso de los muslos y en la región lateral del cuerpo (figura 23 e – l). Una diferencia conspicua que se podría rescatar entre las poblaciones es que las del sureste de Perú (Inkaterra y Los Amigos) tienden a la reducción de manchas en el lado dorsal de los muslos y en la región lateral del cuerpo, además de no presentar barras marrones horizontales en la región

dorsal; a diferencia de las poblaciones de Panguana y Curupa que presentan muslos con un mayor número y tamaño de manchas oscuras y barras marrones horizontales.

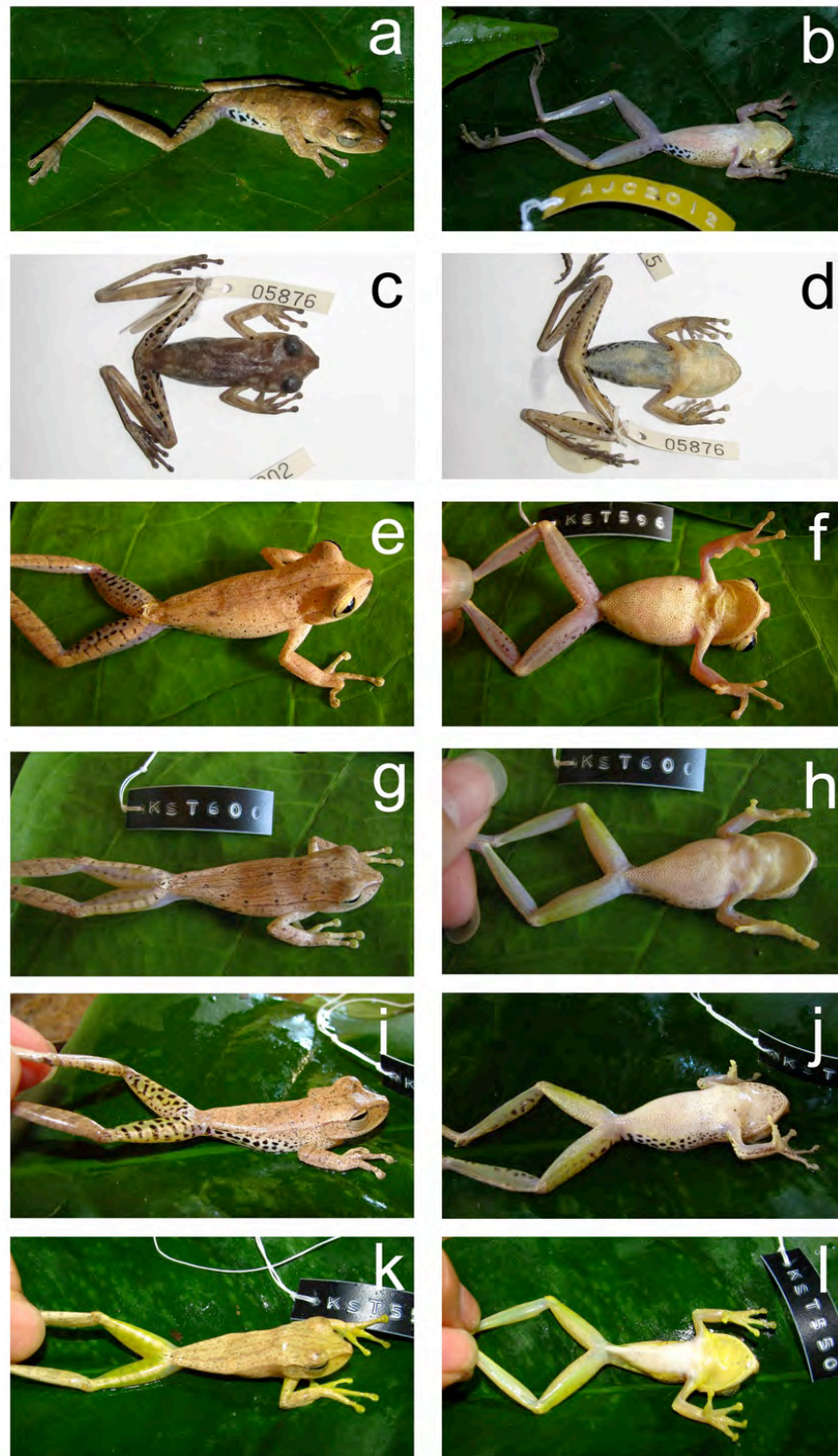


Figura 23. Comparación entre poblaciones de *Hypsiboas fasciatus*: Vista dorsal y ventral de un espécimen la población de Panguana (a y b), de la población de Curupa (c y d), de la población de Inkaterra (e – h), y de la población de Los Amigos (i – l).

5.4 Evaluación del grupo *Scinax*

5.4.1 Alineamiento y caracterización de secuencias

Se utilizó un total de 97 secuencias del gen 16S rRNA y 51 del gen COI para el análisis filogenético de *Scinax*. El Anexo I resume las secuencias incluidas en el presente análisis.

El alineamiento múltiple de las secuencias del gen 16S rRNA resultó en 382 sitios alineados después de la edición. Las porciones conservadas predominan en el inicio y el final del alineamiento. Se observó presencia de *indels*, *gaps*, y regiones altamente variables predominantemente en la porción media; además de numerosas mutaciones puntuales a lo largo del alineamiento. El alineamiento presentó 214 sitios conservados, 167 sitios variables y 155 sitios informativos.

El alineamiento múltiple de las secuencias del gen COI resultó en 639 sitios alineados. La distribución de las zonas conservadas es más homogénea que la observada en el gen 16S rRNA. Se observó regiones más variables en la parte inicial y final del alineamiento, poca presencia de *indels* y *gaps*, y numerosas mutaciones puntuales a lo largo del alineamiento. El alineamiento presentó 349 sitios conservados, 290 sitios variables y 255 sitios informativos.

El test de saturación mutacional realizado en DAMBE muestra que las secuencias de 16S rRNA y COI tienen poca saturación (valores de p son todos menores a 0.025, y el valor de $I_{ss} < I_{ss.c}$, según Xia y Lemey 2009), por lo cual son útiles para realizar el análisis filogenético (ver tabla 13).

Tabla 13. Test de saturación mutacional para los genes 16S rRNA y COI en el análisis de *Scinax*. Num OTU= Número de Unidades Taxonómicas Operativas, *I*ss = Índice de saturación mutacional; *I*ss.c = valor crítico en el cual las secuencias pierden señal filogenética, entonces *I*ss.cSym y *I*ss.cAsym son los valores críticos medidos para topologías idealmente simétricas y asimétricas. T = estadístico *T* de *Student*, DF = grados de libertad y P= *p-value*, son los valores del test estadístico que prueba si el resultado es significativo (P<0.05).

Num OTU	<i>I</i> ss	<i>I</i> ss.cSym	T	DF	P	<i>I</i> ss.cAsym	T	DF	P
=====									
Gen 16S rRNA									
4	0.180	0.783	25.575	325	0.0000	0.755	24.426	325	0.0000
8	0.174	0.736	22.046	325	0.0000	0.626	17.759	325	0.0000
16	0.176	0.685	19.054	325	0.0000	0.478	11.292	325	0.0000
32	0.177	0.684	18.603	325	0.0000	0.354	6.511	325	0.0000
Gen COI									
4	0.197	0.789	26.918	409	0.0000	0.757	25.469	409	0.0000
8	0.200	0.743	21.399	409	0.0000	0.632	17.013	409	0.0000
16	0.196	0.704	19.038	409	0.0000	0.495	11.189	409	0.0000
32	0.195	0.692	18.256	409	0.0000	0.364	6.199	409	0.0000

=====

Nota: Se utilizó el test de 2 colas.

El análisis de saturación mutacional muestra que la tasa de transiciones y transversiones en ambos genes (16S rRNA y COI) tienen una distribución similar en las secuencias y no tienen muestra evidente de saturación.

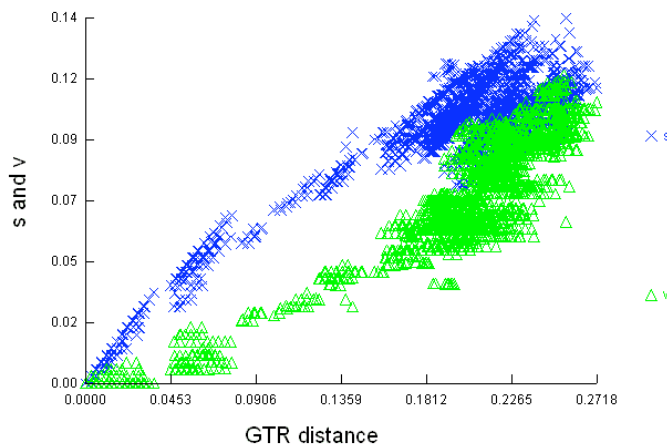


Figura 24. Transiciones y transversiones comparadas contra las distancias a pares entre las secuencias 16S rRNA de *Scinax*. s=Transiciones (aspas azules), v=Transversiones (triángulos verdes). El modelo de distancia utilizado fue el de GTR (Tavaré 1986).

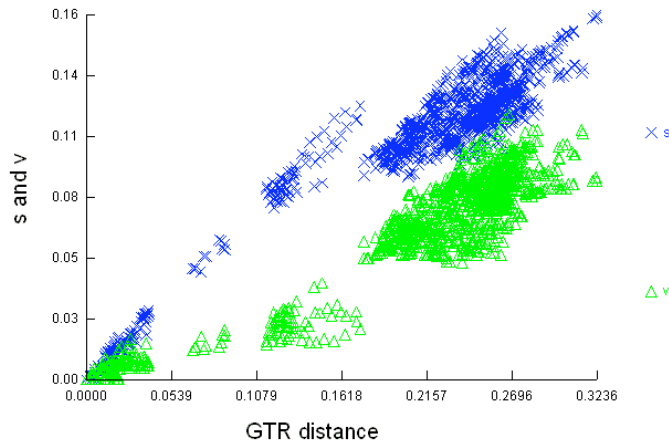


Figura 25. Transiciones y tranversiones comparadas contra las distancias a pares entre las secuencias COI de *Scinax*. s=Transiciones (aspas azules), v=Tranversiones (triángulos verdes). El modelo de distancia utilizado fue el de GTR (Tavaré 1986).

Al observar los sitios polimórficos informativos de las secuencias del gen 16S rRNA, se encontró 61 haplotipos que se agrupan en su mayoría, según las localidades de colecta de las especies nominales (ver Anexos XIV y XV). De igual manera, con las secuencias del gen COI, se encontró un total de 33 haplotipos, los cuales, en su mayoría, se agrupan según las localidades de colecta de las especies nominales (ver Anexos XVI y XVII).

5.4.2 Análisis filogenéticos

5.4.2.1 Modelos de sustitución nucleotídica

En el análisis de *Scinax*, se obtuvo que para el criterio de Akaike, el modelo de sustitución nucleotídica con mayor valor de Maxima verosimilitud fue el de GTR + Γ para ambos genes 16S rRNA y COI. El modelo GTR (*General Time Reversible Model* en inglés) es un modelo complejo que asume frecuencias diferentes de las bases nucleotídicas, y diferencias en las tasas de sustitución para cada par de bases. Además, la distribución *gamma* (Γ) es usada para modelar la tasa de variación entre sitios.

5.4.2.2 Reconstrucción filogenética

En el árbol obtenido con el método de ML para el gen 16S rRNA (Figura 26) se puede observar que *Scinax garbei* presenta tres clados bien definidos: uno (en rojo) que contiene a las poblaciones de Loreto y de Panguana (N y C de Perú respectivamente), y del SE de Ecuador; otro clado (en verde claro) que contiene a la población de Los Amigos (SE de Perú) y finalmente un tercer clado (en celeste) que contiene a la población de Inkaterra (SE de Perú). También cabe resaltar que un grupo de especímenes que en su

mayoría estaban identificados como *Scinax ruber* de distintas localidades (Panguana, Los Amigos y Tambopata) constituyen un clado (en color rosado) con un alto soporte que los agrupa fuera del clado de la especie nominal *Scinax ruber* y de la especie *Scinax ictericus*. Este clado ha sido luego identificado como *Scinax chiquitanus*. Finalmente, cabe resaltar que en *Scinax ruber*, se observan ocho clados con altos valores de soporte para cada clado (los cuales se agrupan según las localidades de colecta). Los clados de *Sc. ruber* de Panguana, Inkaterra, Los Amigos (los tres en color verde oscuro) y Guyana Francesa forman un grupo monofilético con alto valor de soporte que indica que los cinco estarían más relacionados. Sin embargo, con este marcador molecular no es posible obtener una resolución de relaciones filogenéticas entre los cinco clados. Otro resultado resaltante se observa con el clado de *Sc. ruber* de Tambopata (de color marrón), el cual resulta más basal y distante al resto, apoyado por altos valores de soporte en los nodos.

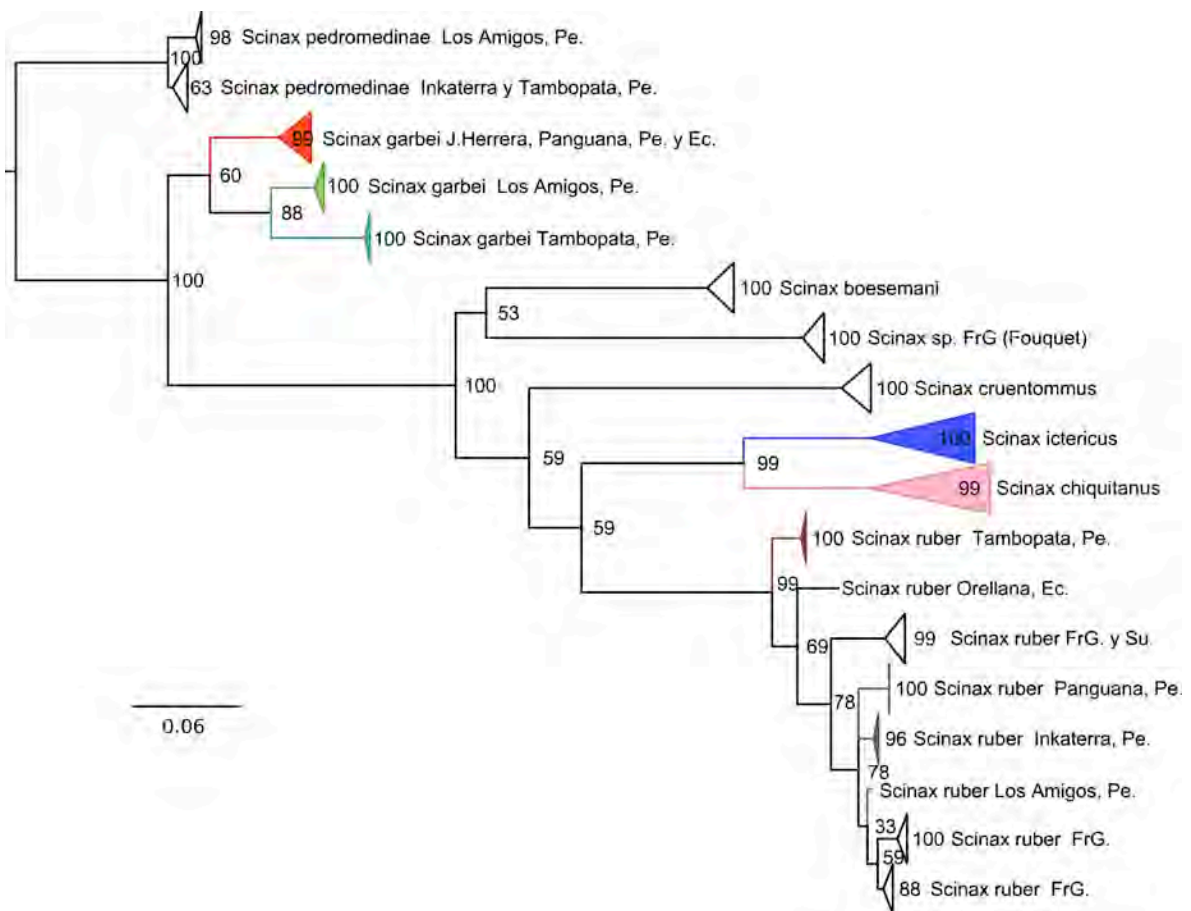


Figura 26. Filogenia con el gen 16S rDNA de las especies de *Scinax* incluidas en el análisis. En rojo, verde claro y celeste, clados asignados a *Sc. garbei*; en azul el clado de *Sc. ictericus*; en rosado el clado de *Sc. chiquitanus*; en marrón y verde oscuro, clados asignados a *Sc. ruber* de secuencias aportadas en el presente estudio. La escala representa 6 sustituciones por cada 100 nucleótidos.

En el árbol obtenido para el gen COI (ver figura 27) se obtienen los mismos clados obtenidos en el análisis del gen 16S rRNA para *Scinax garbei*. Sin embargo para *Scinax ictericus* se puede observar una mayor resolución que permite distinguir un clado (en azul) que contiene las poblaciones de Los Amigos y Tambopata y otro que contiene la única muestra de *Sc. ictericus* de Panguana (en fucsia). Lo mismo ocurre para el clado de *Scinax chiquitanus*, donde es posible ver incluso que dicho grupo tiene dos clados claramente definidos: uno (en anaranjado) que contiene la población de Panguana y una muestra de Los Amigos; y otro (en rosado) que contiene a la población de Tambopata y otra muestra de Los Amigos. Algo que además cabe resaltar de esta topología es que el clado de *Scinax chiquitanus* aparece en 45% de los casos como grupo hermano del clado de *Scinax ruber*. Finalmente, para *Scinax ruber*, se observan las mismas agrupaciones que lo obtenido con el gen 16S rRNA, donde la población de Tambopata conforma un clado (en marrón), mientras que las poblaciones de Panguana, Inkaterra y Los Amigos conforman otro clado (en verde).

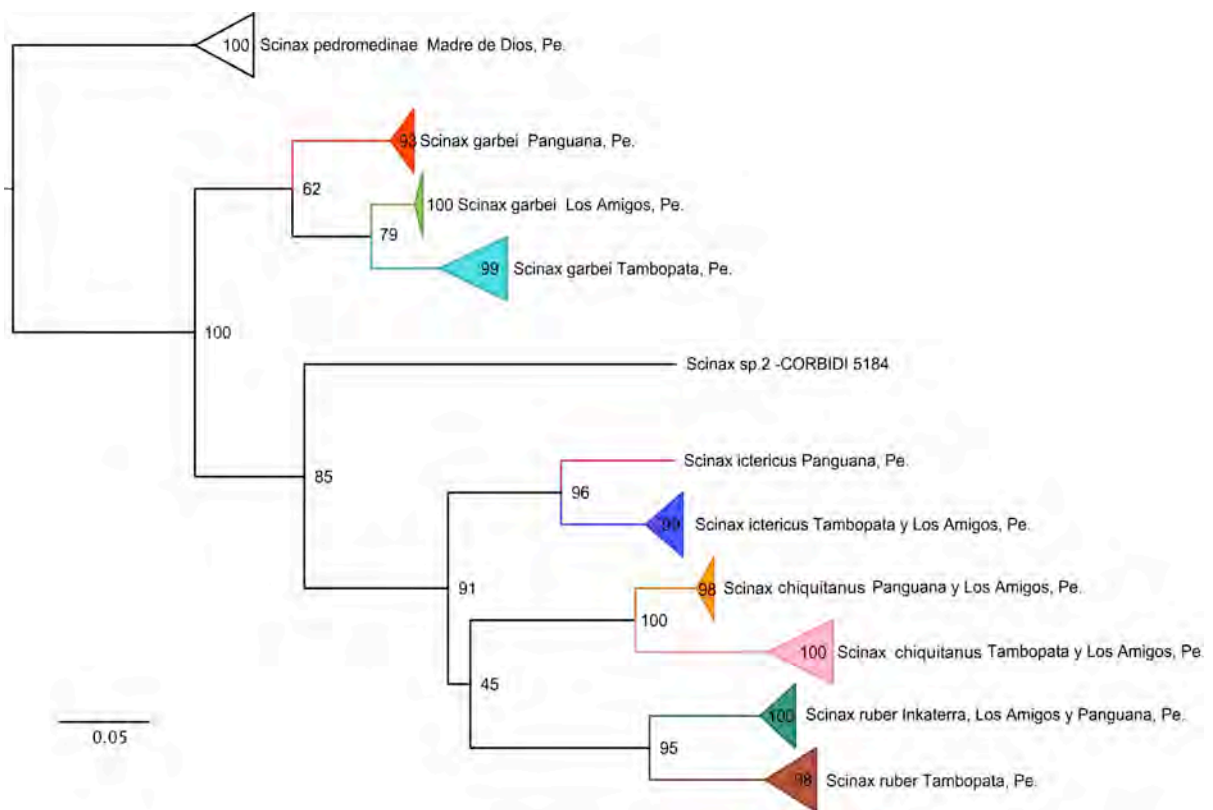


Figura 27. Filogenia con el gen COI de las especies de *Scinax* incluidas en el análisis. En rojo, verde claro y celeste, clados asignados a *Sc. garbei*; en azul y fucsia, clados de *Sc. ictericus*; en rosado y anaranjado, clados de *Sc. chiquitanus*; en marrón y verde oscuro, clados asignados a *Sc. ruber* aportadas en el presente estudio. La escala representa 5 sustituciones por cada 100 nucleótidos.

Dado que los modelos de sustitución nucleotídica son los mismos, es viable concatenar los datos de los genes encontrados. El análisis filogenético (figura 28) concuerda en su mayoría con la topología obtenida en resultados de la filogenia del gen 16S rRNA, sólo que para uno de los nodos donde la topología de los árboles del gen 16S rRNA y de COI no coincide (la posición de *Scinax chiquitanius* con respecto a *Scinax ictericus* y *Scinax ruber*), los valores de soporte son menores.

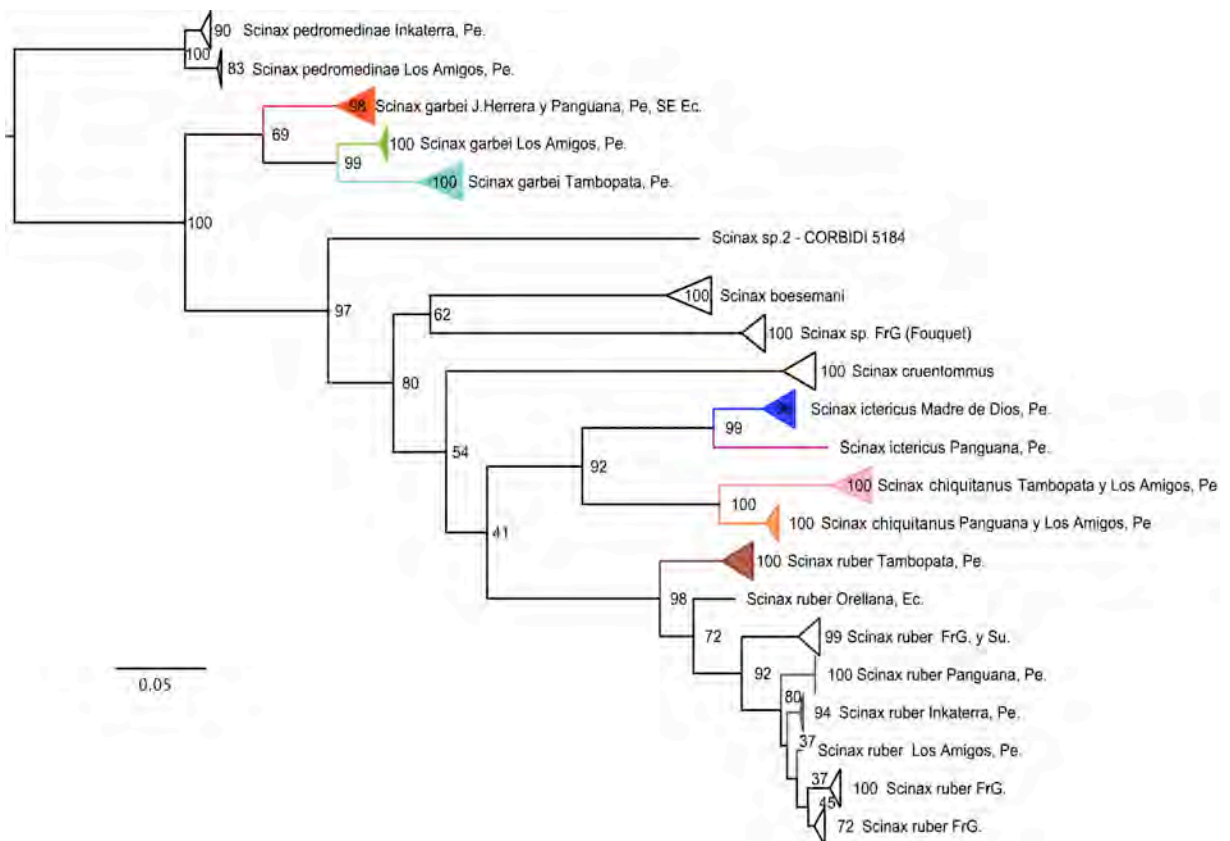


Figura 28. Filogenia de los genes 16S rRNA y COI concatenados de *Scinax*. En rojo, verde claro y celeste, clados asignados a *Sc. garbei*; en azul y fucsia, clados de *Sc. ictericus*; en rosado y anaranjado, clados de *Sc. chiquitanius*; en marrón y verde oscuro, clados asignados a *Sc. ruber* de secuencias aportadas en el presente estudio. La escala representa 5 sustituciones por cada 100 nucleótidos.

5.4.3 Distancia genética

Se midió la distancia genética del gen 16S rRNA entre las poblaciones de *Scinax garbei*, *Sc. ictericus*, *Sc. chiquitanius* y *Sc. ruber*. De éstos se obtuvo que las poblaciones de *Sc. garbei* del SE de Ecuador, Jenaro Herrera y Panguana (las cuales conforman el

clado color rojo en los análisis filogenéticos anteriores) presentan una disimilaridad promedio entre sí de 1.77%. En tanto, las poblaciones de Los Amigos e Inkaterra (clado verde claro) presentan una disimilaridad promedio entre sí de 0.27%, y las poblaciones cercanas de Tambopata (clado verde oscuro) presentan una disimilaridad promedio entre sí de 0.14% (ver tabla 14). El porcentaje de disimilaridad entre los clados rojo, verde claro y verde oscuro fluctúa entre 9.62% y 6.44%.

Tabla 14. Porcentaje de disimilaridad del gen 16S rRNA entre las poblaciones de *Scinax garbei*. A) Presenta los valores promedios por localidad. B) Presenta los valores promedios por clados. Valores en diagonal representan los porcentajes de disimilaridad dentro de cada localidad o grupo. Abreviaciones: Ec=Ecuador; J.He=Jenaro Herrera; Pang=Panguana; Inkat=Inkaterra; NC=No calculable, al tener sólo una secuencia.

A)	Ecuador	Jenaro Herrera	Panguana	Los Amigos	Inkaterra	Tambopata
Ecuador	NC					
Jenaro Herrera	2.09	NC				
Panguana	2.62	0.52	NC			
Los Amigos	7.79	8.05	8.31	0.31		
Inkaterra	7.85	7.85	8.12	0.20	NC	
Tambopata	8.97	9.49	9.23	6.15	6.22	0.13

B)	Ec/J.He/Pang	Los Amigos/Inkat	Tambopata
Ec/J.He/Pang	1.77		
Los Amigos/Inkat	8.19	0.27	
Tambopata	9.62	6.44	0.14

En cuanto al análisis de *Sc. ictericus* y *Scinax chiquitanus*, se obtuvo que el clado de *Sc. ictericus* tiene un porcentaje de disimilaridad promedio de 11.50% del clado de *Scinax chiquitanus*. El porcentaje de disimilaridad dentro de cada clado es de 1.0% (*Sc. ictericus*) y 3.12% (*Sc. chiquitanus*). La disimilaridad dentro de las poblaciones para ambos clados es baja (entre 0 – 4.58%), siendo la población de *Scinax chiquitanus* de Los Amigos la de mayor divergencia (ver tabla 15).

Tabla 15. Porcentaje de disimilaridad del gen 16S rRNA entre las poblaciones de *Scinax ictericus* y *Scinax chiquitanus*. A) Presenta los valores promedios por localidad. B) Presenta los valores promedios por clados. Valores en diagonal representan los porcentajes de disimilaridad dentro de cada localidad o grupo. Abreviaciones: icte= poblaciones asignadas a *Sc. ictericus*; chiq=poblaciones asignadas a *Sc. chiquitanus*; NC= No calculable, al tener sólo una secuencia.

A)	icte-Panguana	icte-Los Amigos	icte-Tambopata	chiq-Panguana	chiq- Los Amigos	chiq-Tambopata
icte-Panguana	NC					
icte-Los Amigos	4.58	0.18				
icte-Tambopata	4.49	0.45	0.31			
chiq-Panguana	12.13	10.06	10.42	0.00		
chiq-Los Amigos	12.94	10.87	11.23	2.56	4.58	
chiq-Tambopata	13.70	11.68	12.04	5.03	3.46	1.29

B)	<i>Sc. ictericus</i>	<i>Scinax chiquitanus</i>
<i>Sc. ictericus</i>	1.00	
<i>Scinax chiquitanus</i>	11.50	3.12

Finalmente, en el análisis de *Scinax ruber*, se obtuvo que el clado completo de *Sc. ruber* tiene un porcentaje de disimilaridad promedio de 3.45%. Los valores de disimilaridad dentro de las poblaciones es baja (entre 0.00 – 0.80%, ver tabla 16 A), y si se agrupan en clados (basado en los análisis filogenéticos realizados), el clado conformado por las poblaciones de *Scinax A* y *Scinax B* de Guyana Francesa, Los Amigos, Inkaterra y Panguana (clado en verde), presentan una disimilaridad promedio de 1.72%. Sin embargo, los valores de disimilaridad entre los cuatro clados determinados van desde 4.36% - 6.22%. Cabe resaltar que el clado que contiene lo más cercano a la localidad tipo (Guyana Francesa y Guyana), es la que presenta los mayores valores de disimilaridad con respecto al resto (ver Tabla 16 B).

Tabla 16. Porcentaje de disimilaridad del gen 16S rRNA entre las poblaciones de *Scinax ruber*. A) Presenta los valores promedios por localidades o sitios adyacentes. B) Presenta los valores promedios por clados. Valores en diagonal representan los porcentajes de disimilaridad dentro de cada localidad o grupo. Abreviaciones: D-Ecuador=grupo asignado como *Sc. ruber* “D” por Fouquet *et al.* 2007b; FG = Guyana Francesa; Gu = Guyana; A-FG (ó “A”) y B-FG (ó “B”) = grupos asignados como *Sc. ruber* “A” y “B” respectivamente por Fouquet *et al.* 2007b; LAmig = Los Amigos; Inkat = Inkaterra; Pang = Panguana; NC = No calculable, al tener sólo una secuencia.

A)	D-Ecuador	FG,Gu	A-FG	B-FG	Los Amigos	Inkaterra	Panguana	Tambopata
D-Ecuador	NC							
FG,Gu	6.10	0.80						
A-FG	5.41	4.57	0.36					
B-FG	5.77	5.36	1.69	0.32				
Los Amigos	5.31	4.64	1.24	2.04	NC			
Inkaterra	5.31	4.65	2.48	2.39	1.77	0.18		
Panguana	5.59	5.46	2.85	3.11	1.86	2.58	0.00	
Tambopata	4.60	6.46	5.76	5.58	6.46	6.11	7.00	0.17

B)	D-Ecuador	FG,GU	A/B/LAmig/Inkat/Pang	Tambopata
D-Ecuador	NC			
FG,GU	6.13	0.80		
A/B/LAmig/Inkat/Pang	5.30	4.73	1.72	
Tambopata	4.36	6.22	5.66	0.17

5.4.4 Análisis morfológico

Se revisó el patrón de coloración de los especímenes de *Scinax garbei*, *Scinax ictericus*, *Scinax chiquitanus* y *Scinax ruber*. En el caso de *Scinax garbei*, se encontró que no hay patrones de coloración que permitan distinguir entre las poblaciones. Hay variación en el patrón de coloración ventral, donde algunos individuos de la misma población presentan numerosas manchas oscuras en la región gular, y algunos presentan muy pocas. La variación observada no es consistente entre las poblaciones. La forma del rostro en la parte ventral y dorsal tiene ligeras variaciones, donde la población de Los Amigos (figura 29 e y f) presenta la forma más acuminada, mientras que la población de Jenaro Herrera es ligeramente más redondeada (figura 29 a y b).

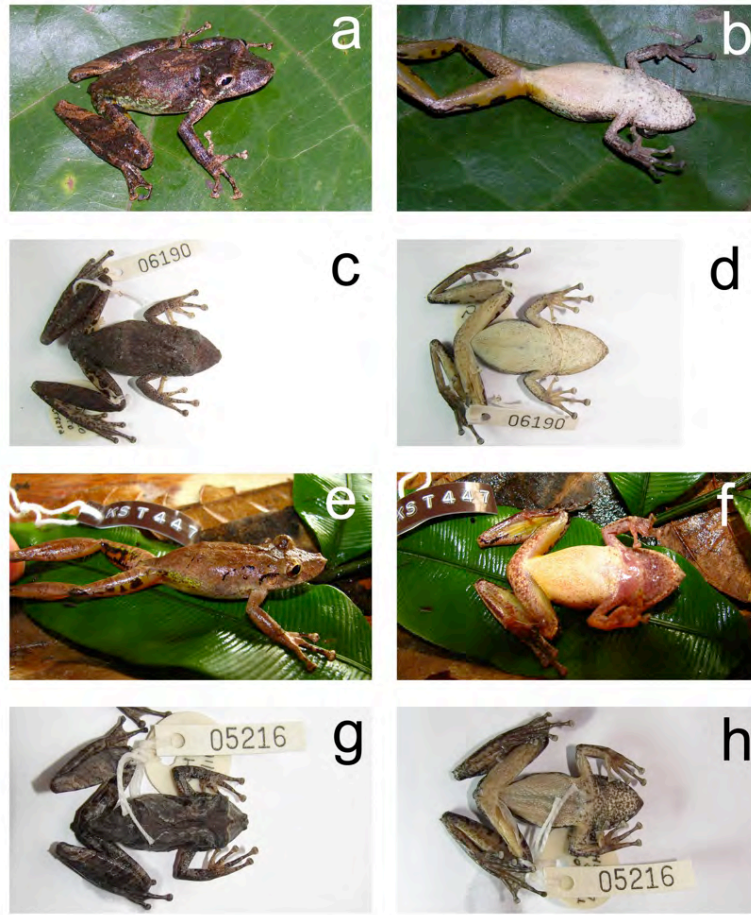


Figura 29. Comparación entre poblaciones de *Scinax garbei*: Vista dorsal y ventral de un espécimen la población de Jenaro Herrera (a y b), de la población de Panguana (c y d), de la población de Los Amigos (e y f), y de la población de Tambopata (g y h).

En el caso de *Scinax ictericus* y *Scinax chiquitanus*, es posible ver en los especímenes en vida, una sutil diferencia entre las dos especies, la cual está en la textura de la piel dorsal. Las poblaciones de Inkaterra y Los Amigos de *Sc. ictericus* tienen la piel granulosa en el dorso, mientras que *Sc. chiquitanus* tiene la piel del dorso mayormente lisa (figura 30). Sin embargo, este carácter no fue tan evidente para distinguir entre *Sc. ictericus* y *Sc. chiquitanus* de Panguana, ya que todos los especímenes revisados de esta localidad tenían piel casi lisa. En cuanto a la comparación de poblaciones en cada especie, no se encontró alguna diferencia conspicua, excepto por el color del iris en vida, el cual es más amarillo para las poblaciones de Panguana en ambas especies, mientras que es más rojizo para las poblaciones de Los Amigos (figura 30 a y c, g e i).

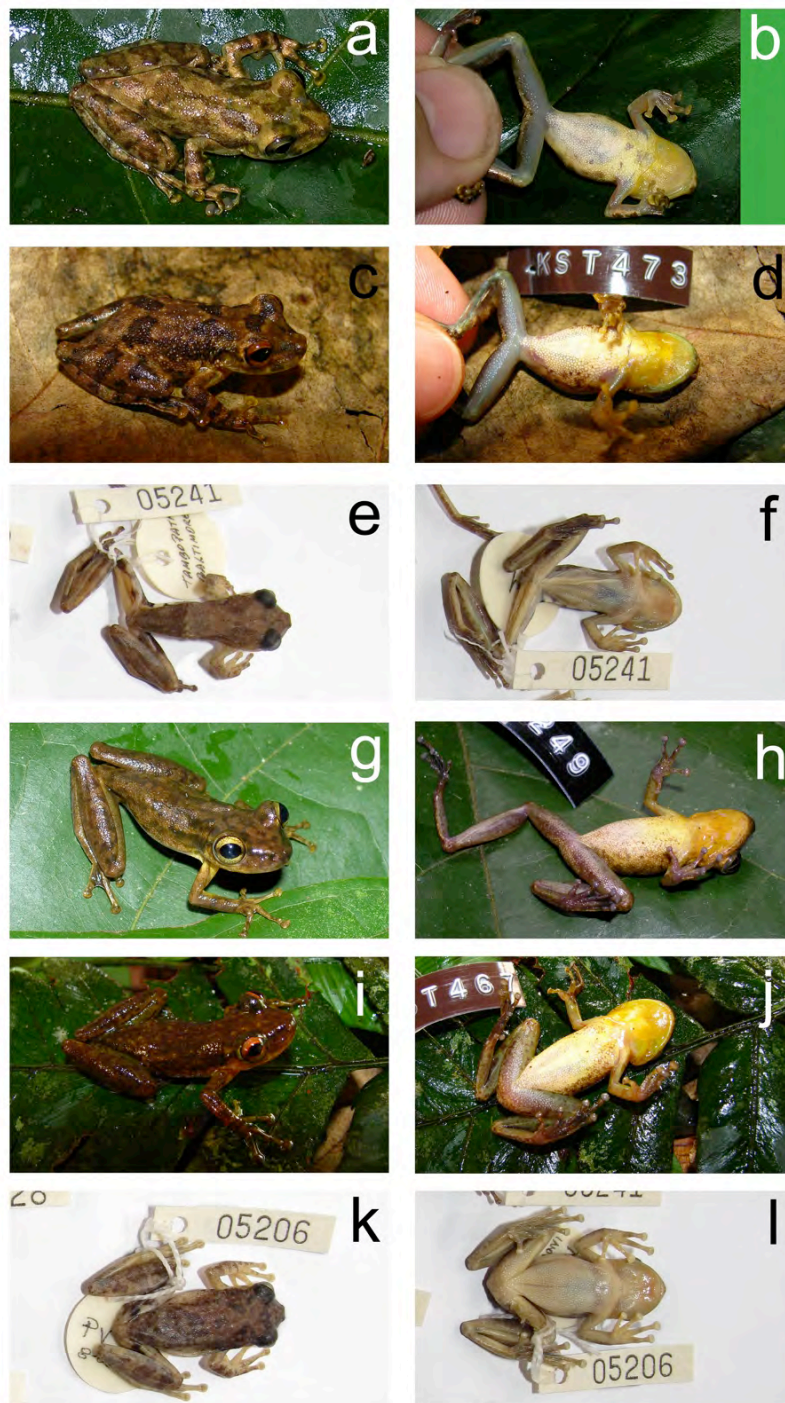


Figura 30. Comparación entre poblaciones de *Scinax ictericus* (a – f) y *Scinax chiquitanus* (g – l): Vista dorsal y ventral de un espécimen la población de Panguana (a y b, g y h), de la población de Los Amigos (c y d, i y j), y de la población de Tambopata (e y f, k y l).

En el caso de *Scinax ruber*, sólo se encontró diferencias entre algunas poblaciones en el patrón de manchas negras sobre fondo claro en la región lateral (figura 31). Los especímenes revisados de las poblaciones de Tambopata y Panguana

presentan un mayor número de manchas en los lados, mientras que hay una ligera reducción de éstas en los especímenes de Inkaterra, y una mayor reducción en el espécimen de Los Amigos. La variación observada podría no ser consistente entre las poblaciones, ya que en la literatura se registra variación en los patrones de coloración (Duellman 2005). En cuanto a la forma del hocico (carácter que podría ayudar a distinguir entre especies de *Scinax*, siguiendo a Duellman 2005 y Jansen *et al.* 2011), todas las poblaciones de las que se tuvo “*vouchers*” presentaron la misma forma: hocico ligeramente alargado (figura 31).

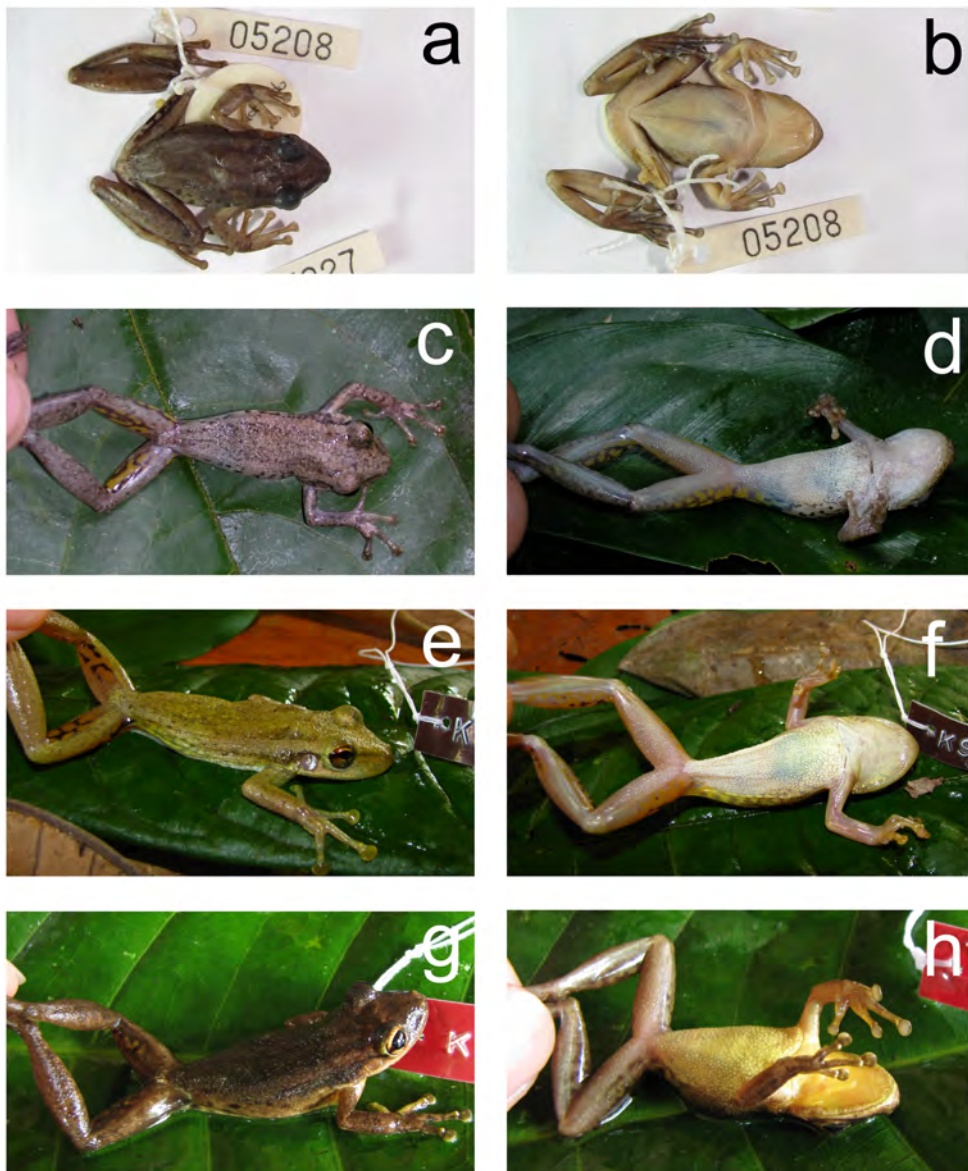


Figura 31. Comparación entre poblaciones de *Scinax ruber*. Vista dorsal y ventral de un espécimen de Tambopata (a y b), de Panguana (c y d), de Los Amigos (e y f), y de Inkaterra (g y h).

6. Discusión

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la variación geográfica y genética de especies crípticas de anfibios de amplia distribución en la Amazonia de Perú. Para este fin se utilizó los marcadores genéticos más utilizados en “DNA barcode” de anfibios (16S rRNA y COI), y se tomó como modelo de estudio algunas especies de los géneros *Ameerega*, *Hypsiboas*, *Scinax*, *Oreobates* y *Pristimantis*. Se combinó, además, datos de la morfología externa para apoyar o discutir los resultados moleculares. El enfoque geográfico del estudio estuvo principalmente en ocho localidades de la Amazonia de Perú: Jenaro Herrera, Gueppí, Curupa y Redondococha (en el departamento de Loreto, norte de Perú); Panguana (departamento de Huánuco, centro de Perú), Los Amigos, Inkaterra y Tambopata (las tres en el departamento de Madre de Dios, sureste de Perú), abarcando una distancia geográfica de 1000 km de norte a centro y 790 km de centro a sur.

6.1 Implicancias taxonómicas: integrando datos genéticos y morfología

En el caso del clado de *Ameerega altamazonica*, *Ameerega rubriventris*, *Ameerega* sp. de Panguana y *Ameerega* sp. de Ivochote, los análisis filogenéticos con los genes 16S rRNA y COI nos muestran que estos clados siempre se agrupan con altos valores de soporte. Hay bajos valores de soporte en las ramas más basales de *Ameerega*, pero esto se explica por la historia de divergencia reciente del grupo, ya que la radiación de *Ameerega* en la Amazonia data de hace 8.7 millones de años y posee la tasa de diversificación más alta en la familia Dendrobatidae (un factor de 3.23–7.55, según Santos *et al.* 2009). Combinar el uso de otros marcadores moleculares con tasas más rápidas de mutación podría ayudar a obtener mejor resolución en la parte basal de dichas ramas. A pesar de esto, las agrupaciones en las terminales de las ramas sí tienen valores de soporte altos, lo que las hace informativas y ayudan a determinar la relación entre las poblaciones y especies más relacionadas. En base a los resultados observados, es posible determinar que *Ameerega* sp. de Panguana y *Ameerega* sp. de Ivochote corresponden a clados divergentes que no se agrupan con *Ameerega altamazonica* ni *Ameerega rubriventris*. Estos a su vez, no se agrupan con *Ameerega hahneli*, lo cual concuerda con filogenias anteriores de *Ameerega* (Twomey y Brown 2008; Brown y Twomey 2009; Santos *et al.* 2009). La distancia genética con el marcador 16S rRNA (entre 2.57% y 2.21%), apoya la separación de *Ameerega* sp. de Panguana de *A. altamazonica* y *A. rubriventris*. La distancia con el marcador 16S rRNA entre *A. rubriventris* y *A. altamazonica* (especies ampliamente reconocidas como válidas) es tan

solo de 1.50%, con lo cual las distancias entre *Ameerega* sp. de Panguana y *Ameerega* sp. de Ivochote (entre 2.66% y 3.63%) apoyan su separación de las dos anteriores. La evidencia morfológica apoya la separación de *Ameerega* sp. de Panguana de *Ameerega altamazonica* y *Ameerega rubriventris*, lo cual es congruente con los resultados de los marcadores genéticos utilizados. Sin embargo, este resultado está en desacuerdo con el trabajo de Twomey y Brown (2008) quienes tentativamente asignaron a *Ameerega* sp. de Panguana como una población de *Ameerega altamazonica* en base solamente al canto (en dicho trabajo demuestran que *Ameerega* sp. de Panguana y *A. altamazonica* tienen cantos similares). Un estudio más exhaustivo sobre la variación del canto entre las especies y poblaciones de este clado permitirá tener un mejor entendimiento de los límites de especies y evolución en este grupo. Finalmente, del análisis de *Ameerega*, es posible ver que la otra especie morfológicamente más similar a las especies del clado de *Ameerega altamazonica*, *Ameerega rubriventris*, *Ameerega* sp. de Panguana y *Ameerega* sp. de Ivochote es *A. hahneli*, pero esta última es genéticamente bastante más distanciada y está más relacionada con *A. pulchripecta* (resultado que coincide con el de Twomey y Brown 2008 y Brown y Twomey 2009). Todas las poblaciones de *A. hahneli* forman un gran clado monofilético. A pesar de que la distancia con el marcador 16S rRNA entre los clados del norte, centro y sur están entre 2.19% y hasta 2.99%, (valores que por ejemplo sí podrían diferenciar entre poblaciones en el clado de *A. altamazonica*, *A. rubriventris*, *Ameerega* sp. de Panguana y *Ameerega* sp. de Ivochote), la evidencia de los caracteres morfológicos no permite distinguir estas poblaciones entre sí.

En el caso del análisis de *Oreobates* y de *Pristimantis*, se encontró que el clado de *O. quixensis* (para el cual se enfocó el análisis) presenta una estructura que soporta la separación de la población de Panguana del resto (Loreto, Ecuador, Los Amigos y Bolivia). A pesar de que aún *O. quixensis* aparece como un clado monofilético, la distancia que presenta con el gen 16S rRNA es bastante alta (entre 5.39% y 6.55%). Esta divergencia podría coincidir con un carácter morfológico (la textura de la piel dorsal), pero mayores análisis con un mayor número de muestra podrían determinar la presencia de otros caracteres que ayuden a distinguir entre estas poblaciones. Otro caso en el que se encontró un resultado interesante fue en el clado de *Pristimantis reichlei* y *P. danae*, las cuales resultan parafiléticas en el análisis filogenético. Las dos poblaciones asignadas a *P. danae* en particular presentan una alta divergencia entre sí (7.49%), y la población de *P. reichlei* de Panguana aparece con una alta divergencia también con respecto a las otras poblaciones de *P. reichlei* y a las de *P. danae* (ver tabla 7). Al menos, los caracteres de la morfología externa como patrón de coloración detrás de los muslos, ausencia de pliegue dorsolateral, piel del vientre granulada y dorso “*shagreen*” (textura de la piel con

gránulos grandes y planos), caracteres utilizados para distinguir a *P. reichlei* de *P. peruvianus* (especie con la que hubo mucha confusión taxonómica por muchos años) en el trabajo de Padial y De la Riva (2009), no permiten distinguir a las poblaciones de *P. reichlei* del centro y sureste de Perú (ver figura 14). Sin embargo, lo que se denomina como *P. danae* y *P. reichlei* presentan caracteres morfológicos (pliegue dorsolateral leve en *P. danae*, ausente en *P. reichlei*) y de distribución altitudinal (*P. danae* ocurre en bosques montanos, mientras que *P. reichlei* ocurre en los bosque más bajos) que permite discriminar entre las dos especies (Padial y De la Riva 2009). En todo caso, la polifilia observada para *P. danae* podría quizás ser explicada por una posible historia de divergencia reciente o una segregación incompleta de los linajes en *P. danae* y *P. reichlei* (Catenazzi, com. pers.; Padial, com. pers.).

En el caso del análisis de *Hypsiboas*, los resultados del presente trabajo muestran clados divergentes en *Hypsiboas lanciformis*, *H. calcaratus*, *H. fasciatus* e *H. geographicus*. En *H. lanciformis*, *H. calcaratus* e *H. geographicus* se observan dos clados, mientras que en *H. fasciatus* se obtuvo cinco clados con altos valores de soporte. Las distancias observadas con el gen 16S rRNA entre los clados divergentes en cada una de estas especies nominales son mayores al 3%: *H. lanciformis* (3.28%), *H. calcaratus* (6.36%), *H. geographicus* (6.22%), y en el caso de *H. fasciatus* los clados divergen entre 3.39% y 7.45%. Para estos grupos taxonómicos sólo fue posible encontrar diferencias morfológicas consistentes que apoyan las divergencias observadas en *H. fasciatus* (en el patrón de coloración: tamaño de las manchas negras en los muslos) y en *H. calcaratus* (presencia de pliegue en el antebrazo y patrón de coloración). Sin embargo, en el caso de *H. calcaratus* convendría incluir un análisis morfológico con un tamaño de muestra mayor para determinar caracteres consistentes en las poblaciones estudiadas. Cabe destacar que en el caso particular de *H. fasciatus*, los resultados del presente estudio concuerdan en parte con un trabajo reciente que buscó especies crípticas en la Amazonia de Ecuador (Funk *et al.* 2011). En este caso, el clado que corresponde a la población de Inkaterra correspondería al clado denominado "G" en dicho trabajo. Sin embargo, la topología que apoya la monofilia de las poblaciones putativamente asignadas a *Hypsiboas fasciatus* obtenida en el presente trabajo de tesis difiere de la que se halló en el trabajo de Funk *et al.* (2011), donde ellos encuentran que la especie *H. calcaratus* se anida entre las poblaciones putativamente asignadas a *H. fasciatus*. Aunque dicho trabajo utiliza métodos muy válidos para la reconstrucción filogenética, es posible que la diferencia en su topología se deba a un efecto de selección de grupo externo y de muestreo de taxones, ya que ellos no incluyeron a todos los miembros más relacionados del clado del grupo de *H. albopunctatus* en su análisis. En ninguno de los trabajos

filogenéticos y de taxonomía que se ha realizado en Hylidae (donde el muestreo de taxa es bastante completo para la reconstrucción filogenética), se ha encontrado una relación tan estrecha entre *H. fasciatus* e *H. calcaratus* (ver Wiens *et al.* 2005; Faivovich *et al.* 2005; Wiens *et al.* 2010; Pyron y Wiens 2011).

Finalmente, para el análisis de *Scinax*, se halló clados divergentes en *Sc. garbei*, *Sc. ictericus*, *Sc. chiquitanus* y *Sc. ruber*. En *Sc. ictericus* y *Sc. chiquitanus* se encontró dos clados, mientras que en *Sc. garbei* se encontró tres y en *Sc. ruber* se encontró ocho clados. Las distancias observadas con el gen 16S rRNA entre los clados divergentes fueron mayores al 3% en *Sc. garbei* y *Sc. ruber*. En el caso de *Sc. ictericus* y *Sc. chiquitanus* las distancias con el marcador 16S rRNA entre las poblaciones de cada una están en un rango entre 0.45% y 4.58% en *Sc. ictericus* y entre 2.56% y 5.06% en *Sc. chiquitanus*. Entre *Sc. chiquitanus* y *Sc. ictericus* la divergencia es de 11.50%, lo que corresponde a un linaje de divergencia antigua. Se consideró comparar ambas especies porque es muy difícil de distinguir las entre sí morfológicamente, sólo la textura de la piel del dorso (granulosa en *Sc. ictericus*, lisa en *Sc. chiquitanus*) podría constituir un carácter consistente. Sin embargo, al revisar las poblaciones de Panguana, se notó que este carácter no es tan marcado como en las otras poblaciones de Madre de Dios, con lo cual se podría argüir la existencia de una variación que se solapa en dicha población. En todo caso, un análisis morfológico más exhaustivo y con un mayor número de especímenes, además de otra información ecológica podría ayudar a distinguir mejor entre ambas especies, las cuales son consideradas válidas y genéticamente lo demuestran. En el caso de *Sc. garbei*, la divergencia genética con el marcador 16S rRNA es bastante alta (entre 6.44% y 9.62%), lo cual podría constituir una población con historia de divergencia antigua, como se ha observado en otros hílidos (Wiens *et al.* 2005). Sin embargo, en este caso no se encontró un carácter morfológico consistente que permita distinguir entre las poblaciones. Quizás un análisis de otros datos ecológicos o reproductivos (como por ejemplo datos de segregación de nicho o el canto) podrían apoyar la separación taxonómica de estos clados. Finalmente, en el caso de *Sc. ruber*, se encontró que los clados (los cuales corresponden a localidades geográficas de colecta), divergen entre 4.36% y 6.13% (valores mayores al umbral de 3% sugerido en la literatura). Sin embargo, todos los clados forman un grupo monofilético en el análisis filogenético, y este resultado concuerda con lo encontrado por Fouquet *et al.* (2007b). En el análisis del presente trabajo se observó que los clados de las poblaciones de Panguana, Inkaterra, Los Amigos y Guyana Francesa estarían agrupados con un valor alto (80%), y que además, el clado que corresponde a la población de Tambopata constituiría uno de los clados más ancestrales. Aunque sólo se encontró un carácter que podría ayudar a distinguir entre

poblaciones (densidad en el patrón de manchas oscuras en las regiones laterales del cuerpo), este carácter no sería congruente con las diferencias genéticas observadas ya que las poblaciones con mayor densidad de manchas fueron las de Tambopata y Panguana (ver Figura 31), y ésta última estaría más relacionada con las poblaciones de Inkaterra y Los Amigos (en Perú) y la Guyana Francesa. Fouquet *et al.* (2007b), en base a análisis de divergencia genética y haplotipos, sugiere que *Scinax ruber* contiene al menos seis linajes divergentes que representarían especies candidatas. Sin embargo, Fouquet *et al.* (2007a y b), sugieren que en el caso de *Sc. ruber* hay eventos de hibridización e historias evolutivas complejas que aún deben de ser exploradas bajo un punto de vista filogeográfico en combinación con datos de morfología y ecología para determinar si los linajes divergentes constituyen especies nuevas. En todo caso, para entender posibles procesos de especiación en esta especie nominal de amplia distribución, concordamos con Fouquet *et al.* (2007a y b) en que es necesario contar con muestras de un mayor número de localidades a lo largo de la cuenca amazónica, y que incluya, además, la localidad tipo.

6.2 Uso de umbrales y determinación de especies candidatas

El uso de umbrales para detectar especies nuevas ha sido altamente controversial, lo cual ha llevado a que en los últimos años se tome una actitud más integrativa y detallada sobre el uso de datos genéticos para delimitar especies. Por ejemplo, trabajos recientes como el de Dayrat (2005), Vieites *et al.* (2009) y Padial *et al.* (2010) han dado pautas para el uso y tratamiento de la información genética con el fin de obtener conclusiones sólidas y respaldadas en cuanto a la determinación de especies crípticas nuevas. Justamente en el trabajo de Vieites *et al.* (2009), se propone una clasificación de especies candidatas para los linajes genealógicos, los cuales se basan en la combinación de dicha información con otros datos que apoyen la separación de los linajes. Así, dicho trabajo propuso usar tres categorías: especies candidatas sin confirmar (UCS), especies candidatas confirmadas (CCS), y linajes conespecíficos profundos (DCL). La categoría de UCS se aplica cuando hay linajes que tiene divergencia no corregida de más del 3% (en el gen 16S rRNA) y para los cuales no hay suficiente información en morfología, bioacústica o distribución. La categoría de CCS se aplica cuando hay información morfológica o de algún carácter que genere una barrera reproductiva, y que tengan un porcentaje de divergencia no corregida en el gen 16S rRNA de 3% o más (pero que puede ser incluso de 1-2% en algunos casos). La categoría de DCL se aplica cuando la divergencia no corregida en el gen 16S rRNA es de 3% o más, no hay diferencias morfológicas ni de cantos que apoye la divergencia, pero hay co-

ocurrencia con otros haplotipos de divergencia profunda. En base a esta clasificación, se podría determinar que el presente trabajo presenta 7 CCS y 10 UCS (tabla 17).

Tabla 17. Clasificación de linajes divergentes del presente trabajo siguiendo los criterios de Vieites *et al.* 2009. CCS=Especie candidata confirmada; UCS=Especie Candidata sin confirmar.

Linajes identificados como CCS	Linajes identificados como UCS
<i>Ameerega</i> sp. de Panguana	<i>Ameerega</i> sp. de Ivochote
<i>Oreobates</i> sp. de Panguana	<i>Pristimantis danae</i> de Bolivia
<i>Hypsiboas</i> sp. de Los Amigos	<i>Pristimantis reichlei</i> de Panguana
<i>Hypsiboas</i> sp. de Gueppí y Curupa	Clado de <i>Hypsiboas lanciformis</i> de Los Amigos y Alpahuayo
<i>Hypsiboas</i> sp. de Inkaterra	Clado de <i>Hypsiboas calcaratus</i> de Curupa, Jenaro Herrera y Anguilla
Clado de <i>Hypsiboas</i> sp. de Guyana Francesa, Guyana y Surinam	Clado de <i>Hypsiboas geographicus</i> de Guyana Francesa, Tambopata, Los Amigos e Inkaterra
<i>Hypsiboas</i> sp. de Panguana	Clado de <i>Scinax garbei</i> de Panguana, Jenaro Herrera y Ecuador
	<i>Scinax ruber</i> de Tambopata
	<i>Scinax ruber</i> de Ecuador
	Clado de <i>Scinax ruber</i> de Panguana, Inkaterra, Los Amigos y Guyana Francesa

6.3 Ventajas y desventajas del uso del “DNA barcoding” en anfibios

Como todo tipo de información, el uso del “DNA barcode” debe ser manejado con cautela y conocimiento, y más aún, se debe utilizar en combinación con otra información para delimitar especies. El uso de la taxonomía integrativa actúa como un criterio que permite tener un mejor soporte para delimitar especies (Padial *et al.* 2010). Las desventajas que éste posee (y que se encontró durante la realización de este trabajo), fue justamente hallar un criterio que permitiera reunir de manera sistematizada la información que se tiene, y determinar así si los linajes que se observan en los resultados constituyen especies confirmadas o sin confirmar. Gracias a los trabajos de Vieites *et al.* (2009) y Padial *et al.* (2010), fue posible seguir un orden que permita clasificar los linajes con divergencias altas. Sin embargo, en el presente trabajo se encontró también que es difícil clasificar los linajes en base al porcentaje de divergencia, más aún cuando no se cuenta con un muestreo tan completo de las poblaciones que permita tener un mejor

panorama de las relaciones entre poblaciones. Por ejemplo, para designar que un linaje es candidato, se toma en cuenta la información de la localidad tipo, y en base a la información filogenética, distancia, morfología y/u otro dato, se asigna la categoría de clasificación (UCS o CCS). En algunos casos, no se contó con muestras disponibles de la localidad tipo, lo cual generó una ambigüedad para asignar qué población corresponde a la especie nominal. En casos como éstos, se podría seguir las sugerencias de Dayrat (2005) y Padial *et al.* (2010), que proponen el uso de un nombre distinto para denominar a dicho linaje, o asignar una terminología adicional en las secuencias cuando éstas son depositadas en repositorios públicos (por ejemplo: GenBank), hasta que la descripción de la especie sea realizada. Cabe resaltar que usar el criterio de Vieites *et al.* (2009) podría llevar a una sobre-estimación de especies candidatas; sin embargo, es un criterio que permitiría tomar en cuenta la información del “DNA barcode” de manera inicial, sobretodo cuando las descripciones de especies no son claras (y no permiten llegar a una identificación precisa), o hay falta de experiencia por parte del investigador.

Gracias a la información de los genes 16S rRNA y COI, es posible distinguir linajes que a simple vista no se puede diferenciar, y que en muchos casos, durante la realización de este trabajo, ha ayudado en la identificación de especies. Por ejemplo, en el caso de *Sc. ictericus*, *Sc. chiquitanus* y *Sc. ruber*, la mayoría de los especímenes utilizados, los cuales fueron identificados por diferentes investigadores en dos colecciones de Lima (MUSM y CORBIDI), estuvieron mal identificadas y confundidas entre sí. Gracias al presente trabajo, se ha podido re-identificar dichos especímenes, los cuales podrán pasar a formar parte de la colección de manera más organizada. Del mismo modo, esta herramienta permitió identificar renacuajos y especímenes juveniles que por lo general terminan asignados a “sp.” en las colecciones, cuando su identificación se basa sólo en datos morfológicos. Aunque integrar este tipo de técnicas podría representar un costo aún inasequible para muchos laboratorios e investigadores en el Perú, existen posibilidades a través de convenios e iniciativas (como la del “Barcode of Life” o la Institución Smithsonian, como se dio en el presente trabajo) que financian los secuenciamientos, materiales y entrenamiento para trabajar con estas técnicas con el fin de generar información nueva que ayude en el conocimiento de la biodiversidad.

6.4 Subestimación de la Biodiversidad y Conservación

Numerosos trabajos en anfibios neotropicales han demostrado que la riqueza de especies de anfibios es aún vastamente subestimada (Chek *et al.* 2001; Grant *et al.* 2006; Loughheed *et al.* 2006; Roberts *et al.* 2006; Fouquet *et al.* 2007a; Crawford *et al.* 2010;

Funk *et al.* 2011; Jansen *et al.* 2011). Este trabajo concuerda con estos resultados en que para muchas de las especies que son morfológicamente crípticas o difícil de distinguir entre sí, la información de los genes mitocondriales (como aquellos utilizados en el “DNA barcode”), ayudan a revelar aquellos grupos que son divergentes, y permiten también identificarlos de manera adecuada. Del presente estudio, enfocado en tan solo cinco géneros de anuros, se estima que hay por lo menos siete especies candidatas que podrían corresponder a especies nuevas para la ciencia, y diez que aún requieren de mayor información para confirmar su estado taxonómico. Los anfibios son en la actualidad uno de los grupos de vertebrados más amenazados (Stuart *et al.* 2004). Las secuencias del “DNA barcode” también pueden ser utilizados para conseguir un mejor conocimiento de la dinámica de la diversidad estudiada. Así, Crawford *et al.* (2010) demuestran que el uso de marcadores moleculares para detectar linajes divergentes es de mucha utilidad no sólo para estimar la diversidad actual, sino también aquella perdida a través de los años por amenazas como el hongo quitridio o la pérdida del hábitat. Crawford *et al.* (2010) trabajaron en un área de conservación en Panamá (El Copé) que tenía más de diez años de programas de monitoreos continuos, y donde se registró un notable declive de la diversidad a partir del año 2004. El presente trabajo de tesis, aunque no permite aún tener un conocimiento de este nivel (ya que se necesitan años de profundo conocimiento y monitoreo de la diversidad de las áreas estudiadas), representa un primer paso que ayuda a direccionar esfuerzos de conservación, sobretodo en un grupo taxonómico tan vulnerable, como son los anfibios.

El incremento de la diversidad también puede tener un gran impacto con respecto a las medidas y estado de conservación de las especies, ya que restringe las distribuciones de las que anteriormente se pensaban eran ampliamente distribuidas. Un ejemplo de esto podría ser el caso de *Ameerega altamazonica* y *Ameerega* sp. de Panguana. Por falta de muestras, Twomey y Brown (2008) asignaron a *Ameerega* sp. de Panguana como una población más de *Ameerega altamazonica*, determinando así que *A. altamazonica* se distribuía en la vertiente oriental de la Cordillera Oriental desde el departamento de San Martín hasta Huánuco. Sin embargo, en el presente trabajo donde se ha contribuido con más datos genéticos y de morfología, es evidente que *A. altamazonica* y *Ameerega* sp. de Panguana constituirían unidades taxonómicas distintas, lo cual restringe la distribución de *A. altamazonica* a la zona de San Martín y Tocache, más cerca de la Cordillera Azul. A su vez, *Ameerega* sp. de Panguana, se consideraría una especie restringida a la ladera oeste de la Cordillera del Sira (la localidad de donde se conoce). Dado que sus distribuciones son restringidas y este grupo está amenazado por el comercio de especies y destrucción de su hábitat, ambas unidades taxonómicas

podrían calificar a alguna categoría de conservación más alta (siguiendo los lineamientos de la Unión Internacional por la Conservación de la Naturaleza, UICN, disponibles en www.iucn.org).

Viendo este tema bajo un punto de vista geográfico, el incremento de la riqueza de especies también puede ayudar en priorizar zonas de conservación. Siguiendo la definición de Unidades Evolutivamente Significantes (ESU) de Moritz (1994), este término se puede aplicar a especies, poblaciones y razas geográficas apoyadas por datos de estructura de población histórica o filogenias de DNA mitocondrial, con fines de conservación. Por ejemplo, la localidad de Panguana (en el departamento de Huánuco) presenta tres de las CCS encontradas en este trabajo (una del género *Ameerega*, una del género *Oreobates* y otra del género *Hypsiboas*), además de tres UCS (una del género *Pristimantis* y dos del género *Scinax*). En este caso, Panguana presentaría seis ESU's, lo cual provee de más razones para promover la conservación de esta concesión privada para conservación. Otro ejemplo lo proporciona la localidad de Los Amigos la cual presenta tres UCS (dos del género *Hypsiboas* y una del género *Scinax*), y la localidad de Inkaterra, la cual también contiene dos de las mismas UCS. Por tanto, en el caso de Los Amigos, esta localidad contiene tres ESU's que justifica los esfuerzos de conservación realizados en esta concesión privada para conservación, al igual que en Inkaterra (el cual es un albergue ecológico), el cual presenta dos ESU's (las mismas que en Los Amigos). Esta observación también apoyaría las propuestas de manejo de distintas áreas de conservación en Madre de Dios, a manera de un gran corredor biológico que conecta dichas áreas.

7. Conclusiones

1. La información de los genes mitocondriales 16S rRNA y COI permitió la detección eficiente de linajes divergentes en anfibios de amplia distribución, usando el criterio de clasificación de linajes evolutivos en base a la taxonomía integrativa.
2. Las especies nominales que presentaron mayor divergencia (mayores 3% en base al gen mitocondrial 16S rRNA) en sus poblaciones fueron *Oreobates quixensis*, *Pristimantis danae*, *Pristimantis reichlei*, *Hypsiboas calcaratus*, *Hypsiboas fasciatus*, *Hypsiboas geographicus*, *Scinax ruber* y *Scinax garbei*. En el caso de *Ameerega*, las divergencias son bajas (entre 2% y 3%), las cuales podrían ser explicadas por la reciente historia de divergencia del grupo.
3. La evidencia de la morfología apoya la divergencia observada sólo para *Ameerega* sp. de Panguana (de *Ameerega altamazonica*), *Hypsiboas fasciatus* (clados del sureste de Perú con los del centro y norte), *Hypsiboas calcaratus* (dos clados en localidades geográficas cercanas en el Norte de Perú y sur de Ecuador) y *Oreobates* sp. de Panguana (de *Oreobates quixensis*).
4. Se encontró un total de siete especies candidatas confirmadas (una del género *Ameerega*, una del género *Oreobates*, y cinco del género *Hypsiboas*) y diez especies candidatas sin confirmar (una del género *Ameerega*, dos del género *Pristimantis*, tres del género *Hypsiboas* y cuatro del género *Scinax*).
5. Se justifica los esfuerzos de conservación en las localidades de Panguana (departamento de Huánuco, centro de Perú) y Los Amigos (departamento de Madre de Dios, sureste de Perú), debido a la presencia de varios ESU's (seis en Panguana y tres en Los Amigos).

8. Recomendaciones

1. La estrategia de muestreo puede tener efectos importantes sobre la reconstrucción filogenética. Se sugiere que, para objetivos como el de delimitar especies, lo mejor sería incluir a todos los taxones más relacionados para los que hay muestras disponibles, y donde fuera posible, enriquecer el muestreo con más localidades, lo cual permitiría tener un panorama más completo de las divergencias observadas.
2. Los resultados del presente estudio generan nueva e importante información que ayudará a incrementar la diversidad en anfibios de Perú. Para culminar este fin, se sugiere complementar con estudios a futuro más profundos sobre la morfología y otros aspectos ecológicos (p.ej. diferenciación de nicho ecológico) que permitan entender la divergencia entre los grupos estudiados. De esta forma, se podría conseguir mejorar el conocimiento del estado taxonómico de dichas especies nominales.

9. Referencias Bibliográficas

- Altig, R. 1970. A Key to the Tadpoles of the Continental United States and Canada. *Herpetologica* 26: 180-207.
- Amézquita, A.; A. Lima; R. Jehle; L. Castellanos; O. Ramos; A. Crawford; H. Gasser; W. Hödl. 2009. Calls, colours, shape, and genes: a multi-trait approach to the study of geographic variation in the Amazonian frog *Allobates femoralis*. *Biological Journal of the Linnean Society* 98: 826–838.
- Angulo, A.; J. Rueda-Almonacid; J. Rodríguez-Mahecha; E. La Marca. 2006. Técnicas de Inventario y Monitoreo para los Anfibios de la Región Tropical Andina. Serie de Manuales de Campo 2. Conservación Internacional. 300 pp.
- Biodiversity Institute of Ontario: Barcode of Life Data Systems (BOLD). [web application]. 2007. Ontario, Canada. Disponible en: <http://www.boldsystems.org/views/login.php>
- Blaustein, A.; D. Wake; W. Sousa. 1994. Amphibian declines – judging stability, persistence and susceptibility of populations to local and global extinctions. *Conservation Biology* 8: 60-71.
- Brown, J.; E. Twomey. 2009. Complicated histories: three new species of poison frogs of the genus *Ameerega* (Anura: Dendrobatidae) from north-central Peru. *Zootaxa* 2049: 1-38.
- Castresana, J. 2000. Selection of conserved blocks from multiple alignments for their use in phylogenetic analysis. *Molecular Biology and Evolution* 17: 540-552.
- Chek, A.; S. Loughheed; J. Bogart; P. Boag. 2001. Perception and history: molecular phylogeny of a diverse group of neotropical frogs, the 30-chromosome *Hyla* (Anura: Hylidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 18: 370–385.
- Crawford, A.; K. Lips; E. Bermingham. 2010. Epidemic disease decimates amphibian abundance, species diversity, and evolutionary history in the highlands of central Panama. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA* 107: 13777–13782.
- Dayrat, B. 2005. Towards integrative taxonomy. *Biological Journal of the Linnean Society* 85: 407–415.
- DeSalle, R.; M. Egan; M. Siddall. 2005. The unholy trinity: taxonomy, species delimitation and *DNA barcoding*. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, B* 360: 1905-1916.

- Duellman, W. 2005. Cusco Amazónico. The lives of amphibians and reptiles in an Amazonian rainforest. Cornell University Press. 433pp.
- Edgar, R. 2004. MUSCLE: a multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity. BMC Bioinformatics 5: 113. (Disponible en: www.ebi.ac.uk/Tools/muscle/index.html.)
- Elmer, K.; D. Cannatella. 2008. Three new species of leaf litter frogs from the upper Amazon forests: cryptic diversity within *Pristimantis "ockendeni"* (Anura: Strabomantidae) in Ecuador. Zootaxa 1784: 11–38.
- Faivovich, J.; C. Haddad; P. Garcia; D. Frost; J. Campbell; W. Wheeler. 2005. Systematic review of the frog Family Hylidae, with special reference to Hylinae: Phylogenetic analysis and taxonomic revision. Bulletin of the American Museum of Natural History, 294: 1-240.
- Folmer, O.; M. Black; W. Hoeh; R. Lutz; R. Vrijenhoek. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Molecular Marine Biology and Biotechnology 3: 294–299.
- Fouquet, A.; A. Gilles; M. Vences; C. Marty; M. Blanc; N. Gemmell. 2007a. Underestimation of species richness in neotropical frogs revealed by mtDNA analyses. PLoS ONE 2, e1109.
- Fouquet, A. ; M. Vences; M. Salducci; A. Meyer; C. Marty; M. Blanc; A. Gilles. 2007b. Revealing cryptic diversity using molecular phylogenetics and phylogeography in frogs of the *Scinax ruber* and *Rhinella margaritifera* species groups. Molecular Phylogenetics and Evolution 43: 567–582.
- Funk, C.; J. Caldwell; C. Peden; J. Padial; I. De la Riva; D. Cannatella. 2007. Tests of biogeographic hypotheses for diversification in the Amazonian forest frog, *Physalaemus petersi*. Molecular Phylogenetics and Evolution 44: 825–837.
- Funk, C.; M. Caminer; S. Ron. 2011. High levels of cryptic species diversity uncovered in Amazonian frogs. Proceedings of the Royal Society B 279: 1806-1814.
- Gascuel, O. 1997. BIONJ: an improved version of the NJ algorithm based on a simple model of sequence data. Molecular Biology and Evolution 14: 685-695.
- Grant, T.; D. Frost; J. Caldwell; R. Gagliardo; C. Haddad; P. Kok; D. Means; B. Noonan; W. Schargel; W. Wheeler. 2006. Phylogenetic systematics of dart-poison frogs and their relatives (Amphibia: Athesphatanura: Dendrobatidae). Bulletin of the American Museum of Natural History 299: 1–261.

- Guindon, S.; J. Dufayard; V. Lefort; M. Anisimova; W. Hordijk; O. Gascuel. 2010. New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Systematic Biology* 59: 307–321.
- Hajibabaei, M.; D. Janzen; J. Burns; W. Hallwachs; P. Hebert. 2006. DNA barcodes distinguish species of tropical Lepidoptera. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 103: 968-971.
- Hanken, J. 1999. Why are there so many new amphibian species when amphibians are declining? *Trends in Ecology and Evolution* 14: 7-8.
- Hebert, P.; A. Cywinska; S. Ball; J. deWaard. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London series B* 270: 313-321.
- Hedges, S.; W. Duellman; M. Heinicke. 2008. New World direct-developing frogs (Anura: Terrarana): Molecular phylogeny, classification, biogeography, and conservation. *Zootaxa* 1737: 1 – 182.
- Heyer, R.; M. Donnelly; R. McDiarmid; L. Hayek; M. Foster (editores). 1994. *Measuring and Monitoring Biological Diversity, Standard Methods for Amphibians*. Smithsonian Institution Press. Washington D.C. 364 pp.
- Jansen, M.; R. Bloch; A. Schulze; M. Pfenninger. 2011. Integrative inventory of Bolivia's lowland anurans reveals hidden diversity. *Zoologica Scripta* 40: 567–583.
- Katoh, T. 2010. Parallelization of the MAFFT multiple sequence alignment program. *Bioinformatics* 26:1899-1900. (Disponible en: <http://mafft.cbrc.jp/alignment/software/>)
- Keane, T.; C. Creevey; M. Pentony; T. Naughton; J. McInerney. 2006. Assessment of methods for amino acid matrix selection and their use on empirical data shows that ad hoc assumptions for choice of matrix are not justified. *BMC Evolutionary Biology* 6: 29.
- Köhler, J.; D. Vieites; R. Bonett; F. García; F. Glaw; D. Steinke; M. Vences. 2005. New amphibians and global conservation: A boost in species discoveries in a highly endangered vertebrate group. *BioScience* 55: 693-969.
- Lehr, E. 2002. *Amphibien und Reptilien in Peru*. Natur-und Tier-Verlag. Münster. Alemania.
- Letunic, I.; P. Bork. 2007. Interactive Tree Of Life (iTOL): an online tool for phylogenetic tree display and annotation. *Bioinformatics* 23(1): 127-128. (Disponible en <http://itol.embl.de/>).

- Lips, K.; F. Brem; R. Brenes; J. Reeve; R. Alford; J. Voyles; C. Carey; L. Livo; A. Pessier; J. Collins. 2006. Emerging infectious diseases and the loss of biodiversity in a Neotropical amphibian community. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 103: 3165-3170.
- Lötters, S.; M. Vences. 2000. Bemerkungen zur Nomenklatur und Taxonomie peruanischer Pfeilgiftfrösche (Anura: Dendrobatidae: *Dendrobates*, *Epipedobates*). *Salamandra* 36: 247–260.
- Lougheed, S.; J. Austin; J. Bogart; P. Boag; A. Chek. 2006. Multi-character perspectives on the evolution of intraspecific differentiation in a neotropical hyliid frog. *BMC Evolutionary Biology* 6: 23.
- Moritz, C. 1994. Defining 'Evolutionarily Significant Units' for conservation. *Trends in Ecology and Evolution* 9 (10): 373 – 375.
- Muller, J.; C. Creevey; J. Thompson; D. Arendt; P. Bork. 2010. AQUA: automated quality improvement for multiple sequence alignments. *Bioinformatics* 26: 263-265.
- Padial, J.; J. Chaparro; I. De La Riva. 2008. Systematics of *Oreobates* and the *Eleutherodactylus discoidalis* species group (Amphibia, Anura), based on two mitochondrial DNA genes and external morphology. *Zoological Journal of the Linnean Society* 152: 737–773.
- Padial, J; I. De la Riva. 2009. Integrative taxonomy reveals cryptic Amazonian species of *Pristimantis* (Anura: Strabomantidae). *Journal of the Linnean Society* 155: 97–122.
- Padial, J; A. Miralles; I. De la Riva; M. Vences. 2010 The integrative future of taxonomy. *Frontiers in Zoology* 7: 16.
- Palumbi, S.; A. Martin; S. Romano; W. McMillan; L. Stice; G. Grabowski. 1991. *The Simple Fool's Guide to PCR, Version 2.0*, Publicación Privada, Universidad de Hawaii.
- Pyron, A.; J. Wiens. 2011. A large-scale phylogeny of Amphibia including over 2800 species, and a revised classification of extant frogs, salamanders, and caecilians. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 61: 543–583.
- Ratnasingham, S.; P. Hebert. 2007. BOLD: The Barcode of Life Data System (www.barcodinglife.org). *Molecular Ecology Notes* (disponible en línea como doi: 10.1111/j.1471-8286.2006.01678.)

- Roberts, J.; J. Brown; R. Von May; W. Arizabal; R. Schulte; K. Summers. 2006. Genetic divergence and speciation in lowland and montane Peruvian poison frogs. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 41:149–164.
- Santos, J.; L. Coloma; K. Summers; J. Caldwell; R. Ree; D. Cannatella. 2009. Amazonian amphibian diversity is primarily derived from late Miocene Andean lineages. *PLoS Biology* 7(3):e56.
- Schlüter, A. 2005. *Amphibien an einem Stillgewässer in Peru*. Edition Chimaira, Frankfurt am Main, Alemania.
- Stuart, S.; J. Chanson; N. Cox; B. Young; A. Rodrigues; D. Fischman; R. Waller. 2004. Status and Trends of Amphibian Declines and Extinctions Worldwide. *Science* 306: 1783–1786.
- Stuart, B.; R. Inger; H. Voris. 2006. High level of cryptic species diversity revealed by sympatric lineages of Southeast Asian forest frogs. *Biology Letters* 2: 470-474.
- Tamura K.; J. Dudley; M. Nei; S. Kumar. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution* 24: 1596-1599.
- Tavaré, S. 1986. Some Probabilistic and Statistical Problems in the Analysis of DNA Sequences. *Lectures on Mathematics in the Life Sciences* (American Mathematical Society) 17: 57–86.
- Thompson, J.; F. Plewniak; R. Ripp; J. Thierry; O. Poch. 2001. Towards a reliable objective function for multiple sequence alignments. *Journal of Molecular Biology* 314: 937–951.
- Thompson, J.; J. Thierry; O. Poch. 2003. RASCAL: rapid scanning and correction of multiple sequence alignments. *Bioinformatics* 19: 1155-1161. (Disponible en: <ftp://ftp-igbmc.u-strasbg.fr/pub/RASCAL/>)
- Twomey, E.; J. Brown. 2008. A partial revision of the *Ameerega hahneli* complex (Anura: Dendrobatidae) and a new cryptic species from the East-Andean versant of Central Peru. *Zootaxa* 1757: 49–65.
- Vences, M.; J. Kosuch; R. Boistel; C. Haddad; E. La Marca; S. Lötters; M. Veith. 2003. Convergent evolution of aposematic coloration in Neotropical poison frogs: a molecular phylogenetic perspective. *Organisms Diversity & Evolution* 3: 215–226.

- Vences, M.; M. Thomas; R. Bonett; D. Vieites. 2005. Deciphering amphibian diversity through DNA barcoding: chances and challenges. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 360: 1859–1868.
- Vieites, D; K. Wollenberg; F. Andreone; J. Köhler; F. Glaw; M. Vences. 2009. Vast underestimation of Madagascar's biodiversity evidenced by an integrative amphibian inventory. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 106: 8267–8272.
- Von May, R.; J. Jacobs; R. Jennings; A. Catenazzi; L. Rodríguez. 2007. Anfibios de Los Amigos, Manu y Tambopata, Perú. Rapid Color Guide #236 versión 1. Environmental and Conservation Programs, The Field Museum, Chicago. (Disponible en internet en: www.fmnh.org/animalguides/).
- Von May, R.; K. Siu-Ting; J. Jacobs; M. Medina; G. Gagliardi; L. Rodríguez; M. Donnelly. 2009. The amphibians of Los Amigos Research Center with comments on the conservation status of amphibians in Madre de Dios, Peru. *Herpetological Conservation and Biology* 4(1): 14–29.
- Waterhouse, A.; J. Procter; D. Martin; M. Clamp; G. Barton. 2009. Jalview Version 2 - a multiple sequence alignment editor and analysis workbench. *Bioinformatics* 25 (9): 1189-1191. (Disponible en www.jalview.org/).
- Wiens J.; J. Fetzner; C. Parkinson; T. Reeder. 2005. Hylid Frog Phylogeny and Sampling Strategies for Speciose Clades. *Systematic Biology* 54(5): 719–748.
- Wiens, J.; C. Kuczynski; X. Hua; D. Moen. 2010. An expanded phylogeny of treefrogs (Hylidae) based on nuclear and mitochondrial sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 55: 871–882.
- Will, K.; B. Mishler; Q. Wheeler. 2005. The perils of DNA barcoding and the need for integrative taxonomy. *Systematic Biology* 54: 844-851.
- Wynn, A.; R. Heyer. 2001. Do geographically widespread species of tropical amphibians exist? An estimate of genetic relatedness within the neotropical frog *Leptodactylus fuscus* (Schneider 1799) (Anura Leptodactylidae). *Tropical Zoology* 14: 255–285.
- Xia, X.; P. Lemey. 2009. Assessing substitution saturation with DAMBE. Pp. 615-630 en: Lemey, P.; M. Salemi; A. Vandamme (editores). *The Phylogenetic Handbook: A Practical Approach to DNA and Protein Phylogeny*. 2nda edición. Cambridge University Press.

Xia, X.; Z. Xie. 2001. DAMBE: Data analysis in molecular biology and evolution. *Journal of Heredity* 92: 371-373.

10. Anexos

Anexo I. Lista de secuencias incluidas (genes 16S rRNA y COI) en el presente trabajo. Todas las muestras que comienzan con KST, AJC o CORBIDI en el ID de Muestra son aquellas especialmente secuenciadas para el presente trabajo.

Gen	ID de Muestra	Código Acc.	Especie	País	Localidad
16S	EF493571	EF493571	<i>Eleutherodactylus montanus</i>	República Dominicana	República Dominicana
16S	AY549335	AY549335	<i>Hypsiboas fasciatus</i>	Guyana	Guyana
16S	EU201108	EU201108	<i>Hypsiboas fasciatus</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	EU201109	EU201109	<i>Hypsiboas fasciatus</i>	Surinam	Surinam
16S	EF376065	EF376065	<i>Hypsiboas fasciatus</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	CORBIDI_5876	BSAPE556-12	<i>Hypsiboas fasciatus</i>	Peru	Loreto
16S	KST_0627	BSAPE339-12	<i>Hypsiboas fasciatus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0598	BSAPE337-12	<i>Hypsiboas fasciatus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0601	BSAPE335-12	<i>Hypsiboas fasciatus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0600	BSAPE338-12	<i>Hypsiboas fasciatus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0596	BSAPE336-12	<i>Hypsiboas fasciatus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_0202	BSAPE516-12	<i>Hypsiboas fasciatus</i>	Peru	Loreto
16S	KST_0550	BSAPE280-12	<i>Hypsiboas fasciatus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0543	BSAPE273-12	<i>Hypsiboas fasciatus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	AJC_2023	BSAPE023-09	<i>Hypsiboas fasciatus</i>	Peru	Huánuco
16S	AJC_2012	BSAPE012-09	<i>Hypsiboas fasciatus</i>	Peru	Huánuco
16S	CORBIDI_5237	BSAPE411-12	<i>Hypsiboas geographicus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_5221	BSAPE407-12	<i>Hypsiboas geographicus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_5253	BSAPE412-12	<i>Hypsiboas geographicus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_5197	BSAPE406-12	<i>Hypsiboas geographicus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0552	BSAPE282-12	<i>Hypsiboas geographicus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_5188	BSAPE462-12	<i>Hypsiboas geographicus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_5168	BSAPE405-12	<i>Hypsiboas geographicus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_5231	BSAPE409-12	<i>Hypsiboas geographicus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_5232	BSAPE410-12	<i>Hypsiboas geographicus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_5230	BSAPE408-12	<i>Hypsiboas geographicus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0602	BSAPE340-12	<i>Hypsiboas geographicus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_6180	BSAPE534-12	<i>Hypsiboas geographicus</i>	Peru	Loreto
16S	AY843628	AY843628	<i>Hypsiboas geographicus</i>	Guyana	Guyana
16S	EF376054	EF376054	<i>Hypsiboas geographicus</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	CORBIDI_5809	BSAPE544-12	<i>Hypsiboas geographicus</i>	Peru	Loreto
16S	EU201106	EU201106	<i>Hypsiboas geographicus</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	CORBIDI_5807	BSAPE542-12	<i>Hypsiboas boans</i>	Peru	Loreto
16S	AY843610	AY843610	<i>Hypsiboas boans</i>	Venezuela	Venezuela
16S	EF376055	EF376055	<i>Hypsiboas boans</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	EU201105	EU201105	<i>Hypsiboas boans</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	CORBIDI_5173	BSAPE404-12	<i>Hypsiboas boans</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0547	BSAPE277-12	<i>Hypsiboas cinerascens</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0537	BSAPE267-12	<i>Hypsiboas cinerascens</i>	Peru	Madre de Dios
16S	EU201113	EU201113	<i>Hypsiboas cinerascens</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	AY549336	AY549336	<i>Hypsiboas cinerascens</i>	Guyana	Guyana
16S	CORBIDI_6182	BSAPE535-12	<i>Hypsiboas calcaratus</i>	Peru	Loreto
16S	AY843613	AY843613	<i>Hypsiboas calcaratus</i>	Peru	Peru
16S	CORBIDI_5877	BSAPE557-12	<i>Hypsiboas calcaratus</i>	Peru	Loreto
16S	EF376064	EF376064	<i>Hypsiboas calcaratus</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	AY326056	AY326056	<i>Hypsiboas calcaratus</i>	Ecuador	Ecuador
16S	CORBIDI_0062	BSAPE512-12	<i>Hypsiboas calcaratus</i>	Peru	Loreto
16S	EF376057	EF376057	<i>Hypsiboas multifasciatus</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	EU201111	EU201111	<i>Hypsiboas multifasciatus</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	AY843648	AY843648	<i>Hypsiboas multifasciatus</i>	Guyana	Guyana
16S	EU201110	EU201110	<i>Hypsiboas multifasciatus</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	HM480433	HM480433	<i>Hypsiboas balzani</i>	ND	ND
16S	HM480432	HM480432	<i>Hypsiboas balzani</i>	ND	ND
16S	HM480434	HM480434	<i>Hypsiboas balzani</i>	ND	ND
16S	CORBIDI_5825	BSAPE546-12	<i>Hypsiboas lanciformis</i>	Peru	Loreto
16S	KST_0530	BSAPE260-12	<i>Hypsiboas lanciformis</i>	Peru	Madre de Dios
16S	AY326054	AY326054	<i>Hypsiboas lanciformis</i>	Ecuador	Ecuador
16S	CORBIDI_0058	BSAPE511-12	<i>Hypsiboas lanciformis</i>	Peru	Loreto
16S	AY843636	AY843636	<i>Hypsiboas lanciformis</i>	Peru	Peru
16S	CORBIDI_6203	BSAPE538-12	<i>Hypsiboas rufitelus</i>	Peru	Loreto
16S	KRL_1191	ND	<i>Hypsiboas rufitelus</i>	ND	ND
16S	KRL_0798	ND	<i>Hypsiboas rufitelus</i>	ND	ND
16S	AY843657	AY843657	<i>Hypsiboas raniceps</i>	Argentina	Argentina

16S	AF467269	AF467269	<i>Hypsiboas raniceps</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	AY549317	AY549317	<i>Hypsiboas albopunctatus</i>	Brasil	Brasil
16S	AF467270	AF467270	<i>Hypsiboas dentei</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	AY843632	AY843632	<i>Hypsiboas heilprini</i>	Pet Trade	Pet Trade
16S	CORBIDI_5875	BSAPE555-12	<i>Hypsiboas fasciatus</i>	Peru	Loreto
16S	KST_0546	BSAPE276-12	<i>Scinax pedromedinae</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0548	BSAPE278-12	<i>Scinax pedromedinae</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_5211	BSAPE443-12	<i>Scinax pedromedinae</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0559	BSAPE347-12	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0617	BSAPE348-12	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0561	BSAPE345-12	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0558	BSAPE346-12	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0604	BSAPE344-12	<i>Scinax garbei</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0471	BSAPE204-12	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_5241	BSAPE440-12	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_5251	BSAPE442-12	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_5206	BSAPE435-12	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_5249	BSAPE441-12	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_5174	BSAPE433-12	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0473	BSAPE206-12	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0486	BSAPE219-12	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_5228	BSAPE439-12	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_5240	BSAPE428-12	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0467	BSAPE201-12	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_5223	BSAPE438-12	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_5212	BSAPE436-12	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_5214	BSAPE437-12	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_5208	BSAPE446-12	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_5207	BSAPE445-12	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_5227	BSAPE449-12	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0579	BSAPE349-12	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Madre de Dios
16S	AY326034	AY326034	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Peru
16S	EU201092	EU201092	<i>Scinax ruber</i>	Surinam	Surinam
16S	AF467264	AF467264	<i>Scinax ruber</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	EF376073	EF376073	<i>Scinax ruber</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	AY549365	AY549365	<i>Scinax ruber</i>	Guyana	Guyana
16S	KST_0626	BSAPE350-12	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Madre de Dios
16S	EF217481	EF217481	<i>Scinax ruber</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	EF217486	EF217486	<i>Scinax ruber</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	EF217482	EF217482	<i>Scinax ruber</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	EF217485	EF217485	<i>Scinax ruber</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	EF217483	EF217483	<i>Scinax ruber</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	EF217484	EF217484	<i>Scinax ruber</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	KST_0528	BSAPE258-12	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Madre de Dios
16S	EF217473	EF217473	<i>Scinax ruber</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	EF217475	EF217475	<i>Scinax ruber</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	EF217477	EF217477	<i>Scinax ruber</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	EF217478	EF217478	<i>Scinax ruber</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	EF217474	EF217474	<i>Scinax ruber</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	EF217476	EF217476	<i>Scinax ruber</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	EF217487	EF217487	<i>Scinax ruber</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	KST_0249	BSAPE077-09	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Huánuco
16S	KST_0241	BSAPE069-09	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Huánuco
16S	KST_0239	BSAPE067-09	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Huánuco
16S	KST_0536	BSAPE266-12	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Madre de Dios
16S	AJC_2003	BSAPE003-09	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Huánuco
16S	EF217490	EF217490	<i>Scinax ruber</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	EF217488	EF217488	<i>Scinax ruber</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	EF217489	EF217489	<i>Scinax ruber</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	EU201091	EU201091	<i>Scinax ruber</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	CORBIDI_5225	BSAPE448-12	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_5209	BSAPE447-12	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_5205	BSAPE444-12	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_5245	BSAPE450-12	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0231	BSAPE059-09	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Huánuco
16S	AJC_2002	BSAPE002-09	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Huánuco
16S	CORBIDI_5213	BSAPE430-12	<i>Scinax garbei</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_5215	BSAPE431-12	<i>Scinax garbei</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_5169	BSAPE429-12	<i>Scinax garbei</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_5216	BSAPE432-12	<i>Scinax garbei</i>	Peru	Madre de Dios
16S	AJC_2016	BSAPE016-09	<i>Scinax garbei</i>	Peru	Huánuco
16S	CORBIDI_6190	BSAPE537-12	<i>Scinax garbei</i>	Peru	Loreto

16S	AY326033	AY326033	<i>Scinax garbei</i>	Ecuador	Ecuador
16S	KST_0502	BSAPE235-12	<i>Scinax garbei</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0505	BSAPE238-12	<i>Scinax garbei</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0503	BSAPE236-12	<i>Scinax garbei</i>	Peru	Madre de Dios
16S	DQ283030	DQ283030	<i>Scinax garbei</i>	Peru	Peru
16S	KST_0447	BSAPE197-12	<i>Scinax garbei</i>	Peru	Madre de Dios
16S	EU201088	EU201088	<i>Scinax boesemani</i>	Guyana	Guyana
16S	EF217496	EF217496	<i>Scinax boesemani</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	EF217497	EF217497	<i>Scinax boesemani</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	EF217500	EF217500	<i>Scinax boesemani</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	EF217501	EF217501	<i>Scinax boesemani</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	EF217498	EF217498	<i>Scinax boesemani</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	EF217503	EF217503	<i>Scinax boesemani</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	EF376072	EF376072	<i>Scinax boesemani</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	EF217502	EF217502	<i>Scinax boesemani</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	EF217499	EF217499	<i>Scinax boesemani</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	EU201089	EU201089	<i>Scinax boesemani</i>	Surinam	Surinam
16S	EU201090	EU201090	<i>Scinax boesemani</i>	Surinam	Surinam
16S	EF217510	EF217510	<i>Scinax cruentommus</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	EF217509	EF217509	<i>Scinax cruentommus</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	AF467263	AF467263	<i>Scinax cruentommus</i>	Guyana	Guyana
16S	EF376074	EF376074	<i>Scinax cruentommus</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	EF217506	EF217506	<i>Scinax cruentommus</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	EF217508	EF217508	<i>Scinax cruentommus</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	EF217507	EF217507	<i>Scinax cruentommus</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	EF376075	EF376075	<i>Scinax cruentommus</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	EF217505	EF217505	<i>Scinax cruentommus</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	EF217504	EF217504	<i>Scinax cruentommus</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	EU201093	EU201093	<i>Scinax cruentommus</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	CORBIDI_5255	BSAPE427-12	<i>Scinax funereus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	DQ502172	DQ502172	<i>C panamensis</i>	Panamá	Darien,
16S	HQ290968	HQ290968	<i>C panamensis</i>	Panamá	Colón
16S	EU342599	EU342599	<i>C panamensis</i>	Panamá	Colón
16S	FJ784504	FJ784504	<i>C panamensis</i>	Panamá	Coclé
16S	FJ784505	FJ784505	<i>C panamensis</i>	Panamá	Coclé
16S	FJ784526	FJ784526	<i>C panamensis</i>	Panamá	Coclé
16S	FJ784501	FJ784501	<i>C panamensis</i>	Panamá	Coclé
16S	FJ784508	FJ784508	<i>C panamensis</i>	Panamá	Coclé
16S	FJ784507	FJ784507	<i>C panamensis</i>	Panamá	Coclé
16S	FJ784516	FJ784516	<i>C panamensis</i>	Panamá	Coclé
16S	FJ784509	FJ784509	<i>C panamensis</i>	Panamá	Coclé
16S	DQ502169	DQ502169	<i>C panamensis</i>	Panamá	Cocle,
16S	FJ784447	FJ784447	<i>C panamensis</i>	Panamá	Coclé
16S	FJ784529	FJ784529	<i>C panamensis</i>	Panamá	Coclé
16S	EU342607	EU342607	<i>C fugax</i>	Ecuador	Pastaza
16S	EU342608	EU342608	<i>C fugax</i>	Ecuador	Morona Santiago
16S	AY364547	AY364547	<i>C fugax</i>	Ecuador	ND
16S	HQ290958	HQ290958	<i>C fugax</i>	Ecuador	Morona Santiago
16S	DQ502179	DQ502179	<i>C fraterdanieli</i>	Colombia	Caldas,
16S	EU342602	EU342602	<i>C fraterdanieli</i>	Colombia	Valle del Cauca
16S	DQ502177	DQ502177	<i>C fraterdanieli</i>	Colombia	Cauca,
16S	DQ502176	DQ502176	<i>C fraterdanieli</i>	Colombia	Cauca,
16S	DQ502175	DQ502175	<i>C fraterdanieli</i>	Colombia	Cauca,
16S	EU342604	EU342604	<i>C fraterdanieli</i>	Colombia	Quindio
16S	EU342603	EU342603	<i>C fraterdanieli</i>	Colombia	Quindio
16S	EU342606	EU342606	<i>C argyrogaster</i>	Peru	San Martin
16S	EU342605	EU342605	<i>C argyrogaster</i>	Peru	San Martin
16S	HQ290964	HQ290964	<i>E machalilla</i>	Ecuador	Manabí
16S	DQ502018	DQ502018	<i>E machalilla</i>	Ecuador	Manabi,
16S	DQ501985	DQ501985	<i>E machalilla</i>	Ecuador	Manabi,
16S	EU342575	EU342575	<i>E machalilla</i>	Ecuador	Cañar
16S	EU342576	EU342576	<i>E machalilla</i>	Ecuador	Cañar
16S	AY364551	AY364551	<i>E machalilla</i>	Ecuador	ND
16S	EU342568	EU342568	<i>E boulengeri</i>	Colombia	Cauca
16S	DQ283037	DQ283037	<i>E boulengeri</i>	ND	ND
16S	EU342569	EU342569	<i>E boulengeri</i>	Ecuador	Esmeraldas
16S	HQ290997	HQ290997	<i>E boulengeri</i>	Ecuador	Esmeraldas,
16S	AF128554	AF128554	<i>E boulengeri</i>	ND	ND
16S	AY364572	AY364572	<i>E boulengeri</i>	Ecuador	ND
16S	EU342570	EU342570	<i>E boulengeri</i>	Ecuador	Carchi
16S	EU342573	EU342573	<i>E anthonyi</i>	Peru	Piura
16S	AF128545	AF128545	<i>E anthonyi</i>	ND	ND

16S	EU342574	EU342574	<i>E anthonyi</i>	Ecuador	Azuay
16S	DQ502151	DQ502151	<i>E anthonyi</i>	bp	DNA
16S	HQ290995	HQ290995	<i>E anthonyi</i>	Ecuador	Loja,
16S	AY395961	AY395961	<i>E tricolor</i>	Ecuador	Moraspungo
16S	HQ291001	HQ291001	<i>E tricolor</i>	Ecuador	Cotopaxi,
16S	EU342578	EU342578	<i>E tricolor</i>	Ecuador	Bolívar
16S	EU342577	EU342577	<i>E tricolor</i>	Ecuador	Cotopaxi
16S	FJ882778	FJ882778	<i>E tricolor</i>	Panamá	PET TRADE
16S	AF128548	AF128548	<i>E tricolor</i>	ND	ND
16S	AF124127	AF124127	<i>E tricolor</i>	ND	ND
16S	EF107172	EF107172	<i>E tricolor</i>	ND	ND
16S	AY364576	AY364576	<i>E tricolor</i>	Ecuador	ND
16S	AY364577	AY364577	<i>E tricolor</i>	Ecuador	ND
16S	DQ523075	DQ523075	<i>A hahneli</i>	Peru	Loreto,
16S	DQ523038	DQ523038	<i>A hahneli</i>	Peru	Cuzco
16S	EU342622	EU342622	<i>A hahneli</i>	Peru	Cuzco
16S	CORBIDL_5291	BSAPE388-12	<i>A hahneli</i>	Peru	Madre de Dios
16S	DQ523026	DQ523026	<i>A hahneli</i>	Peru	San Martin
16S	DQ523022	DQ523022	<i>A hahneli</i>	Peru	San Martin
16S	DQ523078	DQ523078	<i>A hahneli</i>	Peru	San Martin
16S	EU342623	EU342623	<i>A rubriventris</i>	Peru	San Martin
16S	DQ523049	DQ523049	<i>A hahneli</i>	Peru	San Martin
16S	DQ523079	DQ523079	<i>A hahneli</i>	Peru	San Martin
16S	DQ523051	DQ523051	<i>A hahneli</i>	Peru	San Martin
16S	EU517666	EU517666	<i>Ameerega sp</i>	Peru	Loreto
16S	EU517664	EU517664	<i>Ameerega sp</i>	Peru	Loreto
16S	DQ523086	DQ523086	<i>A hahneli</i>	Peru	San Martin
16S	DQ523032	DQ523032	<i>A hahneli</i>	Peru	San Martin
16S	DQ523061	DQ523061	<i>A hahneli</i>	Peru	Loreto,
16S	DQ523033	DQ523033	<i>A hahneli</i>	Peru	Loreto,
16S	DQ502270	DQ502270	<i>A hahneli</i>	Colombia	Amazonas,
16S	DQ502081	DQ502081	<i>A hahneli</i>	Brasil	Amazonas,
16S	DQ502226	DQ502226	<i>A hahneli</i>	Brasil	Amazonas,
16S	DQ502086	DQ502086	<i>A hahneli</i>	Brasil	Amazonas,
16S	DQ523063	DQ523063	<i>A hahneli</i>	Brasil	Amazonas
16S	DQ523067	DQ523067	<i>A hahneli</i>	Brasil	Amazonas
16S	DQ502087	DQ502087	<i>A hahneli</i>	Brasil	Amazonas,
16S	EU342619	EU342619	<i>A hahneli</i>	Brasil	Amazonas
16S	EU342618	EU342618	<i>A hahneli</i>	Brasil	Amazonas
16S	DQ502084	DQ502084	<i>A hahneli</i>	Brasil	Acre,
16S	DQ523064	DQ523064	<i>A hahneli</i>	Brasil	Acre
16S	EU342614	EU342614	<i>A hahneli</i>	Brasil	Acre
16S	DQ502085	DQ502085	<i>A hahneli</i>	Brasil	Acre,
16S	DQ523041	DQ523041	<i>A hahneli</i>	Peru	Ucayali
16S	DQ501996	DQ501996	<i>A hahneli</i>	Peru	Madre de Dios
16S	DQ523081	DQ523081	<i>A hahneli</i>	Peru	Ucayali
16S	KST_0485	BSAPE218-12	<i>A hahneli</i>	Peru	Madre de Dios
16S	DQ523056	DQ523056	<i>A hahneli</i>	Peru	Madre de Dios
16S	EU342616	EU342616	<i>A picta</i>	Peru	Madre de Dios
16S	DQ501991	DQ501991	<i>A hahneli</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0577	BSAPE318-12	<i>A hahneli</i>	Peru	Madre de Dios
16S	DQ523034	DQ523034	<i>A hahneli</i>	Peru	Ucayali
16S	DQ523027	DQ523027	<i>A hahneli</i>	Peru	Cuzco
16S	KST_0633	BSAPE319-12	<i>A hahneli</i>	Peru	Madre de Dios
16S	DQ501997	DQ501997	<i>A hahneli</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0629	BSAPE320-12	<i>A hahneli</i>	Peru	Madre de Dios
16S	EU342617	EU342617	<i>A picta</i>	Peru	Madre de Dios
16S	AF282246	AF282246	<i>A hahneli</i>	Bolivia	Cobija
16S	KST_0500	BSAPE233-12	<i>A hahneli</i>	Peru	Madre de Dios
16S	AY263247	AY263247	<i>A hahneli</i>	Guyana Francesar	ND
16S	HF_007	BSAPE299-12	<i>A hahneli</i>	Peru	Huánuco
16S	HQ290998	HQ290998	<i>A hahneli</i>	Ecuador	Francisco de Orellana
16S	AY364573	AY364573	<i>A hahneli</i>	Ecuador	ND
16S	EU342615	EU342615	<i>A hahneli</i>	Brasil	Acre
16S	DQ502077	DQ502077	<i>A hahneli</i>	Brasil	Acre,
16S	DQ502083	DQ502083	<i>A hahneli</i>	Brasil	Acre,
16S	EU517669	EU517669	<i>A hahneli</i>	Peru	Huánuco
16S	KST_0207	BSAPE038-09	<i>A hahneli</i>	Peru	Huánuco
16S	HF_004	BSAPE296-12	<i>A hahneli</i>	Peru	Huánuco
16S	KST_0303	BSAPE133-09	<i>A hahneli</i>	Peru	Huánuco
16S	KST_0234	BSAPE062-09	<i>A hahneli</i>	Peru	Huánuco
16S	KST_0254	BSAPE082-09	<i>A hahneli</i>	Peru	Huánuco

16S	KST_0310	BSAPE140-09	<i>A hahneli</i>	Peru	Huánuco
16S	HF_011	BSAPE301-12	<i>A hahneli</i>	Peru	Huánuco
16S	HF_013	BSAPE303-12	<i>A hahneli</i>	Peru	Huánuco
16S	HF_005	BSAPE297-12	<i>A hahneli</i>	Peru	Huánuco
16S	HF_012	BSAPE302-12	<i>A hahneli</i>	Peru	Huánuco
16S	AF282248	AF282248	<i>A hahneli</i>	Peru	Panguana
16S	HF_014	BSAPE304-12	<i>A hahneli</i>	Peru	Huánuco
16S	HF_003	BSAPE295-12	<i>A hahneli</i>	Peru	Huánuco
16S	HF_006	BSAPE298-12	<i>A hahneli</i>	Peru	Huánuco
16S	DQ523037	DQ523037	<i>A hahneli</i>	Peru	San Martin
16S	DQ523077	DQ523077	<i>A trivittata</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	DQ523065	DQ523065	<i>A trivittata</i>	Brasil	Amazonas
16S	DQ502147	DQ502147	<i>A trivittata</i>	Brasil	Amazonas,
16S	DQ502148	DQ502148	<i>A trivittata</i>	Brasil	Amazonas,
16S	EU342626	EU342626	<i>A trivittata</i>	Brasil	Amazonas
16S	DQ502079	DQ502079	<i>A trivittata</i>	Brasil	Acre,
16S	EU342627	EU342627	<i>A trivittata</i>	Surinam	Brokopondo,
16S	DQ502250	DQ502250	<i>A trivittata</i>	Surinam	Para,
16S	DQ502112	DQ502112	<i>A trivittata</i>	Brasil	Amazonas,
16S	EU342632	EU342632	<i>A trivittata</i>	Colombia	Amazonas
16S	DQ502267	DQ502267	<i>A trivittata</i>	Colombia	Amazonas,
16S	HQ291002	HQ291002	<i>A trivittata</i>	Colombia	Amazonas,
16S	CORBIDI_5286	BSAPE389-12	<i>A trivittata</i>	Peru	Madre de Dios
16S	DQ523046	DQ523046	<i>A trivittata</i>	Peru	Pasco
16S	U39973	U39973	<i>A trivittata</i>	Peru	Huánuco
16S	KST_0260	BSAPE088-09	<i>A trivittata</i>	Peru	Huánuco
16S	KST_0271	BSAPE102-09	<i>A trivittata</i>	Peru	Huánuco
16S	KST_0282	BSAPE112-09	<i>A trivittata</i>	Peru	Huánuco
16S	KST_0298	BSAPE128-09	<i>A trivittata</i>	Peru	Huánuco
16S	KST_0290	BSAPE120-09	<i>A trivittata</i>	Peru	Huánuco
16S	KST_0300	BSAPE130-09	<i>A trivittata</i>	Peru	Huánuco
16S	KST_0295	BSAPE125-09	<i>A trivittata</i>	Peru	Huánuco
16S	DQ502111	DQ502111	<i>A trivittata</i>	Peru	Huanuco,
16S	DQ523036	DQ523036	<i>A trivittata</i>	Peru	Loreto,
16S	AF128569	AF128569	<i>A trivittata</i>	ND	ND
16S	DQ523068	DQ523068	<i>A trivittata</i>	Peru	Amazonas
16S	EU342629	EU342629	<i>A trivittata</i>	Peru	San Martin
16S	EU342630	EU342630	<i>A trivittata</i>	Peru	San Martin
16S	AF124128	AF124128	<i>A trivittata</i>	ND	ND
16S	EU342628	EU342628	<i>A trivittata</i>	Peru	San Martin
16S	DQ523021	DQ523021	<i>A trivittata</i>	Peru	San Martin
16S	CORBIDI_5292	BSAPE390-12	<i>A trivittata</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0526	BSAPE256-12	<i>A trivittata</i>	Peru	Madre de Dios
16S	DQ502023	DQ502023	<i>A trivittata</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0514	BSAPE244-12	<i>A trivittata</i>	Peru	Madre de Dios
16S	DQ502021	DQ502021	<i>A trivittata</i>	Peru	Madre de Dios
16S	EU342631	EU342631	<i>A trivittata</i>	Peru	Loreto
16S	DQ523066	DQ523066	<i>A trivittata</i>	Peru	Loreto,
16S	DQ523052	DQ523052	<i>A trivittata</i>	Peru	Loreto,
16S	DQ523054	DQ523054	<i>A trivittata</i>	Peru	San Martin
16S	DQ523047	DQ523047	<i>A trivittata</i>	Peru	Huánuco
16S	DQ523050	DQ523050	<i>A trivittata</i>	Peru	San Martin
16S	CORBIDI_6118	BSAPE531-12	<i>A trivittata</i>	Peru	Loreto
16S	EU342633	EU342633	<i>A trivittata</i>	Brasil	Acre
16S	DQ523035	DQ523035	<i>A trivittata</i>	Peru	Loreto,
16S	DQ523029	DQ523029	<i>A trivittata</i>	Brasil	Acre
16S	DQ523071	DQ523071	<i>A trivittata</i>	Peru	San Martin
16S	DQ523030	DQ523030	<i>A trivittata</i>	Peru	San Martin
16S	DQ523058	DQ523058	<i>A trivittata</i>	Peru	San Martin
16S	DQ502082	DQ502082	<i>A trivittata</i>	Brasil	Acre,
16S	DQ502219	DQ502219	<i>A trivittata</i>	Brasil	Acre,
16S	EU342634	EU342634	<i>A trivittata</i>	Brasil	Acre
16S	DQ523031	DQ523031	<i>A trivittata</i>	Peru	Loreto,
16S	DQ502227	DQ502227	<i>A trivittata</i>	Brasil	Acre,
16S	DQ523028	DQ523028	<i>A trivittata</i>	Peru	Ucayali
16S	FJ752309	FJ752309	<i>A pongoensis</i>	Peru	Loreto
16S	FJ752308	FJ752308	<i>A pongoensis</i>	Peru	Loreto
16S	DQ523076	DQ523076	<i>A pongoensis</i>	Peru	San Martin
16S	DQ523044	DQ523044	<i>A pongoensis</i>	Peru	San Martin
16S	EU342609	EU342609	<i>A bassleri</i>	Peru	San Martin
16S	DQ523043	DQ523043	<i>A bassleri</i>	Peru	San Martin
16S	FJ752273	FJ752273	<i>A bassleri</i>	Peru	San Martin

16S	FJ752268	FJ752268	<i>A bassleri</i>	Peru	San Martin
16S	DQ523088	DQ523088	<i>A bassleri</i>	Peru	San Martin
16S	FJ752284	FJ752284	<i>Ameerega sp</i>	Peru	San Martin
16S	FJ752285	FJ752285	<i>Ameerega sp</i>	Peru	San Martin
16S	FJ752278	FJ752278	<i>Ameerega sp</i>	Peru	Loreto
16S	FJ752277	FJ752277	<i>Ameerega sp</i>	Peru	Loreto
16S	FJ752279	FJ752279	<i>Ameerega sp</i>	Peru	Loreto
16S	FJ752269	FJ752269	<i>A bassleri</i>	Peru	San Martin
16S	DQ523083	DQ523083	<i>A bassleri</i>	Peru	San Martin
16S	EU342610	EU342610	<i>A bassleri</i>	Peru	San Martin
16S	DQ523087	DQ523087	<i>A bassleri</i>	Peru	San Martin
16S	DQ523073	DQ523073	<i>A bassleri</i>	Peru	San Martin
16S	FJ752274	FJ752274	<i>Ameerega sp</i>	Peru	San Martin
16S	FJ752272	FJ752272	<i>A bassleri</i>	Peru	San Martin
16S	FJ752267	FJ752267	<i>A bassleri</i>	Peru	San Martin
16S	FJ752270	FJ752270	<i>A bassleri</i>	Peru	San Martin
16S	DQ523045	DQ523045	<i>A bassleri</i>	Peru	San Martin
16S	FJ752266	FJ752266	<i>A bassleri</i>	Peru	San Martin
16S	AF128563	AF128563	<i>A bassleri</i>	ND	ND
16S	DQ523060	DQ523060	<i>A bassleri</i>	Peru	San Martin
16S	FJ752287	FJ752287	<i>Ameerega sp</i>	Peru	San Martin
16S	FJ752288	FJ752288	<i>Ameerega sp</i>	Peru	San Martin
16S	FJ752289	FJ752289	<i>A bassleri</i>	Peru	San Martin
16S	FJ752280	FJ752280	<i>Ameerega sp</i>	Peru	San Martin
16S	DQ523057	DQ523057	<i>A bassleri</i>	Peru	San Martin
16S	FJ752286	FJ752286	<i>Ameerega sp</i>	Peru	San Martin
16S	FJ752282	FJ752282	<i>Ameerega sp</i>	Peru	San Martin
16S	FJ752283	FJ752283	<i>Ameerega sp</i>	Peru	San Martin
16S	FJ752281	FJ752281	<i>Ameerega sp</i>	Peru	San Martin
16S	FJ752271	FJ752271	<i>A bassleri</i>	Peru	San Martin
16S	FJ752275	FJ752275	<i>Ameerega sp</i>	Peru	San Martin
16S	FJ752276	FJ752276	<i>Ameerega sp</i>	Peru	San Martin
16S	FJ752290	FJ752290	<i>A bassleri</i>	Peru	San Martin
16S	DQ523080	DQ523080	<i>A bassleri</i>	Peru	San Martin
16S	DQ523085	DQ523085	<i>A bassleri</i>	Peru	San Martin
16S	DQ523070	DQ523070	<i>A bassleri</i>	Peru	San Martin
16S	DQ523042	DQ523042	<i>A smaragdina</i>	Peru	Pasco
16S	DQ502114	DQ502114	<i>A petersi</i>	Peru	Huanuco,
16S	FJ752298	FJ752298	<i>A smaragdina</i>	ND	ND
16S	FJ752299	FJ752299	<i>A smaragdina</i>	Peru	Pasco
16S	FJ752297	FJ752297	<i>A smaragdina</i>	Peru	Pasco
16S	EU517670	EU517670	<i>A smaragdina</i>	Peru	Pasco
16S	FJ752296	FJ752296	<i>A smaragdina</i>	Peru	Pasco
16S	FJ752304	FJ752304	<i>A petersi</i>	Peru	Huánuco
16S	KST_0266	BSAPE094-09	<i>A petersi</i>	Peru	Huánuco
16S	KST_0269	BSAPE100-09	<i>A petersi</i>	Peru	Huánuco
16S	KST_0296	BSAPE126-09	<i>A petersi</i>	Peru	Huánuco
16S	DQ502116	DQ502116	<i>A petersi</i>	Peru	Humboldt
16S	KST_0314	BSAPE144-09	<i>A petersi</i>	Peru	Huánuco
16S	KST_0283	BSAPE113-09	<i>A petersi</i>	Peru	Huánuco
16S	KST_0299	BSAPE129-09	<i>A petersi</i>	Peru	Huánuco
16S	FJ752306	FJ752306	<i>A petersi</i>	Peru	Huánuco
16S	FJ752302	FJ752302	<i>A petersi</i>	ND	ND
16S	FJ752303	FJ752303	<i>A petersi</i>	Peru	Ucayali
16S	FJ752300	FJ752300	<i>A petersi</i>	Peru	Ucayali
16S	FJ752301	FJ752301	<i>A petersi</i>	Peru	Ucayali
16S	FJ752307	FJ752307	<i>A petersi</i>	Peru	Huánuco
16S	FJ752305	FJ752305	<i>A petersi</i>	Peru	Huánuco
16S	DQ502073	DQ502073	<i>A bilinguis</i>	Ecuador	Sucumbios,
16S	HQ290996	HQ290996	<i>A bilinguis</i>	Ecuador	Sucumbios
16S	DQ502225	DQ502225	<i>A bilinguis</i>	Ecuador	Sucumbios,
16S	DQ502095	DQ502095	<i>A bilinguis</i>	Ecuador	Sucumbios,
16S	EU342612	EU342612	<i>A bilinguis</i>	Ecuador	Fucisco de Orellana
16S	DQ523074	DQ523074	<i>A bilinguis</i>	Ecuador	Napo
16S	AF128557	AF128557	<i>A bilinguis</i>	ND	ND
16S	AY364571	AY364571	<i>A bilinguis</i>	Ecuador	ND
16S	DQ523084	DQ523084	<i>A silverstonei</i>	Peru	Huanuco,
16S	DQ283073	DQ283073	<i>A silverstonei</i>	ND	ND
16S	AF124137	AF124137	<i>A silverstonei</i>	ND	ND
16S	EU517667	EU517667	<i>A rubriventris</i>	Peru	Ucayali
16S	EU517668	EU517668	<i>A rubriventris</i>	Peru	Ucayali
16S	AF282247	AF282247	<i>A rubriventris</i>	ND	ND

16S	DQ502155	DQ502155	<i>A macero</i>	Peru	Madre de Dios
16S	EU525852	EU525852	<i>A macero</i>	ND	ND
16S	DQ523039	DQ523039	<i>A macero</i>	Peru	Cuzco
16S	DQ523089	DQ523089	<i>A macero</i>	Peru	Ucayali
16S	DQ523090	DQ523090	<i>A simulans</i>	Peru	Cuzco
16S	HQ290999	HQ290999	<i>A parvula</i>	Ecuador	Morona Santiago
16S	AY364574	AY364574	<i>A parvula</i>	Ecuador	ND
16S	AF124125	AF124125	<i>A parvula</i>	ND	ND
16S	DQ502252	DQ502252	<i>A picta</i>	Guyana	Mazaruni-Potaro,
16S	AF128566	AF128566	<i>A picta</i>	ND	ND
16S	AF124126	AF124126	<i>A picta</i>	ND	ND
16S	EU342613	EU342613	<i>A picta</i>	Bolivia	Santa Cruz
16S	CORBIDI_6125	BSAPE532-12	<i>A altamazonica</i>	Peru	Loreto
16S	DQ502033	DQ502033	<i>A pulchripecta</i>	Brasil	Amapa,
16S	DQ502125	DQ502125	<i>A braccata</i>	Brasil	Mato
16S	EU342620	EU342620	<i>A cainarachi</i>	Peru	San Martin
16S	DQ523053	DQ523053	<i>A cainarachi</i>	Peru	San Martin
16S	EU342621	EU342621	<i>A cainarachi</i>	Peru	San Martin
16S	DQ523024	DQ523024	<i>A cainarachi</i>	Peru	San Martin
16S	DQ502124	DQ502124	<i>A flavopicta</i>	Brasil	Tocantins,
16S	EU342624	EU342624	<i>Ameerega sp</i>	Brasil	Acre
16S	EU342625	EU342625	<i>Ameerega sp</i>	Brasil	Acre
16S	FJ752295	FJ752295	<i>Ameerega sp</i>	Peru	Loreto
16S	FJ752293	FJ752293	<i>Ameerega sp</i>	Peru	Loreto
16S	FJ752294	FJ752294	<i>Ameerega sp</i>	Peru	Loreto
16S	FJ752292	FJ752292	<i>Ameerega sp</i>	Peru	Loreto
16S	FJ752291	FJ752291	<i>Ameerega sp</i>	Peru	Loreto
16S	HS_001	BSAPE285-12	<i>Ameerega sp</i>	Peru	Huánuco
16S	KST_0263	BSAPE091-09	<i>Ameerega sp</i>	Peru	Huánuco
16S	HS_010	BSAPE292-12	<i>Ameerega sp</i>	Peru	Huánuco
16S	HS_013	BSAPE294-12	<i>Ameerega sp</i>	Peru	Huánuco
16S	HS_003	BSAPE287-12	<i>Ameerega sp</i>	Peru	Huánuco
16S	HS_006	BSAPE290-12	<i>Ameerega sp</i>	Peru	Huánuco
16S	KST_0292	BSAPE122-09	<i>Ameerega sp</i>	Peru	Huánuco
16S	HS_011	BSAPE293-12	<i>Ameerega sp</i>	Peru	Huánuco
16S	KST_0304	BSAPE134-09	<i>Ameerega sp</i>	Peru	Huánuco
16S	HS_007	BSAPE291-12	<i>Ameerega sp</i>	Peru	Huánuco
16S	HS_002	BSAPE286-12	<i>Ameerega sp</i>	Peru	Huánuco
16S	HS_005	BSAPE289-12	<i>Ameerega sp</i>	Peru	Huánuco
16S	KST_0214	BSAPE099-09	<i>Ameerega sp</i>	Peru	Huánuco
16S	KST_0206	BSAPE037-09	<i>Ameerega sp</i>	Peru	Huánuco
16S	KST_0312	BSAPE142-09	<i>Ameerega sp</i>	Peru	Huánuco
16S	FJ546420	FJ546420	<i>Ameerega sp</i>	Bolivia	ND
16S	FJ546421	FJ546421	<i>Ameerega sp</i>	Bolivia	ND
16S	FJ546422	FJ546422	<i>Ameerega sp</i>	Bolivia	ND
16S	EU517663	EU517663	<i>Ameerega sp</i>	Peru	San Martin
16S	EU517665	EU517665	<i>Ameerega sp</i>	Peru	San Martin
16S	HQ891922	HQ891922	<i>Ameerega sp</i>	ND	ND
16S	KST_0279	BSAPE110-09	<i>Oreobates quixensis</i>	Peru	Huánuco
16S	AJC_2007	BSAPE007-09	<i>Oreobates quixensis</i>	Peru	Huánuco
16S	AJC_2010	BSAPE010-09	<i>Oreobates quixensis</i>	Peru	Huánuco
16S	KST_0228	BSAPE056-09	<i>Oreobates quixensis</i>	Peru	Huánuco
16S	KST_0492	BSAPE225-12	<i>Oreobates quixensis</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_5857	BSAPE553-12	<i>Oreobates quixensis</i>	Peru	Loreto
16S	DQ679380	DQ679380	<i>Oreobates quixensis</i>	Ecuador	Ecuador
16S	EF493662	EF493662	<i>Oreobates quixensis</i>	Ecuador	Ecuador
16S	EU192297	EU192297	<i>Oreobates quixensis</i>	Bolivia	Bolivia
16S	CORBIDI_5278	BSAPE497-12	<i>Oreobates quixensis</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0508	BSAPE241-12	<i>Oreobates cruralis</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0480	BSAPE213-12	<i>Oreobates cruralis</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_5260	BSAPE496-12	<i>Oreobates quixensis</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0517	BSAPE247-12	<i>Oreobates cruralis</i>	Peru	Madre de Dios
16S	EU192254	EU192254	<i>Oreobates discoidalis</i>	Bolivia	Bolivia
16S	FJ539068	FJ539068	<i>Oreobates discoidalis</i>	Bolivia	Bolivia
16S	FJ438795	FJ438795	<i>Oreobates cruralis</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EU186666	EU186666	<i>Oreobates cruralis</i>	Peru	Peru
16S	EU192296	EU192296	<i>Oreobates heterodactylus</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EU368898	EU368898	<i>Oreobates heterodactylus</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EF493700	EF493700	<i>Pristimantis citriogaster</i>	Peru	Peru
16S	EU186663	EU186663	<i>Pristimantis malkini</i>	Ecuador	Ecuador
16S	EF493529	EF493529	<i>Pristimantis conspiciatus</i>	Ecuador	Ecuador
16S	EU192293	EU192293	<i>Pristimantis toftae</i>	Bolivia	Bolivia

16S	KST_0498	BSAPE231-12	<i>Pristimantis toftae</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0466	BSAPE200-12	<i>Pristimantis toftae</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0578	BSAPE374-12	<i>Pristimantis toftae</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0584	BSAPE377-12	<i>Pristimantis toftae</i>	Peru	Madre de Dios
16S	EF493353	EF493353	<i>Pristimantis toftae</i>	Peru	Peru
16S	KST_0631	BSAPE378-12	<i>Pristimantis toftae</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_5263	BSAPE500-12	<i>Pristi carv</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_5274	BSAPE503-12	<i>Pristi lant</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_5256	BSAPE505-12	<i>Pristimantis toftae</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_5264	BSAPE501-12	<i>Pristimantis fenestratus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_5273	BSAPE506-12	<i>Pristimantis toftae</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0208	KST_0208	<i>Pristimantis toftae</i>	Peru	Huánuco
16S	KST_0318	BSAPE148-09	<i>Pristimantis toftae</i>	Peru	Huánuco
16S	KST_0475	BSAPE208-12	<i>Pristimantis toftae</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0501	BSAPE234-12	<i>Pristi sp</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0504	BSAPE237-12	<i>Pristi sp</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0479	BSAPE212-12	<i>Pristimantis toftae</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0497	BSAPE230-12	<i>Pristi sp</i>	Peru	Madre de Dios
16S	EU192294	EU192294	<i>Pristimantis toftae</i>	Peru	Peru
16S	EU201060	EU201060	<i>Pristimantis chiastonotus</i>	Guyana Francesa	Guyana Francesa
16S	EU201061	EU201061	<i>Pristimantis chiastonotus</i>	Surinam	Surinam
16S	EU201061	EU201061	<i>Pristimantis chiastonotus</i>	Surinam	Surinam
16S	EF493701	EF493701	<i>Pristimantis condor</i>	Ecuador	Ecuador
16S	EU192290	EU192290	<i>Pristimantis samaipatae</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EU192292	EU192292	<i>Pristimantis samaipatae</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EU192291	EU192291	<i>Pristimantis samaipatae</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EU192289	EU192289	<i>Pristimantis samaipatae</i>	Bolivia	Bolivia
16S	KST_0474	BSAPE207-12	<i>Pristimantis buccinator</i>	Peru	Madre de Dios
16S	EU712630	EU712630	<i>Pristimantis buccinator</i>	Peru	Peru
16S	EU712631	EU712631	<i>Pristimantis buccinator</i>	Peru	Peru
16S	KST_0499	BSAPE232-12	<i>Pristimantis buccinator</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0521	BSAPE251-12	<i>Pristimantis buccinator</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0481	BSAPE214-12	<i>Pristimantis buccinator</i>	Peru	Madre de Dios
16S	KST_0491	BSAPE224-12	<i>Pristimantis buccinator</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_5910	BSAPE559-12	<i>Pristimantis peruvianus</i>	Peru	Loreto
16S	EU192273	EU192273	<i>Pristimantis fenestratus</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EU192274	EU192274	<i>Pristimantis fenestratus</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EU712632	EU712632	<i>Pristimantis fenestratus</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EU192256	EU192256	<i>Pristimantis fenestratus</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EU192277	EU192277	<i>Pristimantis fenestratus</i>	Peru	Peru
16S	EU192276	EU192276	<i>Pristimantis fenestratus</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EU192275	EU192275	<i>Pristimantis fenestratus</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EU712633	EU712633	<i>Pristimantis fenestratus</i>	Peru	Peru
16S	EF493703	EF493703	<i>Pristimantis fenestratus</i>	Peru	Peru
16S	KST_0568	BSAPE373-12	<i>Pristimantis fenestratus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	CORBIDI_5289	BSAPE502-12	<i>Pristimantis fenestratus</i>	Peru	Madre de Dios
16S	EU192281	EU192281	<i>Pristimantis koehleri</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EU192280	EU192280	<i>Pristimantis koehleri</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EU192282	EU192282	<i>Pristimantis koehleri</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EU192278	EU192278	<i>Pristimantis koehleri</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EU192279	EU192279	<i>Pristimantis koehleri</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EU186660	EU186660	<i>Pristimantis cf</i>	Peru	Peru
16S	EU712715	EU712715	<i>Pristimantis platydactylus</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EU712718	EU712718	<i>Pristimantis platydactylus</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EU712710	EU712710	<i>Pristimantis platydactylus</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EU712709	EU712709	<i>Pristimantis platydactylus</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EU712716	EU712716	<i>Pristimantis platydactylus</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EU712717	EU712717	<i>Pristimantis platydactylus</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EU712711	EU712711	<i>Pristimantis platydactylus</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EU712707	EU712707	<i>Pristimantis platydactylus</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EU192284	EU192284	<i>Pristimantis platydactylus</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EU712712	EU712712	<i>Pristimantis platydactylus</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EU712708	EU712708	<i>Pristimantis platydactylus</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EU712713	EU712713	<i>Pristimantis platydactylus</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EU192283	EU192283	<i>Pristimantis platydactylus</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EU192257	EU192257	<i>Pristimantis rhabdolaemus</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EU192258	EU192258	<i>Pristimantis rhabdolaemus</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EF493706	EF493706	<i>Pristimantis rhabdolaemus</i>	Peru	Peru
16S	EF493704	EF493704	<i>Pristimantis stictogaster</i>	Peru	Peru
16S	EF493705	EF493705	<i>Pristimantis sagittulus</i>	Peru	Peru
16S	KST_0278	BSAPE109-09	<i>Pristimantis reichlei</i>	Peru	Huánuco
16S	AJC_2025	AJC_2025	<i>Pristimantis reichlei</i>	Peru	Huánuco

16S	AJC_2004	BSAPE004-09	<i>Pristimantis reichlei</i>	Peru	Huánuco
16S	EF493707	EF493707	<i>Pristimantis peruvianus</i>	Peru	Peru
16S	EU712720	EU712720	<i>Pristimantis reichlei</i>	Peru	Peru
16S	EU192285	EU192285	<i>Pristimantis reichlei</i>	Peru	Peru
16S	EU192288	EU192288	<i>Pristimantis reichlei</i>	Peru	Peru
16S	KST_0586	BSAPE376-12	<i>Pristimantis reichlei</i>	Peru	Madre de Dios
16S	EU192287	EU192287	<i>Pristimantis reichlei</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EU192286	EU192286	<i>Pristimantis reichlei</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EU712719	EU712719	<i>Pristimantis reichlei</i>	Bolivia	Bolivia
16S	CORBIDI_5250	BSAPE499-12	<i>Pristi carv</i>	Peru	Madre de Dios
16S	EU192263	EU192263	<i>Pristimantis danae</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EU192265	EU192265	<i>Pristimantis danae</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EU192264	EU192264	<i>Pristimantis danae</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EU192262	EU192262	<i>Pristimantis danae</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EU192260	EU192260	<i>Pristimantis danae</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EU192261	EU192261	<i>Pristimantis danae</i>	Bolivia	Bolivia
16S	EU192269	EU192269	<i>Pristimantis danae</i>	Peru	Peru
16S	EU192270	EU192270	<i>Pristimantis danae</i>	Peru	Peru
16S	EU192266	EU192266	<i>Pristimantis danae</i>	Peru	Peru
16S	EU192268	EU192268	<i>Pristimantis danae</i>	Peru	Peru
16S	EU192267	EU192267	<i>Pristimantis danae</i>	Peru	Peru
16S	EU192271	EU192271	<i>Pristimantis danae</i>	Peru	Peru
16S	EU192272	EU192272	<i>Pristimantis danae</i>	Peru	Peru
16S	EF493390	EF493390	<i>Pristimantis aniptopalminus</i>	Peru	Peru
CO1	CORBIDI_6203	BSAPE538-12	<i>Hypsiboas cinerascens</i>	Peru	Loreto
CO1	KST_0537	BSAPE267-12	<i>Hypsiboas cinerascens</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0547	BSAPE277-12	<i>Hypsiboas cinerascens</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KRL_1191	ND	<i>Hypsiboas rufitelus</i>	ND	ND
CO1	KRL_0798	ND	<i>Hypsiboas rufitelus</i>	ND	ND
CO1	CORBIDI_5809	BSAPE544-12	<i>Hypsiboas geographicus</i>	Peru	Loreto
CO1	CORBIDI_5168	BSAPE405-12	<i>Hypsiboas geographicus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5197	BSAPE406-12	<i>Hypsiboas geographicus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5231	BSAPE409-12	<i>Hypsiboas geographicus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5237	BSAPE411-12	<i>Hypsiboas geographicus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0552	BSAPE282-12	<i>Hypsiboas geographicus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5221	BSAPE407-12	<i>Hypsiboas geographicus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5230	BSAPE408-12	<i>Hypsiboas geographicus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5232	BSAPE410-12	<i>Hypsiboas geographicus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5253	BSAPE412-12	<i>Hypsiboas geographicus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0602	BSAPE340-12	<i>Hypsiboas geographicus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_6180	BSAPE534-12	<i>Hypsiboas geographicus</i>	Peru	Loreto
CO1	CORBIDI_5188	BSAPE462-12	<i>Hypsiboas geographicus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5877	BSAPE557-12	<i>Hypsiboas calcaratus</i>	Peru	Loreto
CO1	CORBIDI_6182	BSAPE535-12	<i>Hypsiboas calcaratus</i>	Peru	Loreto
CO1	AJC_2012	BSAPE012-09	<i>Hypsiboas fasciatus</i>	Peru	Huánuco
CO1	AJC_2023	BSAPE023-09	<i>Hypsiboas fasciatus</i>	Peru	Huánuco
CO1	CORBIDI_5875	BSAPE555-12	<i>Hypsiboas fasciatus</i>	Peru	Loreto
CO1	KST_0543	BSAPE273-12	<i>Hypsiboas fasciatus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0550	BSAPE280-12	<i>Hypsiboas fasciatus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0600	BSAPE338-12	<i>Hypsiboas fasciatus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0598	BSAPE337-12	<i>Hypsiboas fasciatus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0627	BSAPE339-12	<i>Hypsiboas fasciatus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0596	BSAPE336-12	<i>Hypsiboas fasciatus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0601	BSAPE335-12	<i>Hypsiboas fasciatus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0530	BSAPE260-12	<i>Hypsiboas lanciformis</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5825	BSAPE546-12	<i>Hypsiboas lanciformis</i>	Peru	Loreto
CO1	CORBIDI_0058	BSAPE511-12	<i>Hypsiboas lanciformis</i>	Peru	Loreto
CO1	CORBIDI_5807	BSAPE542-12	<i>Hypsiboas boans</i>	Peru	Loreto
CO1	CORBIDI_5173	BSAPE404-12	<i>Hypsiboas boans</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5183	BSAPE413-12	<i>Hypsiboas sp</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5240	BSAPE428-12	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0559	BSAPE347-12	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0561	BSAPE345-12	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0558	BSAPE346-12	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0617	BSAPE348-12	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5184	BSAPE434-12	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0467	BSAPE201-12	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0471	BSAPE204-12	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5212	BSAPE436-12	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5223	BSAPE438-12	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5249	BSAPE441-12	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5214	BSAPE437-12	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios

CO1	CORBIDI_5174	BSAPE433-12	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5241	BSAPE440-12	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5251	BSAPE442-12	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5206	BSAPE435-12	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5240	BSAPE428-12	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0486	BSAPE219-12	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5228	BSAPE439-12	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5208	BSAPE446-12	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5207	BSAPE445-12	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5227	BSAPE449-12	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	AJC_2003	BSAPE003-09	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Huánuco
CO1	KST_0239	BSAPE067-09	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Huánuco
CO1	KST_0241	BSAPE069-09	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Huánuco
CO1	KST_0249	BSAPE077-09	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Huánuco
CO1	CORBIDI_5209	BSAPE447-12	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5245	BSAPE450-12	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5205	BSAPE444-12	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5225	BSAPE448-12	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0473	BSAPE206-12	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0536	BSAPE266-12	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0231	BSAPE059-09	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Huánuco
CO1	AJC_2002	BSAPE002-09	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Huánuco
CO1	KST_0528	BSAPE258-12	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0626	BSAPE350-12	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0579	BSAPE349-12	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_6190	BSAPE537-12	<i>Scinax garbei</i>	Peru	Loreto
CO1	AJC_2016	BSAPE016-09	<i>Scinax garbei</i>	Peru	Huánuco
CO1	KST_0503	BSAPE236-12	<i>Scinax garbei</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0447	BSAPE197-12	<i>Scinax garbei</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0505	BSAPE238-12	<i>Scinax garbei</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0502	BSAPE235-12	<i>Scinax garbei</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5169	BSAPE429-12	<i>Scinax garbei</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5215	BSAPE431-12	<i>Scinax garbei</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5216	BSAPE432-12	<i>Scinax garbei</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5213	BSAPE430-12	<i>Scinax garbei</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5255	BSAPE427-12	<i>Scinax funereus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5211	BSAPE443-12	<i>Scinax pedromedinae</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0546	BSAPE276-12	<i>Scinax pedromedinae</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0548	BSAPE278-12	<i>Scinax pedromedinae</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	DQ502742	DQ502742	<i>E boulengeri</i>	ND	ND
CO1	DQ502853	DQ502853	<i>E anthonyi</i>	ND	ND
CO1	DQ502711	DQ502711	<i>E machalilla</i>	Ecuador	Manabi
CO1	DQ502737	DQ502737	<i>E machalilla</i>	Ecuador	Manabi
CO1	DQ502879	DQ502879	<i>C fraterdanieli</i>	Colombia	Cauca,
CO1	DQ502878	DQ502878	<i>C fraterdanieli</i>	Colombia	Cauca,
CO1	DQ502882	DQ502882	<i>C fraterdanieli</i>	Venezuela	Trujillo,
CO1	DQ502880	DQ502880	<i>C fraterdanieli</i>	Colombia	Cauca,
CO1	DQ502825	DQ502825	<i>A petersi</i>	Peru	Humboldt
CO1	KST_0314	BSAPE144-09	<i>A petersi</i>	Peru	Huánuco
CO1	KST_0283	BSAPE113-09	<i>A petersi</i>	Peru	Huánuco
CO1	KST_0266	BSAPE094-09	<i>A petersi</i>	Peru	Huánuco
CO1	KST_0299	BSAPE129-09	<i>A petersi</i>	Peru	Huánuco
CO1	DQ502823	DQ502823	<i>A petersi</i>	Peru	Huanuco
CO1	KST_0629	BSAPE320-12	<i>A hahneli</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0633	BSAPE319-12	<i>A hahneli</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	DQ502719	DQ502719	<i>A hahneli</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	DQ502718	DQ502718	<i>A hahneli</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0577	BSAPE318-12	<i>A hahneli</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	DQ502717	DQ502717	<i>A hahneli</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5291	BSAPE388-12	<i>A hahneli</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0500	BSAPE233-12	<i>A hahneli</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0485	BSAPE218-12	<i>A hahneli</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	DQ502805	DQ502805	<i>A hahneli</i>	Brasil	Acre
CO1	DQ502801	DQ502801	<i>A hahneli</i>	Brasil	Amazonas
CO1	DQ502902	DQ502902	<i>A hahneli</i>	Brasil	Amazonas,
CO1	DQ502806	DQ502806	<i>A hahneli</i>	Brasil	Amazonas
CO1	DQ502807	DQ502807	<i>A hahneli</i>	Brasil	Amazonas
CO1	DQ502797	DQ502797	<i>A hahneli</i>	Brasil	Acre
CO1	DQ502803	DQ502803	<i>A hahneli</i>	Brasil	Acre
CO1	DQ502804	DQ502804	<i>A hahneli</i>	Brasil	Acre
CO1	DQ502932	DQ502932	<i>A hahneli</i>	Colombia	Amazonas,
CO1	HF_013	BSAPE303-12	<i>A hahneli</i>	Peru	Huánuco

CO1	KST_0310	BSAPE140-09	<i>A hahneli</i>	Peru	Huánuco
CO1	KST_0234	BSAPE062-09	<i>A hahneli</i>	Peru	Huánuco
CO1	KST_0254	BSAPE082-09	<i>A hahneli</i>	Peru	Huánuco
CO1	HF_003	BSAPE295-12	<i>A hahneli</i>	Peru	Huánuco
CO1	HF_007	BSAPE299-12	<i>A hahneli</i>	Peru	Huánuco
CO1	HF_011	BSAPE301-12	<i>A hahneli</i>	Peru	Huánuco
CO1	HF_008	BSAPE300-12	<i>A hahneli</i>	Peru	Huánuco
CO1	HF_014	BSAPE304-12	<i>A hahneli</i>	Peru	Huánuco
CO1	HF_006	BSAPE298-12	<i>A hahneli</i>	Peru	Huánuco
CO1	HF_005	BSAPE297-12	<i>A hahneli</i>	Peru	Huánuco
CO1	HF_012	BSAPE302-12	<i>A hahneli</i>	Peru	Huánuco
CO1	KST_0207	BSAPE038-09	<i>A hahneli</i>	Peru	Huánuco
CO1	HF_004	BSAPE296-12	<i>A hahneli</i>	Peru	Huánuco
CO1	DQ502901	DQ502901	<i>A trivittata</i>	Brasil	Acre,
CO1	DQ502903	DQ502903	<i>A trivittata</i>	Brasil	Acre,
CO1	DQ502802	DQ502802	<i>A trivittata</i>	Brasil	Acre
CO1	CORBIDI_5292	BSAPE390-12	<i>A trivittata</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_6118	BSAPE531-12	<i>A trivittata</i>	Peru	Loreto
CO1	CORBIDI_5286	BSAPE389-12	<i>A trivittata</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	DQ502744	DQ502744	<i>A trivittata</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	DQ502746	DQ502746	<i>A trivittata</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0526	BSAPE256-12	<i>A trivittata</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0514	BSAPE244-12	<i>A trivittata</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	DQ502821	DQ502821	<i>A trivittata</i>	Peru	Huánuco
CO1	KST_0300	BSAPE130-09	<i>A trivittata</i>	Peru	Huánuco
CO1	KST_0295	BSAPE125-09	<i>A trivittata</i>	Peru	Huánuco
CO1	KST_0260	BSAPE088-09	<i>A trivittata</i>	Peru	Huánuco
CO1	KST_0271	BSAPE102-09	<i>A trivittata</i>	Peru	Huánuco
CO1	KST_0282	BSAPE112-09	<i>A trivittata</i>	Peru	Huánuco
CO1	DQ502929	DQ502929	<i>A trivittata</i>	Colombia	Amazonas,
CO1	DQ502799	DQ502799	<i>A trivittata</i>	Brasil	Acre
CO1	DQ502849	DQ502849	<i>A trivittata</i>	Brasil	Amazonas,
CO1	DQ502848	DQ502848	<i>A trivittata</i>	Brasil	Amazonas
CO1	DQ502822	DQ502822	<i>A trivittata</i>	Brasil	Amazonas
CO1	DQ502920	DQ502920	<i>A trivittata</i>	Surinam	Para,
CO1	DQ502831	DQ502831	<i>A flavopicta</i>	Brasil	Tocantins
CO1	DQ502851	DQ502851	<i>A silverstonei</i>	ND	ND
CO1	DQ502922	DQ502922	<i>A picta</i>	Guyana	Mazaruni-Potaro,
CO1	DQ502832	DQ502832	<i>A braccata</i>	Brasil	Mato Grosso
CO1	DQ502875	DQ502875	<i>C panamensis</i>	Panamá	Darién
CO1	FJ766617	FJ766617	<i>C panamensis</i>	Panamá	Coclé
CO1	FJ766614	FJ766614	<i>C panamensis</i>	Panamá	Coclé
CO1	FJ766613	FJ766613	<i>C panamensis</i>	Panamá	Coclé
CO1	FJ766616	FJ766616	<i>C panamensis</i>	Panamá	Coclé
CO1	FJ766615	FJ766615	<i>C panamensis</i>	Panamá	Coclé
CO1	FJ766618	FJ766618	<i>C panamensis</i>	Panamá	Coclé
CO1	DQ502871	DQ502871	<i>C panamensis</i>	Panamá	Coclé
CO1	FJ766619	FJ766619	<i>C panamensis</i>	Panamá	Coclé
CO1	FJ766612	FJ766612	<i>C panamensis</i>	Panamá	Coclé
CO1	FJ766611	FJ766611	<i>C panamensis</i>	Panamá	Coclé
CO1	CORBIDI_6125	BSAPE532-12	<i>A altamazonica</i>	Peru	Loreto
CO1	HS_013	BSAPE294-12	<i>A sp</i>	Peru	Huánuco
CO1	HS_003	BSAPE287-12	<i>A sp</i>	Peru	Huánuco
CO1	HS_005	BSAPE289-12	<i>A sp</i>	Peru	Huánuco
CO1	KST_0263	BSAPE091-09	<i>A sp</i>	Peru	Huánuco
CO1	HS_001	BSAPE285-12	<i>A sp</i>	Peru	Huánuco
CO1	HS_011	BSAPE293-12	<i>A sp</i>	Peru	Huánuco
CO1	HS_006	BSAPE290-12	<i>A sp</i>	Peru	Huánuco
CO1	HS_010	BSAPE292-12	<i>A sp</i>	Peru	Huánuco
CO1	HS_007	BSAPE291-12	<i>A sp</i>	Peru	Huánuco
CO1	HS_002	BSAPE286-12	<i>A sp</i>	Peru	Huánuco
CO1	KST_0304	BSAPE134-09	<i>A sp</i>	Peru	Huánuco
CO1	KST_0292	BSAPE122-09	<i>A sp</i>	Peru	Huánuco
CO1	CORBIDI_5910	BSAPE559-12	<i>Pristimantis peruvianus</i>	Peru	Loreto
CO1	AJC_2006	ND	<i>Pristimantis eurydactylus</i>	Peru	Huánuco
CO1	AJC_2020	BSAPE020-09	<i>Pristimantis eurydactylus</i>	Peru	Huánuco
CO1	AJC_2005	ND	<i>Pristimantis eurydactylus</i>	Peru	Huánuco
CO1	KST_0316	BSAPE146-09	<i>Pristimantis eurydactylus</i>	Peru	Huánuco
CO1	CORBIDI_5262	BSAPE507-12	<i>Pristimantis vent</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5289	BSAPE502-12	<i>Pristimantis fenestratus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0568	BSAPE373-12	<i>Pristimantis fenestratus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	AJC_2004	BSAPE004-09	<i>Pristimantis cf reichlei</i>	Peru	Huánuco

CO1	KST_0278	BSAPE109-09	<i>Pristimantis cf reichlei</i>	Peru	Huánuco
CO1	AJC_2025	ND	<i>Pristimantis cf reichlei</i>	Peru	Huánuco
CO1	KST_0253	BSAPE081-09	<i>Pristimantis cf reichlei</i>	Peru	Huánuco
CO1	KST_0515	BSAPE245-12	<i>Pristimantis reichlei</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0510	BSAPE243-12	<i>Pristimantis reichlei</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0516	BSAPE246-12	<i>Pristimantis reichlei</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0594	BSAPE375-12	<i>Pristimantis reichlei</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0586	BSAPE376-12	<i>Pristimantis reichlei</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5250	BSAPE499-12	<i>Pristimantis carvalhoi</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0631	BSAPE378-12	<i>Pristimantis toftae</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0578	BSAPE374-12	<i>Pristimantis reichlei</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0584	BSAPE377-12	<i>Pristimantis toftae</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5274	BSAPE503-12	<i>Pristimantis lantanites</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5256	BSAPE505-12	<i>Pristimantis toftae</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5273	BSAPE506-12	<i>Pristimantis toftae</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5264	BSAPE501-12	<i>Pristimantis fenestratus</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5263	BSAPE500-12	<i>Pristimantis carvalhoi</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0466	BSAPE200-12	<i>Pristimantis toftae</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0498	BSAPE231-12	<i>Pristimantis toftae</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0501	BSAPE234-12	<i>Pristimantis sp</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0497	BSAPE230-12	<i>Pristimantis sp</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0479	BSAPE212-12	<i>Pristimantis toftae</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0475	BSAPE208-12	<i>Pristimantis toftae</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0504	BSAPE237-12	<i>Pristimantis sp</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0481	BSAPE214-12	<i>Pristimantis buccinator</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0491	BSAPE224-12	<i>Pristimantis buccinator</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0521	BSAPE251-12	<i>Pristimantis buccinator</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0499	BSAPE232-12	<i>Pristimantis buccinator</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5278	BSAPE497-12	<i>Oreobates quixensis</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	CORBIDI_5857	BSAPE553-12	<i>Oreobates quixensis</i>	Peru	Loreto
CO1	KST_0492	BSAPE225-12	<i>Oreobates quixensis</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0228	BSAPE056-09	<i>Oreobates quixensis</i>	Peru	Huánuco
CO1	AJC_2007	BSAPE007-09	<i>Oreobates quixensis</i>	Peru	Huánuco
CO1	KST_0279	BSAPE110-09	<i>Oreobates quixensis</i>	Peru	Huánuco
CO1	AJC_2010	BSAPE010-09	<i>Oreobates quixensis</i>	Peru	Huánuco
CO1	KST_0517	BSAPE247-12	<i>Oreobates cruralis</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0480	BSAPE213-12	<i>Oreobates cruralis</i>	Peru	Madre de Dios
CO1	KST_0508	BSAPE241-12	<i>Oreobates cruralis</i>	Peru	Madre de Dios

DQ523042	<i>A smaragdina</i>	Peru	Pasco	16S_Ameer73	g g g c c c g c c c t c t a c c t t t t t c c t t g g c a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
DQ502114	<i>A petersi</i>	Peru	Huanuco	16S_Ameer74	g g g c c c g c c g t t c t a c c t t t t t t c c t t g g c a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
FJ752298	<i>A smaragdina</i>	ND	ND	16S_Ameer74	g g g c c c g c c g t t c t a c c t t t t t t c c t t g g c a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
FJ752299	<i>A smaragdina</i>	Peru	Pasco	16S_Ameer74	g g g c c c g c c g t t c t a c c t t t t t t c c t t g g c a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
FJ752297	<i>A smaragdina</i>	Peru	Pasco	16S_Ameer74	g g g c c c g c c g t t c t a c c t t t t t t c c t t g g c a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
EU517670	<i>A smaragdina</i>	Peru	Pasco	16S_Ameer74	g g g c c c g c c g t t c t a c c t t t t t t c c t t g g c a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
FJ752296	<i>A smaragdina</i>	Peru	Pasco	16S_Ameer74	g g g c c c g c c g t t c t a c c t t t t t t c c t t g g c a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
FJ752304	<i>A petersi</i>	Peru	Huánuco	16S_Ameer75	g g g c c c g c c c t c t a c c t t t t t t c c t t g g c a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
KST_0266	<i>A petersi</i>	Peru	Huánuco	16S_Ameer75	g g g c c c g c c c t c t a c c t t t t t t c c t t g g c a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
KST_0269	<i>A petersi</i>	Peru	Huánuco	16S_Ameer75	g g g c c c g c c c t c t a c c t t t t t t c c t t g g c a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
KST_0296	<i>A petersi</i>	Peru	Huánuco	16S_Ameer75	g g g c c c g c c c t c t a c c t t t t t t c c t t g g c a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
DQ502116	<i>A petersi</i>	Peru	Humboldt	16S_Ameer76	g g g c c c g c c c t c t a c c t t t t t t c c t t g g c a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
KST_0314	<i>A petersi</i>	Peru	Huánuco	16S_Ameer77	g g g c c c g c c c t c t a c c t t t t t t c c t t g g c a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
KST_0283	<i>A petersi</i>	Peru	Huánuco	16S_Ameer77	g g g c c c g c c c t c t a c c t t t t t t c c t t g g c a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
KST_0299	<i>A petersi</i>	Peru	Huánuco	16S_Ameer78	g g g c c c g c c c t c t a c c t t t t t t c c t t g g c a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
FJ752306	<i>A petersi</i>	Peru	Huánuco	16S_Ameer79	g g g c c c g c c c t c t a c c t t t t t t c c t t g g c a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
FJ752302	<i>A petersi</i>	ND	ND	16S_Ameer80	g g g c c c g c c c t c t a c c t t t t t t c c t t g g c a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
FJ752303	<i>A petersi</i>	Peru	Ucayali	16S_Ameer80	g g g c c c g c c c t c t a c c t t t t t t c c t t g g c a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
FJ752300	<i>A petersi</i>	Peru	Ucayali	16S_Ameer81	g g g c c c g c c c t c t a c c t t t t t t c c t t g g c a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
FJ752301	<i>A petersi</i>	Peru	Ucayali	16S_Ameer81	g g g c c c g c c c t c t a c c t t t t t t c c t t g g c a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
FJ752307	<i>A petersi</i>	Peru	Huánuco	16S_Ameer82	g g g a c c g c c c t c t a c c t t t t t t c c t t g g c a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
FJ752305	<i>A petersi</i>	Peru	Huánuco	16S_Ameer82	g g g a c c g c c c t c t a c c t t t t t t c c t t g g c a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
DQ502073	<i>A bilinguis</i>	Ecuador	Sucumbios	16S_Ameer83	g g g c c c g a a t c t t t t c c t t t t t a c t c t a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
HQ290996	<i>A bilinguis</i>	Ecuador	Sucumbios	16S_Ameer84	g g g c c c g a a t c t t t t c c c t t t t t t a c t c t a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
DQ502225	<i>A bilinguis</i>	Ecuador	Sucumbios	16S_Ameer84	g g g c c c g a a t c t t t t c c c t t t t t t a c t c t a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
DQ502095	<i>A bilinguis</i>	Ecuador	Sucumbios	16S_Ameer84	g g g c c c g a a t c t t t t c c c t t t t t t a c t c t a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
EU342612	<i>A bilinguis</i>	Ecuador	Francisco de Orellana	16S_Ameer85	g g g c c c g c a a t c t t t t c c t t t t t c c t a c t a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
DQ523074	<i>A bilinguis</i>	Ecuador	Napo	16S_Ameer86	g g g c c c g c g t t g c t t t t c c t t t t t c c t a c t a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
AF128557	<i>A bilinguis</i>	ND	ND	16S_Ameer86	g g g c c c g c g t t g c t t t t c c t t t t t c c t a c t a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
AY364571	<i>A bilinguis</i>	Ecuador	ND	16S_Ameer87	g g g c c c g c g c a t g c t t t t c c t t t t t c c t a c t a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
DQ523084	<i>A silverstonei</i>	Peru	Huanuco	16S_Ameer88	g g g c c c g c c c t c c t t t c c t t t t t t c c t a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
DQ283073	<i>A silverstonei</i>	ND	ND	16S_Ameer88	g g g c c c g c c c t c c t t t c c t t t t t t c c t a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
AF124137	<i>A silverstonei</i>	ND	ND	16S_Ameer89	g g g c c c g c c c t c c t t t c c t t a t t t c c t a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
EU517667	<i>A rubriventris</i>	Peru	Ucayali	16S_Ameer90	g g g c c c g c c c t c c t t c t t t t t t t c c t g c c a t a c g a g a a c a t a t c t c a
EU517668	<i>A rubriventris</i>	Peru	Ucayali	16S_Ameer91	g g g c c c g c c c t c c t t c t t t t t t t c c t g c c a t a c g a g a a c a t a t c t c a
AF282247	<i>A rubriventris</i>	ND	ND	16S_Ameer91	g g g c c c g c c c t c c t t c t t t t t t t c c t g c c a t a c g a g a a c a t a t c t c a
DQ502155	<i>A macero</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Ameer92	g g g c c c g c c c t c c t t c t t t t t t t c c t g c c a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
EU525852	<i>A macero</i>	ND	ND	16S_Ameer93	g g g c c c g c c c t c c t t c t t t t t t t c c t g c c a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
DQ523039	<i>A macero</i>	Peru	Cuzco	16S_Ameer94	g g g c c c g c c c t c c t t c t t t t t t t c c t g c c a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
DQ523089	<i>A macero</i>	Peru	Ucayali	16S_Ameer95	g g g c c c g c c c t c c t t c t t t t t t t c c t g c c a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
DQ523090	<i>A simulans</i>	Peru	Cuzco	16S_Ameer96	g g g c c c g c c c t c c t t t c c c t t t t t c c c a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
HQ290999	<i>A parvula</i>	Ecuador	Morona Santiago	16S_Ameer97	g g g c c c g g g c c t g c c t t t c t a t t t c c t a t t g a c a c c a t t a t c t c a
AY364574	<i>A parvula</i>	Ecuador	ND	16S_Ameer97	g g g c c c g g g c c t g c c t t t c t a t t t c c t a t t g a c a c c a t t a t c t c a
AF124125	<i>A parvula</i>	ND	ND	16S_Ameer98	g g g c c c g g g c c t g c c t t t c t a t t t c c t a t t g a c a c c a t t a t c t c a
DQ502252	<i>A picta</i>	Guyana	Mazaruni-Potaro	16S_Ameer99	g g g c c c g c c t t t g c t t c t t t c c t a t t t c c t a t a t g a c a c c a c t a t c t c a
AF128566	<i>A picta</i>	ND	ND	16S_Ameer100	g g g c c c g c c c t c t a c t t c a c c g c t t t c c t a t a t g a c a c c a c t a t c t c a
AF124126	<i>A picta</i>	ND	ND	16S_Ameer101	g g g c c c g c c c t a c c t t t t c c t t t t c c t a t a t g a c a c c a c t a t c t c a
EU342613	<i>A picta</i>	Bolivia	Santa Cruz	16S_Ameer102	g g g c c c g c c c t t c t t t t c c t t t t c c c c t a t a t g a a a c c a c t a t c t c a
CORBIDI_6125	<i>A altamazonica</i>	Peru	Loreto	16S_Ameer103	g g g c c c g c c c t c t a t t c t g c a g t t t c c c t a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
DQ502033	<i>A pulchrippecta</i>	Brasil	Amapa	16S_Ameer104	g g g c c c g c c c t c t a t t c c c t t a t t t t c c c t a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
DQ502125	<i>A braccata</i>	Brasil	Mato	16S_Ameer105	g g g c c c g c c c t c t t t t t t t t t t t t t a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
EU342620	<i>A cainarachi</i>	Peru	San Martin	16S_Ameer106	g g g c c c g c c c t c t a c c t t t t t t t t t t g g c a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
DQ523053	<i>A cainarachi</i>	Peru	San Martin	16S_Ameer107	g g g c c c g c c c t c t a c c t t t t t t t t t t g g c a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
EU342621	<i>A cainarachi</i>	Peru	San Martin	16S_Ameer108	g g g c c c g c c c t c t a c c t t t t t t t t t t g g c a t a t g a a a c c a t t a t c t c a
DQ523024	<i>A cainarachi</i>	Peru	San Martin	16S_Ameer108	g g g c c c g c c c t c t a c c t t t t t t t t t t g g c a t a t g a a a c c a t t a t c t c a

EU1712633	<i>Pristimantis fenestratus</i>	Peru	ND	16S_Pris21C.....C..A..TT..CCTA.....CC.....G..GCCT.....TG.....A..T..TTGC..C..ATA..A..AC..TGTTTGAT..TAA.....T.....T..AGT.....A..T..C.....C
EF493703	<i>Pristimantis fenestratus</i>	Peru	ND	16S_Pris21C.....C..A..TT..CCTA.....CC.....G..GCCT.....TG.....A..T..TTGC..C..ATA..A..AC..TGTTTGAT..TAA.....T.....T..AGT.....A..T..C.....C
KST_0568	<i>Pristimantis fenestratus</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Pris21C.....C..A..TT..CCTA.....CC.....G..GCCT.....TG.....A..T..TTGC..C..ATA..A..AC..TGTTTGAT..TAA.....T.....T..AGT.....A..T..C.....C
CORBIDI_5289	<i>Pristimantis fenestratus</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Pris22	A.....C.....G..TTT.....CTA.....C..AAG..GTC..CT..G..AA..T..GTGC.....GA..A..T..ATGTTTG..T..A..C.....T.....CA..GT..T..ATTAC..CC..
EU192281	<i>Pristimantis koehleri</i>	Bolivia	ND	16S_Pris23C.....C..A..TT..C..TA.....C.....G..GCCT.....TG.....A..T..TTGCTC..ATA..G..AC..TGTTTGAT..TAA.....T.....T..AGT.....A..T..C.....C
EU192280	<i>Pristimantis koehleri</i>	Bolivia	ND	16S_Pris23C.....C..A..TT..C..TA.....C.....G..GCCT.....TG.....A..T..TTGCTC..ATA..G..AC..TGTTTGAT..TAA.....T.....T..AGT.....A..T..C.....C
EU192282	<i>Pristimantis koehleri</i>	Bolivia	ND	16S_Pris23C.....C..A..TT..C..TA.....C.....G..GCCT.....TG.....A..T..TTGCTC..ATA..G..AC..TGTTTGAT..TAA.....T.....T..AGT.....A..T..C.....C
EU192278	<i>Pristimantis koehleri</i>	Bolivia	ND	16S_Pris23C.....C..A..TT..C..TA.....C.....G..GCCT.....TG.....A..T..TTGCTC..ATA..G..AC..TGTTTGAT..TAA.....T.....T..AGT.....A..T..C.....C
EU192279	<i>Pristimantis koehleri</i>	Bolivia	ND	16S_Pris23C.....C..A..TT..C..TA.....C.....G..GCCT.....TG.....A..T..TTGCTC..ATA..G..AC..TGTTTGAT..TAA.....T.....T..AGT.....A..T..C.....C
EU186660	<i>Pristimantis cf</i>	Peru	ND	16S_Pris24C.....G..TTT.....CTA.....A..AG..T..TT..T..G..AA..T..GTGCT.....A..A..T..ATGTTTG..AC.....G.....T.....CA..GT..T..ATTAC..CC..
EU1712715	<i>Pristimantis platydactylus</i>	Bolivia	ND	16S_Pris25	A.....C.....AGA..TC..G..A.....C.....G..GTATACC..GCGAA..T..AT..G..A..G..C..A..A..ATGTTTG..A..TTA.....TTA..GT..A..T..C.....C
EU1712718	<i>Pristimantis platydactylus</i>	Bolivia	ND	16S_Pris26	A.....C.....AGA..TC..G..A.....C.....G..GCTACT..GCGAA..T..ACTGC..A..C..A..A..ATGTTTG..A..TA.....TTA..GT..A..T..C.....C
EU1712710	<i>Pristimantis platydactylus</i>	Bolivia	ND	16S_Pris27	A.....C.....AGA..TC..G..A.....C.....G..GCATA..T..GCGAA..T..ACTGC..A..C..A..A..ATGTTTG..A..TG..G.....TTA..GT..A..T..C.....C
EU1712709	<i>Pristimantis platydactylus</i>	Bolivia	ND	16S_Pris28	A.....C.....AGA..TC..G..A.....C.....G..GCCTATT..GCGAA..T..ACTGC..A..C..A..A..ATGTTTG..A..TA.....TTA..CGT..A..T..C.....C
EU1712716	<i>Pristimantis platydactylus</i>	Bolivia	ND	16S_Pris29	A.....C.....AGA..TC..G..C..A.....C.....G..GCCTA..T..GCGAA..T..ACTGC..A..TC..AA..A..ATGTTTG..A..TA..C.....TTA..GT..A..T..C.....C
EU1712717	<i>Pristimantis platydactylus</i>	Bolivia	ND	16S_Pris30	A.....C.....AGA..TC..G..C..A.....C.....G..GCCTA..T..GCGAA..T..ACTGC..A..TC..AA..A..ATGTTTG..A..TA.....TTA..GT..A..T..C.....C
EU1712711	<i>Pristimantis platydactylus</i>	Bolivia	ND	16S_Pris31	A.....C.....AGA..TT..G..A.....C.....G..GCCGCT..GCGAA..T..ACTGC..A..C..A..CA..ATGTTTG..A.....C..G..TTA..GT..A..T..C.....C
EU1712707	<i>Pristimantis platydactylus</i>	Bolivia	ND	16S_Pris32	A.....C.....AGA..TT..G..A.....C.....G..GCCGATT..GCGAA..T..ACTGC..A..C..A..A..ATGTTTG..AC.....G.....TTA..CGT..GA..T..C.....C
EU192284	<i>Pristimantis platydactylus</i>	Bolivia	ND	16S_Pris32	A.....C.....AGA..TT..G..A.....C.....G..GCCGATT..GCGAA..T..ACTGC..A..C..A..A..ATGTTTG..AC.....G.....TTA..CGT..GA..T..C.....C
EU1712712	<i>Pristimantis platydactylus</i>	Bolivia	ND	16S_Pris33	A.....C.....AGA..TT..G..A.....C.....G..GCCGCT..GCGAA..T..ACTGC..A..C..A..CA..ATGTTTG..A..T..C..G..ATTA..CGT..A..T..C.....C
EU1712708	<i>Pristimantis platydactylus</i>	Bolivia	ND	16S_Pris34	A.....C.....AGA..TT..G..A.....C.....G..GCCGCT..GCGAA..T..ACTGC..A..C..A..CA..ATGTTTG..A.....G.....TTA..GT..A..T..C.....C
EU1712713	<i>Pristimantis platydactylus</i>	Bolivia	ND	16S_Pris35	A.....C.....AGA..TT..G..A.....C.....G..GTCACC..GCGAA..T..AT..G..A..G..C..A..A..ATGTTTG..A..TTA.....TTA..GT..A..T..C.....C
EU192283	<i>Pristimantis platydactylus</i>	Bolivia	ND	16S_Pris35	A.....C.....AGA..TT..G..A.....C.....G..GTCACC..GCGAA..T..AT..G..A..G..C..A..A..ATGTTTG..A..TTA.....TTA..GT..A..T..C.....C
EU192257	<i>Pristimantis rhabdolaemus</i>	Bolivia	ND	16S_Pris37C.....G..TTT.....CTA.....C..AG..T..TA..T..G..GAATTT..GTGC..C.....GA..A..T..ATGTTTG..TTA.....G.....CA..GT..T..ATTAC..CC..
EU192258	<i>Pristimantis rhabdolaemus</i>	Bolivia	ND	16S_Pris38C.....G..TTT.....CTA.....C..AG..T..TA..T..G..GAATTT..GTGC..C.....GA..A..T..ATGTTTG..TTA.....G.....CA..GT..T..ATTAC..CC..
EF493706	<i>Pristimantis rhabdolaemus</i>	Peru	ND	16S_Pris39C.....G..TTT.....CTA.....C..AG..T..TT..T..G..AA..T..GTGC..C.....GA..A..T..ATGTTTG..AC..T.....G.....CA..GT..T..ATTAC..CC..
EF493704	<i>Pristimantis stictogaster</i>	Peru	ND	16S_Pris40C.....G..TTT.....CTA.....C..AG..T..TT..T..G..AA..T..GTGCT.....GA..A..T..ATGTTTG..AC..T.....G.....CA..GT..T..ATTAC..CC..
EF493705	<i>Pristimantis sagittulus</i>	Peru	ND	16S_Pris41C.....G..TTT.....CTA.....C..AG..G..T..T..G..AA..T..GTGCTA.....GA..A..T..ATGTTTG..AC.....G.....A..CA..GT..T..ATTAC..CC..
KST_0278	<i>Pristimantis reichlei</i>	Peru	Huánuco	16S_Pris42C.....G..TTT.....TA.....CT..AG..GTCTCT..G..AA..A..GTGCT.....GA..A..T..ATGTTTG..AC..T.....G.....T..GT..T..ACTAC..CC..
AIC_2025	<i>Pristimantis reichlei</i>	Peru	Huánuco	16S_Pris42C.....G..TTT.....TA.....CT..AG..GTCTCT..G..AA..A..GTGCT.....GA..A..T..ATGTTTG..AC..T.....G.....T..GT..T..ACTAC..CC..
AIC_2004	<i>Pristimantis reichlei</i>	Peru	Huánuco	16S_Pris43C.....G.....G..TT.....TA.....CT..AG..GTCTCT..G..AA..A..GTGCT.....GA..A..T..ATGTTTG..AC..T.....T.....TA..GT..T..ACTAC..CC..
EF493707	<i>Pristimantis peruvianus</i>	Peru	ND	16S_Pris44C.....G.....G..TTT.....CTA.....CCT..AG..AGCC..CT..G..AA..T..GTG.....G..A..T..ATGTTTG..AT..T.....G..G..TAC..GTCT..C..AC..CC..
EU1712720	<i>Pristimantis reichlei</i>	Peru	ND	16S_Pris44C.....G.....G..TTT.....CTA.....CCT..AG..AGCC..CT..G..AA..T..GTG.....G..A..T..ATGTTTG..AT..T.....G..G..TAC..GTCT..C..AC..CC..
EU192285	<i>Pristimantis reichlei</i>	Peru	ND	16S_Pris45C.....G.....G..TTT.....CTA.....CCT..AG..AGCC..CT..G..AA..T..GTG.....G..A..T..ATGTTTG..AT..T.....G..G..TAC..GTCT..C..AC..CC..
EU192288	<i>Pristimantis reichlei</i>	Peru	ND	16S_Pris46C.....G.....G..TTT.....CTA.....CCT..AG..AGCC..TT..G..AA..T..GTGC..C.....G..A..T..ATGTTTG..AT..T.....G..G..TAC..GT..T..C..AC..CC..
KST_0586	<i>Pristimantis reichlei</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Pris47C.....G.....G..TTT.....CTA.....CCT..AG..AGCC..CT..G..AA..T..GTGC..C.....G..A..T..ATGTTTG..AT..T.....G..G..TAC..GT..T..C..AC..CC..
EU192287	<i>Pristimantis reichlei</i>	Bolivia	ND	16S_Pris48C.....G.....G..TTT.....CTA.....CCT..AG..AGCC..CT..G..AA..T..GTGC..C.....G..A..T..ATGTTTG..AT..T.....G..G..TAC..GT..T..C..AC..CC..
EU192286	<i>Pristimantis reichlei</i>	Bolivia	ND	16S_Pris49	A..CCC..G.....G..TTT.....CTA.....CCT..AG..AGCC..CT..G..AA..T..GTGC..C.....G..A..T..ATGTTTG..AT..T.....T.....GTCT..C..AC..CC..
EU1712719	<i>Pristimantis reichlei</i>	Bolivia	ND	16S_Pris50	A.....C.....G.....G..TTT.....TA.....CT..AG..GTCTCT..G..AA..A..GTGCT.....GA..A..T..ATGTTTG..AC..T.....G.....TA..GT..T..ACTAC..CC..
CORBIDI_5250	<i>Pristi carv</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Pris51C.....G.....G..TTT.....CTA.....C..AAG..GTC..TT..G..AA..T..GTGC.....GA..A..T..ATGTTTG..T..A..C.....TG.....CA..CGT..T..ATTAC..CC..
EU192263	<i>Pristimantis danae</i>	Bolivia	ND	16S_Pris52C.....G.....G..TTT.....GTA.....CT..AG..AGTCT..TC..G..AA..T..G..ACT..T..GA..A..TCATGTTTG..AC..A..CG..AG.....TTA..AT..T..ATTAC..CC..
EU192265	<i>Pristimantis danae</i>	Bolivia	ND	16S_Pris52C.....G.....G..TTT.....GTA.....CT..AG..AGTCT..TC..G..AA..T..G..ACT..T..GA..A..TCATGTTTG..AC..A..CG..AG.....TTA..AT..T..ATTAC..CC..
EU192264	<i>Pristimantis danae</i>	Bolivia	ND	16S_Pris52C.....G.....G..TTT.....GTA.....CT..AG..AGTCT..TC..G..AA..T..G..ACT..T..GA..A..TCATGTTTG..AC..A..CG..AG.....TTA..AT..T..ATTAC..CC..
EU192262	<i>Pristimantis danae</i>	Bolivia	ND	16S_Pris52C.....G.....G..TTT.....GTA.....CT..AG..AGTCT..TC..G..AA..T..G..ACT..T..GA..A..TCATGTTTG..AC..A..CG..AG.....TTA..AT..T..ATTAC..CC..
EU192260	<i>Pristimantis danae</i>	Bolivia	ND	16S_Pris52C.....G.....G..TTT.....GTA.....CT..AG..AGTCT..TC..G..AA..T..G..ACT..T..GA..A..TCATGTTTG..AC..A..CG..AG.....TTA..AT..T..ATTAC..CC..
EU192261	<i>Pristimantis danae</i>	Bolivia	ND	16S_Pris52C.....G.....G..TTT.....GTA.....CT..AG..AGTCT..TC..G..AA..T..G..ACT..T..GA..A..TCATGTTTG..AC..A..CG..AG.....TTA..AT..T..ATTAC..CC..
EU192269	<i>Pristimantis danae</i>	Peru	ND	16S_Pris53C.....G.....G..TTT.....CTA.....C..AG..GTCTA..C..G..AA..T..GTGC..A..GA..A..T..ATGTTTG..AC..T.....G.....A..TA..GT..T..ATTAC..CC..
EU192270	<i>Pristimantis danae</i>	Peru	ND	16S_Pris53C.....G.....G..TTT.....CTA.....C..AG..GTCTA..C..G..AA..T..GTGC..A..GA..A..T..ATGTTTG..AC..T.....G.....A..TA..GT..T..ATTAC..CC..
EU192266	<i>Pristimantis danae</i>	Peru	ND	16S_Pris53C.....G.....G..TTT.....CTA.....C..AG..GTCTA..C..G..AA..T..GTGC..A..GA..A..T..ATGTTTG..AC..T.....G.....A..TA..GT..T..ATTAC..CC..
EU192268	<i>Pristimantis danae</i>	Peru	ND	16S_Pris53C.....G.....G..TTT.....CTA.....C..AG..GTCTA..C..G..AA..T..GTGC..A..GA..A..T..ATGTTTG..AC..T.....G.....A..TA..GT..T..ATTAC..CC..
EU192267	<i>Pristimantis danae</i>	Peru	ND	16S_Pris53C.....G.....G..TTT.....CTA.....C..AG..GTCTA..C..G..AA..T..GTGC..A..GA..A..T..ATGTTTG..AC..T.....G.....A..TA..GT..T..ATTAC..CC..
EU192271	<i>Pristimantis danae</i>	Peru	ND	16S_Pris53C.....G.....G..TTT.....CTA.....C..AG..GTCTA..C..G..AA..T..GTGC..A..GA..A..T..ATGTTTG..AC..T.....G.....A..TA..GT..T..ATTAC..CC..
EU192272	<i>Pristimantis danae</i>	Peru	ND	16S_Pris53C.....G.....G..TTT.....CTA.....C..AG..GTCTA..C..G..AA..T..GTGC..A..GA..A..T..ATGTTTG..AC..T.....G.....A..TA..GT..T..ATTAC..CC..
EF493390	<i>Pristimantis aniptopalatus</i>	Peru	ND	16S_Pris54	A.....C.....G.....G..TTT.....CTA.....C..AG..GTCTA..C..G..AA..T..GTGC..A..GA..A..T..ATGTTTG..TC.....G.....A..TA..GT..T..ATTAC..CC..

Anexo XV. Sitios polimórficos informativos observados en el alineamiento múltiple de las secuencias del gen 16S rRNA para el análisis de *Scinax*. ID=Código de la secuencia, HapID= Código dado para cada haplotipo. Datos de especie, país y región son proporcionados.

ID	Especie	País	Región	Hap ID	Secuencia
KST_0546	<i>Scinax pedromedinae</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Scinax1	ATGACTCACCCCTTTGTGGGAACACGATTTTTATTTCAGTGCCACCCATAAACTACTAAATACAAGCCACCGAAAAAATGCCCAAACCCATAGGCCCAATTGGCCACATAGCCACGCCAAACCTTAC
KST_0548	<i>Scinax pedromedinae</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Scinax2
CORBIDI_5211	<i>Scinax pedromedinae</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Scinax3
KST_0559	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Scinax4
KST_0617	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Scinax4
KST_0561	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Scinax4
KST_0558	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Scinax4
KST_0604	<i>Scinax garbei</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Scinax4
KST_0471	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Scinax5
CORBIDI_5241	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Scinax6
CORBIDI_5251	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Scinax7
CORBIDI_5206	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Scinax7
CORBIDI_5249	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Scinax7
CORBIDI_5174	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Scinax7
KST_0473	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Scinax8
KST_0486	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Scinax8
CORBIDI_5228	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Scinax9
CORBIDI_5240	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Scinax9
KST_0467	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Scinax10
CORBIDI_5223	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Scinax11
CORBIDI_5212	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Scinax12
CORBIDI_5214	<i>Scinax ictericus</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Scinax13
CORBIDI_5208	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Scinax14
CORBIDI_5207	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Scinax14
CORBIDI_5227	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Scinax14
KST_0579	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Scinax15
AY326034	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Scinax15
EU201092	<i>Scinax ruber</i>	Suriname	ND	16S_Scinax16
AF467264	<i>Scinax ruber</i>	Guyana Francesa	ND	16S_Scinax17
EF376073	<i>Scinax ruber</i>	Guyana Francesa	ND	16S_Scinax17
AY549365	<i>Scinax ruber</i>	Guyana	ND	16S_Scinax18
KST_0626	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Scinax19
EF217481	<i>Scinax ruber</i>	Guyana Francesa	ND	16S_Scinax20
EF217486	<i>Scinax ruber</i>	Guyana Francesa	ND	16S_Scinax20
EF217482	<i>Scinax ruber</i>	Guyana Francesa	ND	16S_Scinax20
EF217485	<i>Scinax ruber</i>	Guyana Francesa	ND	16S_Scinax20
EF217483	<i>Scinax ruber</i>	Guyana Francesa	ND	16S_Scinax21
EF217484	<i>Scinax ruber</i>	Guyana Francesa	ND	16S_Scinax22
KST_0528	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Scinax23
EF217473	<i>Scinax ruber</i>	Guyana Francesa	ND	16S_Scinax24
EF217475	<i>Scinax ruber</i>	Guyana Francesa	ND	16S_Scinax24
EF217477	<i>Scinax ruber</i>	Guyana Francesa	ND	16S_Scinax24
EF217478	<i>Scinax ruber</i>	Guyana Francesa	ND	16S_Scinax24
EF217474	<i>Scinax ruber</i>	Guyana Francesa	ND	16S_Scinax25
EF217476	<i>Scinax ruber</i>	Guyana Francesa	ND	16S_Scinax26
EF217487	<i>Scinax ruber</i>	Guyana Francesa	ND	16S_Scinax27
KST_0249	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Huánuco	16S_Scinax28
KST_0241	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Huánuco	16S_Scinax28
KST_0239	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Huánuco	16S_Scinax28
KST_0536	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Scinax29
AJC_2003	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Huánuco	16S_Scinax30
EF217490	<i>Scinax ruber</i>	Guyana Francesa	ND	16S_Scinax31
EF217488	<i>Scinax ruber</i>	Guyana Francesa	ND	16S_Scinax32
EF217489	<i>Scinax ruber</i>	Guyana Francesa	ND	16S_Scinax33
EU201091	<i>Scinax ruber</i>	Guyana Francesa	ND	16S_Scinax34
CORBIDI_5225	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Scinax35
CORBIDI_5209	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Scinax36
CORBIDI_5205	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Scinax36
CORBIDI_5245	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Madre de Dios	16S_Scinax37
KST_0231	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Huánuco	16S_Scinax38
AJC_2002	<i>Scinax ruber</i>	Peru	Huánuco	16S_Scinax38

