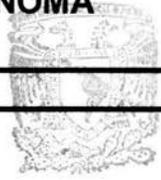


276774



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO



FACULTAD DE CIENCIAS

BIBLIOTECA  
INSTITUTO DE ECOLOGÍA  
UNAM

“FILOGEOGRAFÍA DE LAS POBLACIONES DEL  
CARPINTERO ARLEQUÍN *Melanerpes  
formicivorus* (AVES: PICIDAE)”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G A

P R E S E N T A:

MAGALI BLANCA ISABEL HONEY ESCANDÓN

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. BLANCA ESTELA HERNÁNDEZ BAÑOS



2002



FACULTAD DE CIENCIAS  
SECCIÓN ESCOLAR

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**DRA. MARÍA DE LOURDES ESTEVA PERALTA**  
Jefa de la División de Estudios Profesionales de la  
Facultad de Ciencias  
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo escrito: "Filogeografía de las poblaciones del carpintero arlequín Melanerpes formicivorus (Aves: Picidae)"

realizado por Magali Blanca Isabel Honey Escandón

con número de cuenta 9753870-5 , quien cubrió los créditos de la carrera de: Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis

Propietario Dra. Blanca Estela Hernández Baños *Blanca Estela Hernández Baños*

Propietario Dr. Adolfo Gerardo Navarro Sigüenza *Adolfo Gerardo Navarro Sigüenza*

Propietario Dr. Luis Enrique Equiarte Fruns *Luis Enrique Equiarte Fruns*

Suplente Dr. Juan José Morrone Lupi *Juan José Morrone Lupi*

Suplente Dr. Luis Medrano González *Luis Medrano González*

Consejo Departamental de Biología

*Juan Manuel Rodríguez Chávez*  
M. en C. Juan Manuel Rodríguez Chávez

FACULTAD DE CIENCIAS  
U.N.A.M.



DEPARTAMENTO  
DE BIOLÓGICAS

Este trabajo se desarrolló en el Museo de Zoología "Alfonso L. Herrera" de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Autónoma de México, como parte de las actividades del taller "Faunística, Sistemática y Biogeografía de vertebrados terrestres e insectos de México", a cargo de los Dres. Adolfo Gerardo Navarro Sigüenza y Jorge Enrique Llorente Bousquets.

Para la realización de diferentes actividades relacionadas con este trabajo se contó con el apoyo financiero de DGAPA (IN-208700), CONACYT (R-27961), PROBETEL y la Facultad de Ciencias de la UNAM.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue posible gracias a la ayuda y al apoyo de muchas personas en mi formación como estudiante y como persona.

Agradezco a Mamá, Eduardo, Sergio, Varenka y Ofelia por compartir su vida conmigo y estar en las buenas y malas.

A Emman por su apoyo y amistad incondicional

A mis amigas de toda la vida Kasia, Fifo, Nallie, Mariana, Chiva y Anaht por su continua e interminable amistad.

Al HHH DT Choras, Mike, Peter, Ana, Axa, Dalia y Cazuelo por abrirse conmigo y dar un giro a mi vida.

A las moleculitas por el constante apoyo laboral y de gremio.

A mis amigos de la carrera y del Museo con quienes he compartido y aprendido muchas cosas Erick, Sofi, César, Sam, Octavio, Howell, Esteban, Fer, Gordillo y los que olvido.

A mis compañeros de taller con los cuales comenzó todo esto.

A los mastos por los momentos felices que han brindado.

A los integrantes del muégano, en especial a Andrés y a los integrantes del EBC por darme una visión nueva de la academia y de la amistad.

A Emilia y anexas por abrirme los ojos y darme felicidad diaria.

A mi tutora Dra. Blanca Hernández por su apoyo y confianza en mí desde el principio del proyecto.

Al Dr. Adolfo Navarro por abrirme las puertas al mundo de las aves.

Al Dr. Luis Eguiarte, Dr. Juan José Morrone y Dr. Luis Medrano por su valiosas y enriquecedoras contribuciones a este trabajo.

A DGAPA (IN-208700) por aportar el apoyo financiero para montar y estructurar el laboratorio de Sistemática Molecular del Museo de Zoología y por darme beca durante seis meses.

A PROBETEL por becarme durante un año con el fin de realizar mi tesis de licenciatura.

## ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
ANTECEDENTES.....	6
OBJETIVOS.....	11
HIPÓTESIS.....	11
DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE.....	12
MÉTODOS.....	14
RESULTADOS.....	15
DISCUSIÓN.....	28
CONCLUSIONES.....	36
APÉNDICE 1.....	37
APÉNDICE 2.....	38
APÉNDICE 3.....	39
LITERATURA CITADA.....	42

## ÍNDICE DE FIGURAS

1. MAPA DE DISTRIBUCIÓN DE <i>Melanerpes formicivorus</i> .....	7
2. PORCENTAJE DE LA COMPOSICIÓN DE NUCLEÓTIDOS.....	17
3. ÁRBOL DE UPGMA .....	22
4. ÁRBOL DE NEIGHBOR JOINING .....	23
5. ÁRBOL DE MINIMUM EVOLUTION .....	24
6. ÁRBOLES DE PARSIMONIA .....	26
7. ÁRBOL DE PARSIMONIA Y MAPA .....	27

## ÍNDICE DE TABLAS

1. LOCALIDADES Y NÚMERO DE HAPLOTIPO .....	18
2. MATRIZ DE DISTANCIAS ENTRE LOS 14 HAPLOTIPOS .....	21
3. MATRIZ DE DISTANCIAS ENTRE LOCALIDADES .....	21
4. SUBESPECIES DE <i>Melanerpes formicivorus</i> .....	29

# FILOGEOGRAFÍA DE LAS POBLACIONES DEL CARPINTERO ARLEQUÍN *Melanerpes formicivorus* (AVES: PICIDAE)

## INTRODUCCIÓN

La variación geográfica es la diferenciación fenotípica y genotípica presente entre las poblaciones de una misma especie en relación con su distribución espacial (Futuyma 1998). La variación entre las poblaciones puede describir las asociaciones históricas y los procesos de reestructuración genética que pueden conducir a la especiación (Kirchman *et al.* 2000) así como proporcionar información de la adaptación en diferentes hábitats, separación de linajes y aislamiento ecológico (Benítez-Díaz 1993). Esta variación se aprecia en primera instancia y se caracteriza a través de la observación de la morfología externa (Hillis *et al.* 1996, Weir 1996). La variación que tenga bases genéticas es la base de los cambios evolutivos que puedan llevarse al cabo así como también los niveles actuales de variación en diferentes poblaciones dan evidencia de la existencia de diversos eventos evolutivos en el pasado (Weir 1996). Por ello la variación, que en un principio era objeto de una mera descripción, recientemente ha sido objeto de análisis estadísticos y multivariados con el fin de cuantificar las diferencias y relacionarlas con la distribución geográfica, la taxonomía y la evolución de las especies (Ibáñez-Hernández 2000).

Con el fin de realizar análisis cada vez más exactos dentro de la variación geográfica, establecer una base genética para los aspectos de adecuación (Zink 1997) y afinar los estudios de límites de especies, actualmente se utilizan otros caracteres diferentes a los morfológicos, como los etológicos, ecológicos y genéticos (moleculares). Éstos últimos son utilizados ampliamente para hacer sistemática molecular o variación genética debido a que los datos moleculares son más fáciles de analizar cuantitativamente que los morfológicos y porque la información molecular es muy abundante (Li 1997). En los últimos treinta años se ha desarrollado una gran variedad de técnicas y teorías que permiten examinar la variación genética entre poblaciones (Kirchman *et al.* 2000) utilizando diferentes marcadores moleculares.

Los primeros estudios de variación geográfica molecular de aves se realizaron con aloenzimas. Sin embargo, se descubrió que la evolución de estas moléculas es lenta en comparación con otras regiones genómicas de las aves y proporcionan poca información acerca de la historia reciente a nivel poblacional (Zink 1997). Después se recurrió al DNA mitocondrial,

y más recientemente, al nuclear, como macromolécula base para los estudios de variación intraespecífica y niveles taxonómicos mayores.

Las ventajas del DNA mitocondrial con respecto al nuclear o al uso de aloenzimas en aves y en todos los vertebrados son ahora muy conocidas y claras (Awise 2000). Las mitocondrias tienen un genoma propio (usualmente circular) que se replica independientemente y tiene un gran número de copias por mitocondria. Además, se hereda únicamente por vía materna en una forma completamente clonal y no hay evidencia directa de que se recombine con otras moléculas de DNA mitocondrial o que sea objeto de una transferencia horizontal de genes. Debido a que evoluciona más rápido que el genoma nuclear, se ha propuesto un reloj molecular de aproximadamente 2% de divergencia en las secuencias entre pares de linajes por millón de años, el cual depende mucho del gen que se utilice y del grupo taxonómico que se trate (Awise 2000). Por otra parte, el DNA mitocondrial (mtDNA) carece de intrones y los espacios entre los genes son pequeños, menores a 10 pares de bases. Sus genes son casi idénticos en todos los vertebrados, así como el orden de los mismos en el genoma; a excepción de las aves, en que el orden de los genes es único (Desjardins y Morais 1990) y al parecer se conserva en varios de los órdenes actuales (Quinn 1997). Estos factores hacen que su purificación y manipulación sea más sencilla y al generar linajes uniparentales y tener una evolución más rápida, el mtDNA puede utilizarse para estudios de variación geográfica, ya que es posible que una estructura geográfica particular haya evolucionado en poblaciones relativamente jóvenes (Moore *et al.* 1991). Por esto constituye una molécula más clara para la reconstrucción de la historia evolutiva de los seres vivos.

Al ser el DNA mitocondrial rico en información acerca de los procesos que ocurren a nivel de población, los patrones de variación individuales pueden ser analizados filogenéticamente (Zink 1997). Uno puede inferir la historia filogenética de los haplotipos en la misma forma en que se infiere la filogenia de un género; es decir, los individuos se interpretan en genotipos y son asignados a linajes maternos y la filogenia resultante está relacionada con patrones de distribución geográficos (Hillis *et al.* 1996), lo que actualmente se denomina filogeografía (Zink 1997, Awise 2000).

La filogeografía es un campo de estudio relativamente nuevo que utiliza los principios y procesos que rigen las distribuciones geográficas de linajes filogenéticos o genealógicos (Awise 2000) y se enfoca principalmente en especies relacionadas muy cercanamente o poblaciones dentro de ellas. Así, la filogeografía tiene dos componentes principales que son los de tipo

histórico y los de tipo geográfico, sobre los cuales se realizan mapas particulares de los linajes de los genes de interés.

Debido a que los análisis filogeográficos se realizan dentro de las poblaciones de una misma especie, es necesario introducir conceptos filogenéticos con el fin de explicar la evolución intraspecífica. En un principio se pensaba que la filogenia no tenía significado o no podía aplicarse a nivel intraespecífico debido a que los organismos se reproducen sexualmente y sus linajes conespecíficos no resultan en árboles dicotómicos y jerárquicos. Sin embargo, desde el punto de vista filogenético, el genoma completo del DNA mitocondrial constituye un locus único porque los estados de carácter se ligan genealógicamente por el modo de transmisión asexual de la molécula (Avice 2000) y resultan en árboles resueltos y dicotómicos aun dentro de especies con reproducción sexual.

Las estimaciones filogeográficas tratan con la distribución espacial de los alelos cuyas relaciones filogenéticas se conocen o pueden ser estimadas (Avice 2000). Así, una especie puede tener un patrón filogeográfico, es decir, que las diferencias en el gen mitocondrial concuerdan con las diferencias geográficas de la especie. Los grupos que se forman a nivel de gen se diferencian perfectamente y con una gran resolución entre sí; lo mismo ocurre con la distribución geográfica de los individuos que portan estos genes.

La relación entre los diferentes haplotipos y la ubicación geográfica de las poblaciones, subespecies o morfos de la especie de interés, puede resultar en diferentes patrones filogeográficos, que son variaciones del ideal antes descrito. Los patrones son los siguientes (Avice 2000):

**CATEGORÍA I:** árbol genético con divergencia antigua, linajes alopátridas. Presencia de haplogrupos restringidos a un área geográfica determinada, separados por distancias mutacionales relativamente grandes. La subestructura espacial también puede estar presente entre los linajes más cercanamente relacionados dentro de las regiones. Esta categoría comúnmente aparece en las investigaciones filogeográficas realizadas con mtDNA.

**CATEGORÍA II:** árbol genético con divergencia antigua, linajes ampliamente simpátridas. Se caracteriza por diferencias filogenéticas pronunciadas entre algunas ramas de un árbol genético y sus linajes principales se encuentran codistribuidos sobre un área amplia.

CATEGORÍA III: árbol genético con divergencia reciente, linajes alopátridas. La mayoría de los haplotipos están cercanamente relacionados y están localizados geográficamente cada uno por separado.

CATEGORÍA IV: árbol genético con divergencia reciente, linajes simpátridas. Este patrón se espera en especies con alto flujo génico cuyas poblaciones no han sido divididas por barreras biogeográficas antiguas.

CATEGORÍA V: árbol genético con divergencia reciente, distribución de linajes variada. Es intermedio entre las Categorías III y IV, y consta de linajes comunes con amplia distribución y de linajes relacionados con distribución restringida (cada uno confinado a uno o más linajes locales cercanos).

Como resultado de la introducción de los conceptos de filogeografía, ya se han caracterizado los patrones genéticos de muchos grupos de organismos, incluidas las aves. Se han realizado varios trabajos con diferentes órdenes y familias (Ball *et al.* 1988, Quinn 1992, Baker *et al.* 1994, Barrowclough *et al.* 1999, Bensch y Hasselquist, 1999, Arnaiz-Villena *et al.* 2001), comparando una o más especies (Zink 1996 y Zink 2001), en un solo continente (Degnan y Moritz 1992, Lovette 1999, Omland *et al.* 2000, Hughes *et al.* 2001) e incluso a escala transcontinental (Wenink *et al.* 1996, Zink *et al.* 2002). Estos patrones filogeográficos encontrados en varios taxones de aves corresponden a diferentes categorías de las anteriormente mencionadas, no se restringen a alguna en particular.

México es una zona geográfica importante, porque cuenta con sistemas templados y tropicales muy diversos y han sido pocos los trabajos donde se utilizan técnicas moleculares (mucho menos filogeográficas) para estudiar taxones con distribuciones disyuntas ubicadas en zonas tropicales (Peterson *et al.* 1992). Algunos autores sugieren que existen diferencias fundamentales entre los sistemas templados y tropicales y que la variación genética se ve afectada, tanto por estos factores, como por la vagilidad de las especies y la escala geográfica (Kirchman *et al.* 2000). Debido a que el aislamiento geográfico es la unidad clave en los procesos de especiación geográfica y tiene como principio la variación genética, se tiene un gran potencial de estudios históricos al realizar comparaciones entre poblaciones aisladas de especies politípicas (Mayr 1963, en Kirchman *et al.* 2000).

El carpintero arlequín, *Melanerpes formicivorus* (Swainson), es un ejemplo de especie politípica con distribución disyunta en zonas subtropicales y templadas de México,

principalmente y de Estados Unidos y Centro y Sudamérica. Por ello es un excelente objeto de estudio para conocer los patrones filogeográficos de sus poblaciones y compararlos con los obtenidos de estudios morfológicos previos.

## ANTECEDENTES

El carpintero arlequín es un complejo de subespecies polimórficas aisladas geográficamente, que se distribuye en regiones tropicales, subtropicales y templadas de Norte, Centro y Sudamérica (Figura 1). Se lo encuentra desde el centro y sur de Washington y noreste de Oregon hacia el sur a través de California (incluyendo las islas Santa Catalina y Santa Cruz) hasta el norte de Baja California y en un área aislada en el sur de Baja California. Desde el sur de Utah, norte de Arizona, norte de Nuevo México, oeste y centro de Texas, Nuevo León, suroeste de Tamaulipas hacia el sur a través de las cadenas montañosas de México y Centroamérica (incluyendo tierras bajas del sureste de México, Belice y el este de Honduras y noreste de Nicaragua) hasta el extremo oeste de Panamá y en Sudamérica en los Andes de Colombia (AOU 1998). Estas poblaciones tienen una gran variación geográfica en coloración y tamaño del pico y alas.

Varios autores han descrito varias subespecies para *Melanerpes formicivorus*, las cuales coinciden ampliamente entre sí en las áreas de distribución. Destacan las descritas por Ridgway (1914), Peters (1948) y Miller *et al.* (1957).

Ridgway reconoció siete subespecies:

SUBESPECIE	DISTRIBUCIÓN
<i>M.f. formicivorus</i>	Centro y sur de Texas y este y sureste de México, en Tamaulipas, Nuevo León, San Luis Potosí, Guanajuato, Puebla, Veracruz, México, Hidalgo, Morelos, Zacatecas, Jalisco, Sinaloa, Tepic, Michoacán, Guerrero, Oaxaca, Chiapas y Guatemala.
<i>M. f. aculeatus</i>	Arizona, Nuevo México y oeste de Texas hacia el sur por el noroeste de México, en Sonora, Chihuahua y Durango
<i>M. f. bairdi</i>	Costa del Pacífico de Estados Unidos, desde el noroeste de Oregon al sur hasta el norte de Baja California
<i>M. f. angustifrons</i>	Confinada al Distrito de Cabo San Lucas en Baja California.
<i>M. f. albeolus</i>	Confinada al norte de Belice y sur de Quintana Roo
<i>M. f. striatipectus</i>	En el sureste de Honduras, a través de Nicaragua y Costa Rica y oeste de Panamá
<i>M. f. flavigula</i>	Confinada al centro de Colombia.

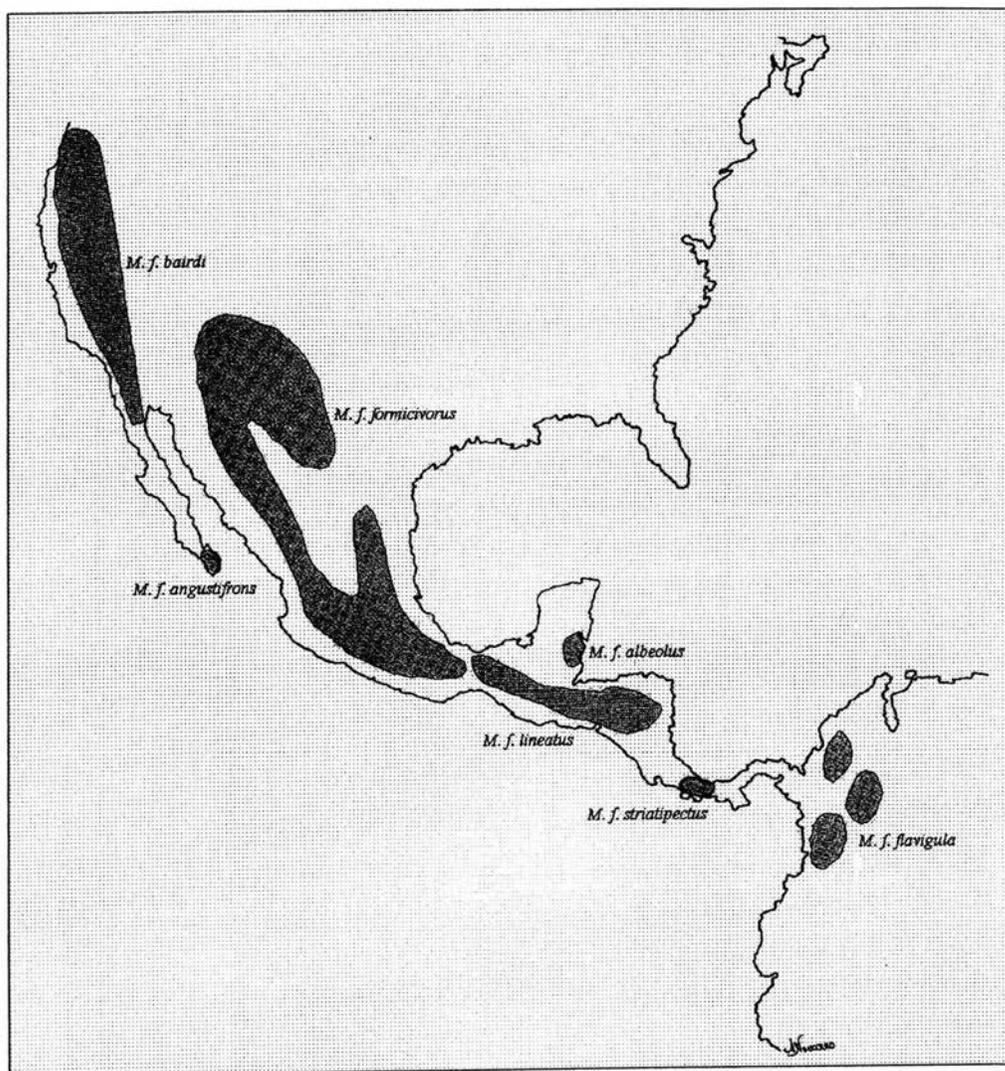


Figura 1. Distribución general de *Melanerpes formicivorus*. Se muestran los siete grupos morfológicos encontrados por Benítez-Díaz (1993): *bairdi*, *angustifrons*, *formicivorus*, *albeolus*, *lineatus*, *striatipectus* y *flavigula*. (modificado de Benítez-Díaz 1993).

Peters (1948) reconoce las subespecies *M. f. angustifrons*, *M. f. striatipectus* y *M. f. flavigula*, descrita por Ridgway (1914). Sin embargo, considera a *M. f. formicivorus* y *M. f. aculeatus* como una sola, agrupándolas bajo el nombre de la primera; y además, considera a la población de *M. f. formicivorus* que se distribuye en Chiapas y Guatemala como una posible subespecie nueva, *M. f. lineatus*, y amplía su rango de distribución hasta el oeste de Belice, Honduras, El Salvador y norte de Nicaragua. A pesar de que distingue esta subespecie de *M. f. formicivorus*, sostiene que es dudosa su separación respecto a *M. f. albeolus*, ya que morfológicamente son casi indistinguibles. En cuanto a *M. f. bairdi*, considera que su distribución llega hasta el sur de California, y que la población que se encuentra en la Sierra San Pedro Mártir, al norte de Baja California, es *M. f. martirensis*, a diferencia de Ridgway (1914) que consideraba a ambas como *M. f. bairdi*. Miller *et al.* (1957) reconocieron en su totalidad las subespecies que Peters publicó previamente y las mencionan con el mismo nombre y distribución.

A pesar de las descripciones de las diferentes poblaciones del carpintero arlequín, Short (1982) afirma que estas diferencias son muy pequeñas como para hablar de variación geográfica. Incluso Sibley y Monroe (1990), en su lista taxonómica de las aves del mundo, no la consideran como especie polítipica ni como superespecie. Howell y Webb (1995), en cambio, consideran la presencia de algunos grupos geográficos dentro de *Melanerpes formicivorus* (*angustifrons* y *lineatus*), pero no realizan una descripción detallada de ninguno de ellos.

Por su parte, Benítez-Díaz (1990), después de un exhaustivo estudio de variación morfológica de la especie, identifica siete grupos geográficos (Figura 1): el grupo *formicivorus*, que incluye la subespecie *M. f. formicivorus* de Peters; el grupo *bairdi*, que equivale a la subespecie *M. f. bairdi* de Ridgway (incluye las subespecies *M. f. bairdi* y *M. f. martirensis* de Peters); y los grupos *angustifrons* (Ridgway), *lineatus* (Peters), *albeolus*, *striatipectus* y *flavigula* (Ridgway), que corresponden a la distribución de las mismas subespecies antes mencionadas.

A pesar de los estudios que muestran una gran variación morfológica entre las poblaciones del carpintero arlequín, la American Ornithologist's Union (1998) la sigue considerando como una sola especie.

A raíz del estudio de Benítez-Díaz (1993), Navarro y Peterson (inéd.) proponen que dos subespecies de *Melanerpes formicivorus* que se encuentran distribuidas en México, sean elevadas a la categoría de especie: *M. bairdi*, que incluye a la subespecie *martirensis*, *M. angustifrons*, que

incluye a la subespecie *angustifrons* (la cual sería endémica para el país), además de *M. formicivorus*, con las subespecies *formicivorus*, *lineatus* y *albeolus*.

Hasta la fecha no se han realizado otros estudios de variación morfológica de esta especie de carpintero. La literatura científica disponible de los estudios realizados sobre el carpintero arlequín, se centran en su estado de conservación (Koenig y Williams 1979) y en su ecología, por ejemplo estudios de conducta de la reproducción (Hooge *et al.* 1999, Haydock y Koenig 2002), territorialidad (Du Plessis *et al.* 1994, Stanback 1994, Stanback 1998, Koenig *et al.* 2000), forrajeo (Stacey 1981) y demografía (Koenig *et al.* 1999, Koenig *et al.* 2001).

En cuanto a los estudios moleculares, solamente se han realizado investigaciones de filogenias moleculares a nivel de familia (Picidae) con diferentes tipos de genes (citocromo *b*, DNA satelital y el intron 7 del  $\beta$ -fibrinógeno), con el fin de obtener filogenias más robustas que proporcionen mayor información para construir mejores árboles de especies y no sólo árboles de genes. Estos estudios no incluyen a la especie *Melanerpes formicivorus*, aunque sí a otras de ese mismo género (e.g. Prychitko y Moore 1997, DeFilippis y Moore 2000 y Prychitko y Moore 2000). Más recientemente, en este año surgió un estudio de filogenia molecular realizado con un pájaro carpintero de género *Picoides*, con el fin de obtener mejor resolución para su filogenia y realizar comparaciones con la información morfológica disponible, así como probar su monofilia y la evolución del género en el continente americano (Weibel y Moore 2002a). Además, se prueba la eficacia de este estudio realizado con genes mitocondriales al compararlo con árboles filogenéticos surgidos de DNA nuclear (intron 7 del gen del  $\beta$ -fibrinógeno), como se hizo previamente en el estudio de la familia Picidae (Weibel y Moore 2002b).

De los estudios filogeográficos, existen numerosos realizados con aves pertenecientes a diversos órdenes y familias. Dentro de éstos, varios fueron realizados con pájaros carpinteros. Moore *et al.* (1991) estudiaron la variación del DNA mitocondrial en el carpintero collarero (*Colaptes auratus*) con tres diferentes enzimas de restricción y hallaron ocho haplotipos diferentes. Encontraron que hay una gran variación en las frecuencias de los haplotipos a lo largo de la zona de distribución de la especie, sobre todo en la zona de hibridación de las subespecies. Al hacer un análisis con UPGMA, obtuvieron dos agrupaciones al noreste y suroeste de Estados Unidos, que corresponden en cierto grado a la distribución de dos de las tres subespecies, aunque no se define nada acerca de la zona donde hibridizan. Más recientemente, Zink *et al.* (2002) realizaron la filogeografía de *Picoides tridactylus* cuya distribución abarca el hemisferio norte del

planeta. Compararon las secuencias de DNA mitocondrial de tres genes diferentes (ND2, ND3 y parte del citocromo *b*) y obtuvieron árboles filogenéticos que indicaron que los grupos en cada continente son monofiléticos, pero no hubo evidencia de una estructura filogeográfica para cada uno. Esto sugiere que debe tratarse de dos especies diferentes (una por cada continente) y que debe de realizarse una revisión taxonómica exhaustiva en esta especie. Sin embargo, no hay investigaciones moleculares o genéticas realizadas con el carpintero arlequín ni dentro del género *Melanerpes* hasta la fecha.

Por tanto, se hace necesario el estudio filogeográfico de *Melanerpes formicivorus* para resolver las dudas de los grupos geográficos existentes y los posibles límites de especies que pudieran surgir.

## OBJETIVOS

### General:

- Obtener el patrón filogeográfico de la especie *Melanerpes formicivorus* mediante el gen mitocondrial ND2

### Particulares:

- Establecer el patrón de distribución geográfica del gen
- Establecer las relaciones filogenéticas entre las poblaciones de la especie
- Realizar una comparación de la filogenia obtenida con la morfología y la distribución geográfica de la especie

## HIPÓTESIS

Al ser el carpintero arlequín un complejo de subespecies polimórficas y tener una distribución disyunta en diferentes sistemas montañosos de América, se espera que cada una de estas áreas de distribución, que corresponden a los siete grupos hallados por Benítez-Díaz (1993), se encuentren aisladas y tengan su propia identidad genética, además de que su relación filogenética sea clara debido al aislamiento geográfico, siempre y cuando no hayan existido fenómenos de sorteo de linajes.

## DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE

El carpintero arlequín se encuentra en climas subtropicales a templados, aunque localmente también lo está en zonas tropicales (AOU 1998). Su hábitat son encinares abiertos o bosques de pino-encino, pero también puede encontrarse en otros tipos de bosques donde haya troncos muertos en abundancia (Benítez-Díaz 1993). Perteneció al orden Piciformes, que consta de seis familias: Galbulidae, Bucconidae, Capitonidae, Indicatoridae, Ramphastidae y Picidae (Peters 1948), que se encuentran distribuidas en las áreas boscosas del mundo, excepto en Australia, Nueva Zelanda y Madagascar.

La familia Picidae está constituida por 209 especies, distribuidas en todo el mundo, excepto las regiones polares, Australia, Nueva Zelanda y Madagascar. Habitan en bosques de todos tipos, hay pocas especies en sabanas abiertas. La mayoría no son migratorias. Son aves de tamaño medio, que se caracterizan por tener un pico recto y puntiagudo, una lengua extensible tubular, patas zigodáctilas, y plumas de la cola firmes y rígidas (Wetmore 1968).

El carpintero arlequín es un ave de tamaño mediano (21-23.5cm) que presenta dimorfismo sexual en cuanto a su coloración y tamaño. El macho tiene, por lo general, ojos blancuzcos o rosáceos. La frente es de color crema y se encuentra unida a la parte baja de la garganta por una banda blanca que pasa a través de los lores (Howell y Webb 1995). La garganta tiene diversas tonalidades de color, que van desde el blanco amarillento al amarillo fuerte. Tiene la corona y la nuca rojas y el resto de la cabeza y el dorso son negro-azulosos o negro-verdosos (Ridgway 1914). El pecho es blancuzco, y una banda negra lo cruza, la cual varía en grosor y va de rayado finamente a densamente rayado (Benítez 1990); el resto del vientre es blanco, con rayas negras en los flancos (Howell y Webb 1995). Las alas son de color negro o café negruzco. Cuando vuela se distingue un parche ancho de color blanco que cruza la base de las primarias. La rabadilla y las cobertoras superiores de la cola son de color blanco y la cola es totalmente negra. Su pico es de color negro. La hembra es ligeramente más pequeña que el macho y se distingue en que la parte anterior de la corona es de color negro. El macho juvenil es muy similar al adulto, pero el color del plumaje es más opaco, así como el color del iris, que puede ser gris o café. (Ridgway 1914, Benítez 1990).

Esta especie es residente de invierno y se caracteriza por formar grupos que acumulan semillas (sobretudo bellotas y nueces) en árboles, troncos, postes y otras estructuras de madera que utilizan como almacenes. Estos grupos comunales están formados desde dos hasta más de

dieciséis individuos y están compuestos por dos o más adultos reproductores (Hooge *et al.* 1999), sus crías de anidamientos previos y algunos primos. Los agrupamientos suelen formarse en las estaciones de otoño e invierno, durante las cuales se dedican al almacenamiento de comida, al cuidado de las crías y a la defensa de las semillas acumuladas del robo por parte de otras especies y de individuos de la misma especie (Ehrlich *et al.* 1988). Esta especie se caracteriza por tener un tipo de reproducción poligínica y poliándrica a la vez, es decir que hay hembras con muchas parejas reproductoras machos; y éstos, a su vez, tienen varias hembras como parejas reproductoras (Haydock y Koenig 2002). Esta condición de dominancia de las parejas reproductoras se hereda a los hijos cuando éstas mueren. Los individuos del resto del grupo ayudan a cuidar y alimentar a los polluelos de la pareja reproductora y permanecen en el grupo toda su vida o durante cierto tiempo, hasta que se dispersan y forman su propio grupo (Koenig *et al.* 2000). Más de un individuo del grupo construye un nido independientemente del tamaño del grupo y del número de parejas reproductoras en él (Hooge *et al.* 1999). El nido es cavado dentro del tronco de un árbol y se forra con astillas. La hembra pone de 3 a 7 huevos blancos de 25 mm, que son incubados por ambos padres, aunque sólo llega a darse una cría y rara vez, dos. Además de comer bellotas durante el invierno, el resto del año se alimentan de insectos que atrapan al vuelo (Stacey 1981), frutas, maíz y savia (Ehrlich *et al.* 1988).

## MÉTODOS

### 1. Obtención de las muestras

#### 1.1 Trabajo de campo

Las muestras de tejidos de músculo, corazón e hígado para cuatro de las siete poblaciones (Baja California Sur, Baja California Norte, Costa Rica y centro de México) se obtuvieron en varias salidas al campo realizadas entre diciembre de 1988 y febrero de 1990 por personal del Museo de Zoología del área de ornitología, para un proyecto de variación geográfica a nivel morfológico de esta misma especie, *Melanerpes formicivorus*. En total se muestrearon diecisiete localidades en diez diferentes estados de la República Mexicana y una provincia en Costa Rica (Benítez Díaz 1990). Estas muestras fueron guardadas en el Field Museum of Natural History de Chicago en ultracongelador (-80°C). Para la realización de esta tesis, se solicitaron a este museo las muestras en préstamo en el año 2001. Otras muestras de esta especie, así como las del grupo externo (*M. aurifrons*, *M. uropygialis*, *M. grateloupensis*, *M. pucherani*, *M. pygmaeus*) fueron obtenidas de la Colección de Tejidos de Aves del Museo de Zoología "Alfonso L. Herrera" de la Facultad de Ciencias, que provienen de salidas al campo de otros proyectos. Las muestras pertenecientes a la población de Chiapas se solicitaron al Museo de Historia Natural de San Cristóbal de las Casas, directamente a través del M. en C. Eduardo Morales.

#### 1.2 Trabajo de laboratorio.

Todos los tejidos se almacenaron en amortiguador de lisis (50mL Tris HCL 2M pH=8, 200mL EDTA 0.5M pH=8, 2mL NaCl 5M, 25mL de SDS 20%, agua destilada) para facilitar la extracción del DNA.

La extracción de DNA se realizó mediante la técnica de Chelex diluido en agua destilada al 5% (Walsh *et al.* 1991). Se colocaron 350µL de esta solución en un tubo eppendorf de 0.6 mL etiquetado con el número de catálogo de la muestra de interés. En él se colocó un fragmento muy pequeño de tejido (aproximadamente 2mm<sup>3</sup>) y se maceró directamente en el tubo con la ayuda de pinzas. Se colocó en el vórtex por algunos segundos y se incubó a 95°C por 10 minutos en un calentador. Transcurrido ese tiempo, se le agitó en vórtex nuevamente y se incubó otros 10 minutos. Se centrifugó la muestra a 14000 revoluciones por minuto (rpm) durante un minuto y el DNA se obtuvo de la parte superior del sobrenadante.

Para la amplificación del gen ND2 mitocondrial, se realizó la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Para ello se etiquetó un tubo eppendorf de 0.2mL con el número de catálogo

correspondiente a la extracción de DNA deseada. Se le agregaron 25µL de agua, 5 µL de amortiguador de reacción (10x), 5µL de solución (2mM, 10x) con todos los desoxirribonucleótidos (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), 5µL de cada primer (2 primers en total, a una concentración de 10pmol/µL), 4µL de cloruro de magnesio (20x, 30mM), 0.1µL de enzima taq-polimerasa (5U/µL) y 2.0µL del DNA de la muestra de interés. Las muestras se colocaron en el termociclador GeneAmp 9700 de Applied Biosystems y para el gen ND2 se utilizó el siguiente programa: 95°C 1 minuto, 48° 2 minutos y 72° 3 minutos, durante 30 ciclos, y los siguientes primers: L5215 (TAT CGG GCC CAT ACC CCG AAA AT) y H5578 (CCT TGA AGC ACT TCT GGG AAT CAG A).

Una vez terminado el programa, la muestra pasó por una electroforesis en gel de agarosa al 1% a 100 ampers durante 30 minutos para verificar que se hizo la amplificación del gen deseado. Se cargó cada pozo del gel con 2µL de agua, 3µL de colorante azul y 5µL de producto de PCR. Se visualizó en un transiluminador y se tomaron fotografías del gel.

Si el resultado fue el esperado, se procedió a hacerle una purificación con el fin de eliminar los primers y fragmentos de DNA no deseados y obtener únicamente el gen amplificado. El proceso de purificación se realizó con el paquete QIAquick PCR Purification Kit de QIAGEN y el protocolo fue el siguiente: se etiquetaron los tubos filtradores con el número de catálogo correspondiente a la muestra PCR obtenido. Se le colocaron 25µL de esta muestra más 125µL del buffer PB. Se centrifugó a 13000 rpm durante un minuto. Se desechó el líquido filtrado y se le colocaron 750µL del buffer PE. Se centrifugó a la misma velocidad durante un minuto y se desechó nuevamente el filtrado. Se volvió a centrifugar a 14 000 rpm durante un minuto; se tiró el filtrado. El tubo filtrador se colocó sobre un tubo eppendorf de 1.5mL etiquetado y sin tapa. Se le agregaron 50µL de buffer EB y se centrifugó a 13000 rpm durante un minuto. Se desechó el tubo filtrador y el líquido obtenido se traspasó a un tubo de 0.6 mL etiquetado donde quedó finalmente la muestra completamente purificada.

Las muestras purificadas se enviaron a secuenciar en una sola dirección con la M. en C. Laura Márquez, encargada del secuenciador automático del Posgrado en Ciencias Biológicas ubicado en el Instituto de Biología.

## **2. Análisis de las secuencias**

Las secuencias obtenidas del gen ND2 mitocondrial en forma de cromatograma se corrigieron y limpiaron directamente en el programa Chromas 2.22 y posteriormente se alinearon

con el programa ClustalX 1.81. Se obtuvo la matriz de distancia con el método de sustitución de 2 parámetros de Kimura, se identificaron los haplotipos y se eliminaron los idénticos. Después con el programa Mega 2.0 (Kumar *et al.* 1993) se construyeron árboles de distancia con tres métodos diferentes: UPGMA, neighbor-joining y minimum evolution. Con cada uno de estos métodos se utilizaron diferentes algoritmos de sustitución de nucleótidos: Jukes & Cantor, 2-parámetros de Kimura y Tamura Nei.

Se construyeron árboles filogenéticos con análisis de parsimonia con el programa PAUP versión 4 (Swofford 1999) con la opción de búsqueda heurística.

A todos los árboles obtenidos se les hizo una prueba de bootstrap con mil réplicas para los que se generaron con el programa MEGA; y con 100 réplicas para los del programa PAUP. Además se obtuvo un árbol con el método de máxima verosimilitud con el fin de comprobar la robustez obtenida de los árboles de parsimonia.

Para los análisis de diversidad nucleotídica ( $\pi$ ) y endogamia ( $\phi_{ST}$ ) entre las localidades se utilizó el programa Arlequín ver. 2000 (Schneider *et al.* 2000)



## RESULTADOS

Se obtuvo un total de 59 secuencias, de las cuales 49 corresponden a *Melanerpes formicivorus* y diez a los grupos externos: dos de *M. pygmaeus* y de *M. uropygialis*, respectivamente, dos de *M. aurifrons aurifrons*, tres de *M. aurifrons grateloupensis* y una de *M. pucherani* (los números de catálogo y sus correspondencia con las localidades y las especies se encuentran en los Apéndices 1 y 2). Los haplotipos que se encontraron dentro del grupo de *M. formicivorus* fueron en total catorce (Tabla 1), mientras que en el grupo externo se encontraron nueve haplotipos diferentes, lo que da como resultado 23 haplotipos para todo el grupo estudiado.

Las secuencias obtenidas del carpintero arlequín corresponden localidades ubicadas dentro de la distribución de cinco de las siete poblaciones propuestas por Benítez-Díaz (1993): Baja California Sur, oeste de Estados Unidos y Baja California Norte, centro y norte de México, Chiapas y Costa Rica.

### 1. Composición nucleotídica

Todos los haplotipos obtenidos del gen ND2 mitocondrial tienen una longitud de 360 pares de bases. De las frecuencias de pares de bases se obtuvo que en promedio 342 son idénticas, con trece transiciones y tres transversiones, dando una relación de 4.3 (TT=77, TC=6, TA=0, TG=0, CT=5, CC=114, CA=1, CG=0, AT=1, AC=0, AA=109, AG=1, GT=0, GC=0, GA=1, GG=43). En cuanto a la composición nucleotídica, se observa que 23.2% corresponde a timina, 33.6% a citosina, 31.0% para adenina y 12.2% de guanina (Figura 2). Del total de los haplotipos, se obtuvieron 274 sitios conservados, 86 sitios variables y 66 sitios filogenéticamente informativos.

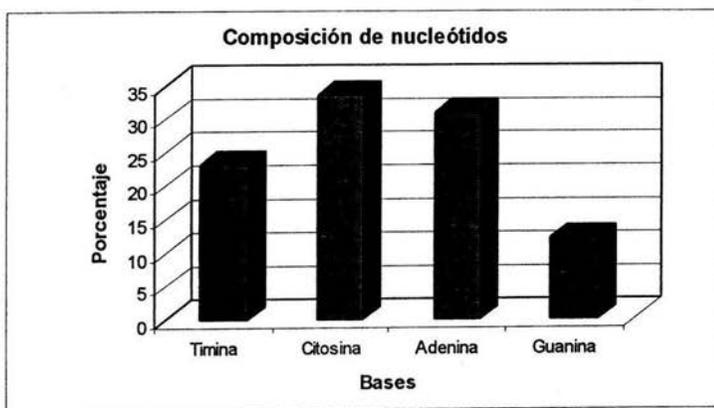


Figura 2. Porcentaje de la composición nucleotídica de las 59 secuencias utilizadas para este estudio.

El valor obtenido de  $\phi_{ST}$  para todas las poblaciones fue de 0.5811 lo que indica un grado de endogamia entre las poblaciones relativamente alto, lo que sugiere la presencia de poco flujo génico entre las mismas. Los valores de la diversidad nucleotídica, es decir, el valor promedio de número de nucleótidos diferentes entre dos secuencias por cada población, se calcularon para cada localidad escogida: Baja California Sur (BCS), Chiapas, Costa Rica, Baja California Norte (BCN), Sierra Madre Occidental (SMC), Sierra de Manantlán (SM), Sierra Madre del Sur (SMS), Eje Neovolcánico (EN) y Sierra Madre Oriental (SMR). Los valores para cada localidad se muestran a continuación:

Localidad	Centro de México								
	BCS	Chiapas	Costa Rica	BCN	SMC	SM	SMS	EN	SMR
$\pi$	0.3562	0	1.0709	0.3342	1.0038	0.6685	0	0	2.0145

Los valores de cero indican una diversidad nucleotídica nula en Chiapas, SMS y EN y los valores más altos se presentaron en Costa Rica y SMR.

Tabla 1. Localidades obtenidas para este estudio y el número de haplotipo que presentan de los catorce hallados para *M. formicivorus*. Entre paréntesis aparece la abreviatura del estado al que corresponden y el número de secuencias provenientes de esa localidad (49 en total). En negritas se muestra el haplotipo seleccionado para los análisis.

Localidad	Haplotipo
<b>SM (Jal) (2), EN (Mich) (3), SMS (Gro) (2), SMC (Dgo) (2), SMS (Oax) (2), SMC (Nay), SMR (Hgo), SMC (Qro) (2), SMC (Zac), BCN (5)</b>	1
<b>SMC (Zac)</b>	2
<b>SMC (Dgo)</b>	3
<b>SMR (Hgo)</b>	4
<b>BCN</b>	5
<b>SM (Jal)</b>	6
<b>SMR (Hgo)</b>	7
<b>San José (7)</b>	8
<b>San José</b>	9
<b>San José</b>	10
<b>San José</b>	11
<b>Chiapas (2)</b>	12
<b>BCS (2)</b>	13
<b>BCS (8)</b>	14

## 2. Análisis de distancia

Se obtuvo la matriz de distancia para todas las secuencias. De esta matriz se obtuvo 23 haplotipos (Tabla 1), reconociéndose para el grupo Chiapas un solo haplotipo, para el grupo de BCS dos y para el grupo de Costa Rica cuatro diferentes. Para las localidades SMR, SMC, SMS, SM y el EN se encontraron un total de siete diferentes. En cuanto al grupo de BCN se encontró que cinco haplotipos son idénticos a uno de los haplotipos de SM y solamente uno es diferente del resto. Dentro del grupo externo se hallaron nueve en total, ya que ambas secuencias de *M. pygmaeus* son idénticas.

Dado que los valores de distancia se repitieron para las secuencias que presentan el mismo haplotipo y debido a que se obtuvieron muchos resultados de cero, se presenta la matriz de distancia únicamente con los 23 haplotipos diferentes (Tabla 1). Los valores de distancia más bajos se observan entre los individuos de las localidades del centro de México (0.006 para SMR (Hgo) y SMC (Zac), 0.003 para ambos haplotipos de SM). Es interesante notar que los valores aumentan (0.026, 0.023, 0.017) cuando se comparan individuos de estas localidades con el grupo BCS y Chiapas lo que indica que existe una separación entre estos grupos. Como era de esperarse, los valores más altos se presentan en los grupos externos (0.193 para *M. aurifrons grateloupensis*, 0.177 para *M. a. aurifrons*, 0.145 para otro *M. a. grateloupensis*) al compararse con todo *Melanerpes formicivorus*. Asimismo, los haplotipos del grupo externo que tuvieron la menor distancia con respecto a este último, fueron los de *M. pucherani* y *M. pygmaeus* (0.126).

Dentro del grupo externo, los haplotipos que se encuentran más cercanos entre ellos son los tres que corresponden a *M. grateloupensis*, ya que tienen valores de distancia muy bajos (0.003 y 0.006), así como los dos que corresponden a *M. uropygialis* (0.003).

### 2.1 Análisis de agrupamiento no ponderado (UPGMA)

Se obtuvieron tres árboles idénticos por este método, utilizando tres diferentes algoritmos de sustitución de nucleótidos (Figura 3). En el árbol resultante, de arriba hacia abajo, se observa un grupo que incluye al haplotipo único de BCN y a todos los haplotipos del centro de México: SMC (Dgo), SMC (Zac), dos de SMR (Hgo) y dos de SM (Jal) y puede apreciarse que entre ellos la distancia genética es muy pequeña. Debido a que por lo general esta agrupación es constante en los análisis obtenidos, de ahora en adelante se denominará a este conjunto como Centro de México. Por otro lado se observa la formación de otros tres grupos, uno que incluye a los

haplotipos de Costa Rica, otro que une los dos haplotipos de BCS con el de Chiapas y por último, todas las especies del grupo externo juntas. Al aplicarle la prueba estadística “bootstrap” a esta topología, se observa que las ramas que están fuertemente apoyadas son las de los tres últimos grupos antes mencionados. La rama de Costa Rica tuvo un valor por debajo del 50%, por lo que esta rama no está fuertemente apoyada.

## 2.2 Neighbor joining (NJ)

Con este análisis se obtuvieron tres árboles con la misma topología al utilizar los tres algoritmos diferentes (Figura 4). Los grupos que se forman son parecidos a los obtenidos por el UPGMA, es decir, se distingue el grupo externo (el clado basal), el grupo que incluye a Chiapas y BCS juntos, el grupo de Costa Rica y también el grupo denominado como Centro de México. En este último grupo la topología difiere con respecto al método anterior porque dentro de éste el haplotipo basal al grupo son otros. Al aplicar la prueba estadística “bootstrap”, las ramas que están fuertemente apoyadas son las mismas que las de los árboles del método UPGMA, además del clado que contiene a Costa Rica que en este caso se encuentra apoyado por encima del 50%.

## 2.3 Minimum evolution (ME)

Los tres árboles obtenidos por “evolución mínima” son idénticos entre sí pero difieren del NJ y UPGMA en que los haplotipos de Chiapas son basales para toda la especie *M. formicivorus*, mientras que en NJ y UPGMA esta localidad se une con BCS (Figura 5), aunque esta rama no se sostiene mediante el “bootstrap”. Se pueden reconocer cuatro grupos, uno integrado por el grupo externo, otro formado por los haplotipos de BCS, el tercero integrado por Costa Rica y el último que incluye al grupo denominado Centro de México. Estos grupos grandes se apoyan mediante la prueba “bootstrap” a excepción de éste último. Cabe mencionar que un haplotipo de SM (Jal) aparece como una rama separada inmediatamente después de la rama de Chiapas. Esta secuencia tiene una distancia pequeña respecto de los haplotipos de Chiapas y de BCS a diferencia de las demás secuencias del grupo Centro de México, aunque la distancia con respecto a este grupo es aún menor, por lo que puede suponerse que su ubicación en el árbol puede cambiar ya que tampoco se apoya estadísticamente.

Tabla 2. Tabla de distancias entre los catorce haplotipos que resultaron diferentes de *M. formicivorus* y los nueve del grupo externo. El número entre paréntesis indica el haplotipo asignado en la Tabla 1.

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	
1	SMC (Zac) (2)																								
2	BCN (5)	0.006																							
3	SMR (Hgo) (4)	0.014	0.014																						
4	SM (Jal) (1)	0.003	0.003	0.011																					
5	SMR (Hgo) (7)	0.006	0.006	0.014	0.003																				
6	San José (8)	0.012	0.011	0.020	0.008	0.008																			
7	San José (9)	0.012	0.011	0.020	0.008	0.008	0.006																		
8	San José (10)	0.012	0.011	0.020	0.008	0.008	0.006	0.006																	
9	San José (11)	0.011	0.011	0.017	0.008	0.008	0.006	0.006	0.006																
10	BCS (13)	0.017	0.017	0.026	0.014	0.011	0.014	0.014	0.014	0.014															
11	BCS (14)	0.014	0.014	0.023	0.012	0.011	0.014	0.014	0.014	0.014	0.008														
12	SM (Jal) (6)	0.006	0.006	0.014	0.003	0.006	0.011	0.011	0.011	0.011	0.011	0.008													
13	Chiapas (12)	0.017	0.017	0.026	0.014	0.011	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014	0.011	0.011												
14	SMC (Dgo) (3)	0.009	0.008	0.017	0.006	0.008	0.014	0.014	0.014	0.014	0.020	0.017	0.008	0.017											
15	<i>M. pucherani</i>	0.133	0.130	0.141	0.127	0.126	0.128	0.130	0.130	0.130	0.134	0.134	0.123	0.126	0.128										
16	<i>M. pygmaeus</i>	0.134	0.131	0.141	0.127	0.127	0.132	0.131	0.131	0.130	0.134	0.134	0.124	0.134	0.128	0.079									
17	<i>M. uropygialis</i>	0.149	0.149	0.160	0.146	0.145	0.151	0.149	0.142	0.149	0.153	0.153	0.142	0.145	0.147	0.089	0.069								
18	<i>M. uropygialis</i>	0.145	0.145	0.156	0.141	0.141	0.147	0.145	0.138	0.145	0.149	0.149	0.138	0.141	0.139	0.085	0.065	0.003							
19	<i>M. a. grateloupenis</i>	0.189	0.188	0.193	0.184	0.184	0.186	0.188	0.181	0.184	0.193	0.192	0.181	0.184	0.186	0.128	0.102	0.073	0.069						
20	<i>M. a. grateloupenis</i>	0.174	0.174	0.181	0.170	0.169	0.175	0.174	0.166	0.173	0.178	0.177	0.166	0.169	0.171	0.116	0.087	0.059	0.056	0.011					
21	<i>M. a. grateloupenis</i>	0.171	0.170	0.177	0.166	0.166	0.172	0.170	0.162	0.169	0.174	0.174	0.162	0.166	0.167	0.112	0.084	0.056	0.053	0.014	0.003				
22	<i>M. a. aurifrons</i>	0.173	0.173	0.184	0.169	0.168	0.174	0.173	0.165	0.172	0.176	0.176	0.165	0.168	0.170	0.114	0.085	0.056	0.053	0.014	0.003	0.006			
23	<i>M. a. aurifrons</i>	0.144	0.144	0.155	0.140	0.140	0.145	0.144	0.137	0.144	0.148	0.147	0.137	0.140	0.141	0.085	0.086	0.040	0.037	0.075	0.061	0.058	0.059		

Tabla 3. Matriz de distancias (2 parámetros de Kimura) entre las diferentes localidades de donde se obtuvieron muestras de *Melanerpes formicivorus*. El número entre paréntesis indica los haplotipos diferentes para cada localidad.

		1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	Chiapas (1)									
2	SMR (3)	0.0127								
3	SMC (2)	0.0136	0.0033							
4	SM (3)	0.0111	0.0028	0.0025						
5	EN (1)	0.0121	0.0018	0.0015	0.0011					
6	SMS (1)	0.0121	0.0018	0.0015	0.0011	0				
7	BCN (2)	0.0126	0.0023	0.0021	0.0015	0.0005	0.0005			
8	Costa Rica (4)	0.0099	0.0081	0.0085	0.0079	0.0069	0.0069	0.0074		
9	BCS (2)	0.0084	0.0112	0.0112	0.0087	0.0097	0.0097	0.0102	0.0101	

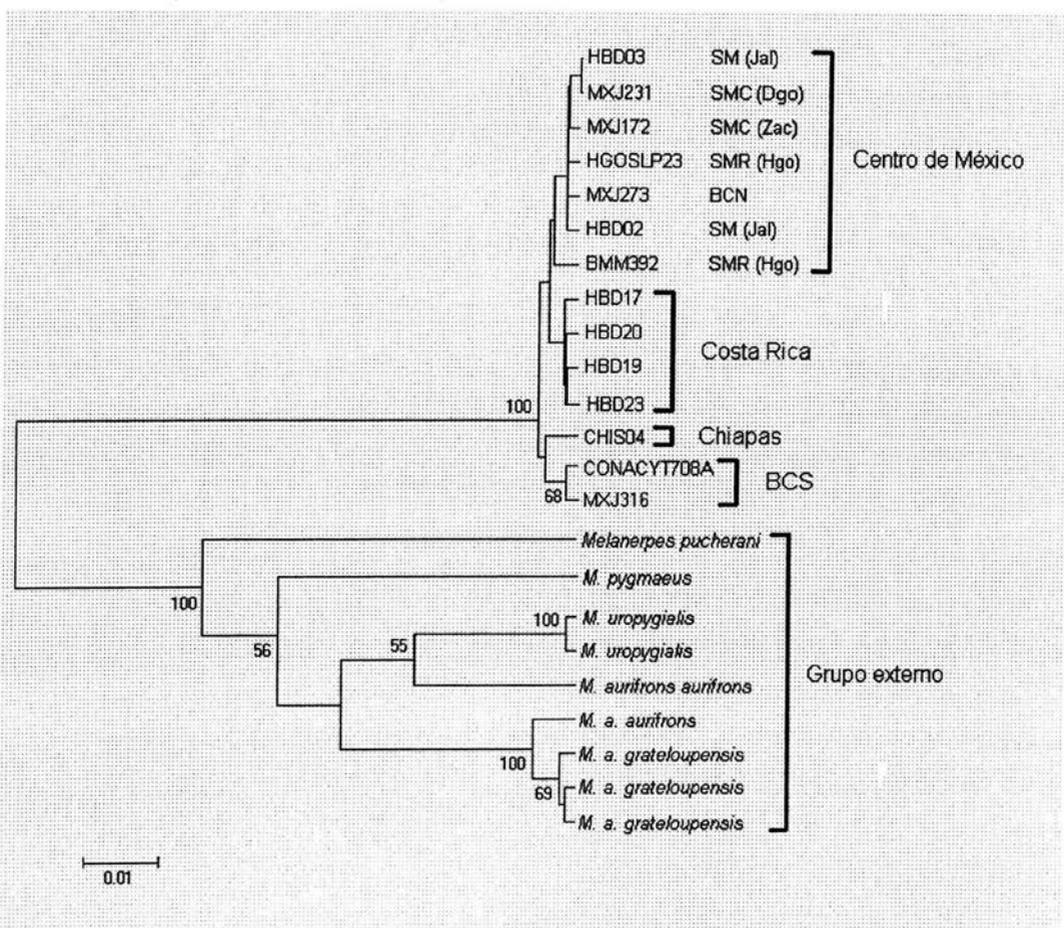


Figura 3. Árbol obtenido mediante el método UPGMA y los tres algoritmos utilizados (2 parámetros de Kimura, Jukes & Cantor y Tamura Nei); todos los árboles resultaron idénticos. Sólo se muestran valores de bootstrap por encima del 50%.

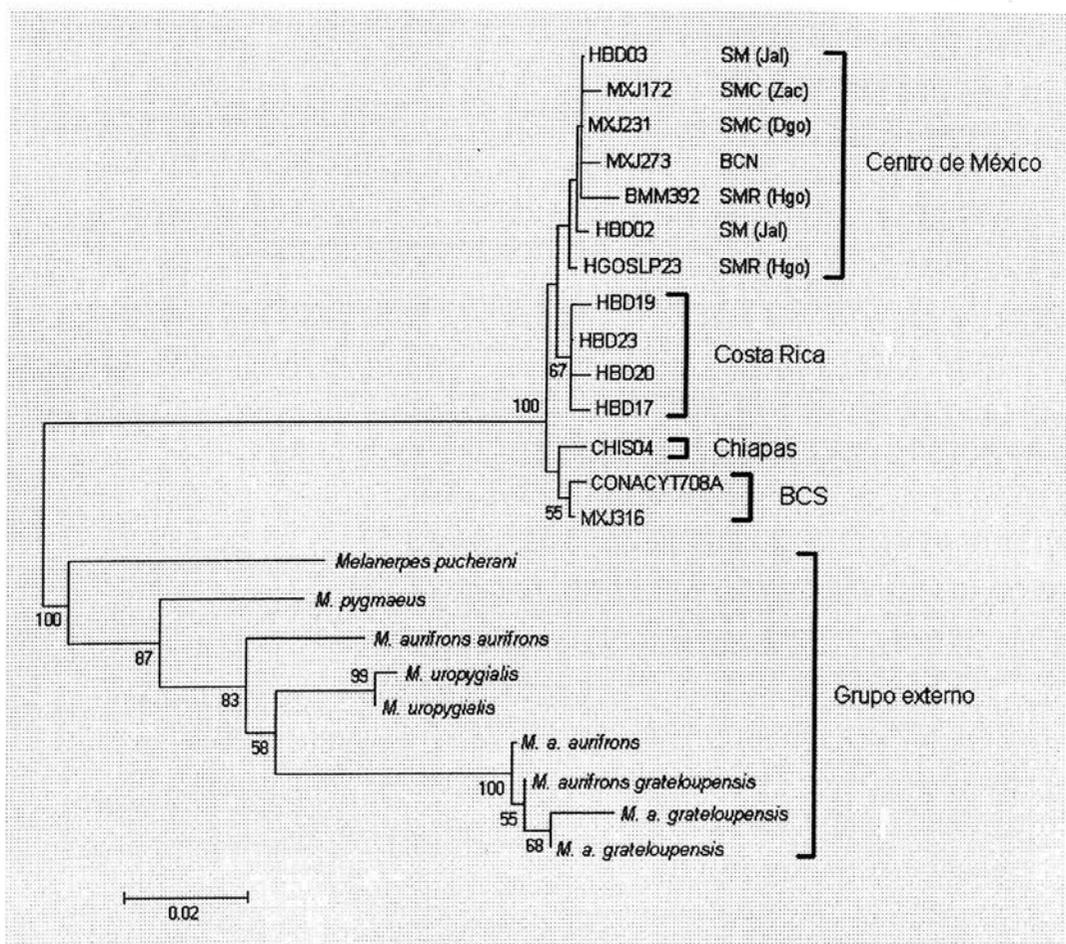


Figura 4. Árbol obtenido mediante el método Neighbor Joining y tres algoritmos utilizados (2 parámetros de Kimura, Jukes & Cantor y Tamura Nei). Los tres árboles resultaron idénticos. Sólo se muestran valores de bootstrap por encima del 50%.

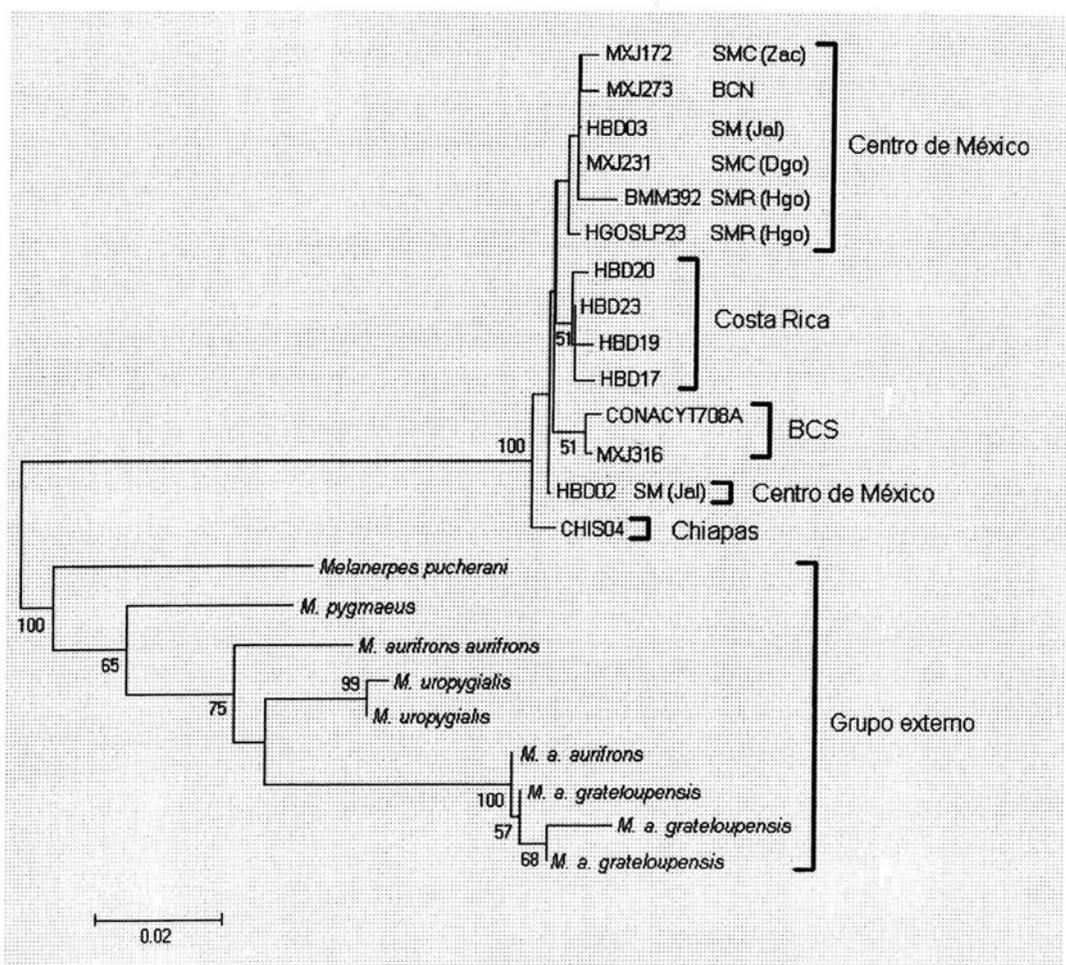
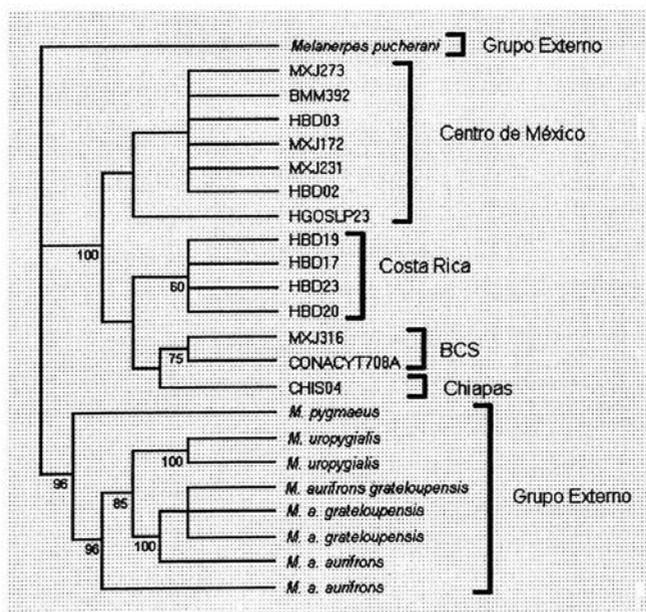


Figura 5. Árbol obtenido mediante el método de Minimum Evolution y tres algoritmos utilizados (2 parámetros de Kimura, Jukes & Cantor y Tamura Nei); todos resultaron idénticos. Sólo se muestran valores de "bootstrap" por encima del 50%.

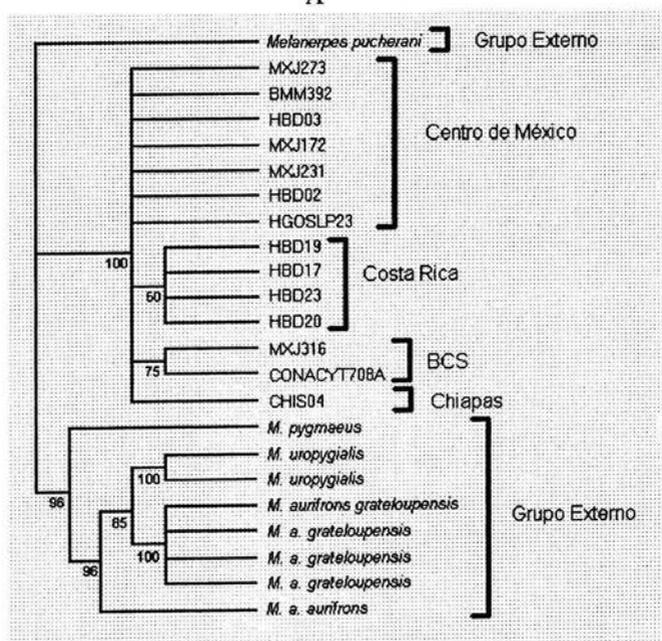
### 3. Análisis de parsimonia

Del análisis heurístico de parsimonia realizado con PAUP, se obtuvieron 28 igualmente parsimoniosos muy poco variables entre sí. Se presenta únicamente un árbol que tuvo una longitud de 119 pasos, con un índice de consistencia (CI) de 0.8235, un índice de homoplasia (HI) de 0.1765 y el índice de retención fue de 0.9418 (Figura 6). En este árbol se observa una agrupación muy similar a los árboles de distancia. Se presenta el grupo externo completamente separado de *M. formicivorus*, excepto *M. pucherani* que se presenta al mismo nivel que éste último y aparte del resto del grupo externo. Después se puede apreciar todo el grupo de *M. formicivorus* que se separa en tres ramas: una que incluye a las localidades de Chiapas y BCS juntas, otra que solamente incluye los cuatro haplotipos de Costa Rica y el último que reúne a los seis haplotipos de Centro de México. En este último clado se observa que un haplotipo de SM (Jal) se separa del resto, aunque este clado no se apoya mediante el "bootstrap". En el árbol obtenido mediante ME este mismo haplotipo también se apoyó de manera similar.

Al considerar el valor de la prueba estadística, se notan varias ramas fuertemente apoyadas como la que soporta a toda la especie *M. formicivorus*, la que sostiene al grupo externo (excepto *M. pucherani*), la que separa a Costa Rica y BCS del resto de los haplotipos y las que soportan a las diferentes especies dentro del grupo externo, como *M. uropygialis*, *M. aurifrons* y *M. grateloupensis*. Las ramas apoyadas se pueden apreciar mejor en el árbol de consenso estricto presente en la figura 6. Al compararse este árbol con el descrito previamente, se aprecia que su topología es muy similar.



A



B

Figura 6. Árboles de parsimonia obtenidos para los catorce haplotipos diferentes de *Melanerpes formicivorus* y los nueve obtenidos para el grupo externo. Se presenta uno de los 28 resultantes (A) y el árbol consenso (B). Se muestran los valores estadísticos de la prueba "bootstrap" obtenidos por arriba del 50%.

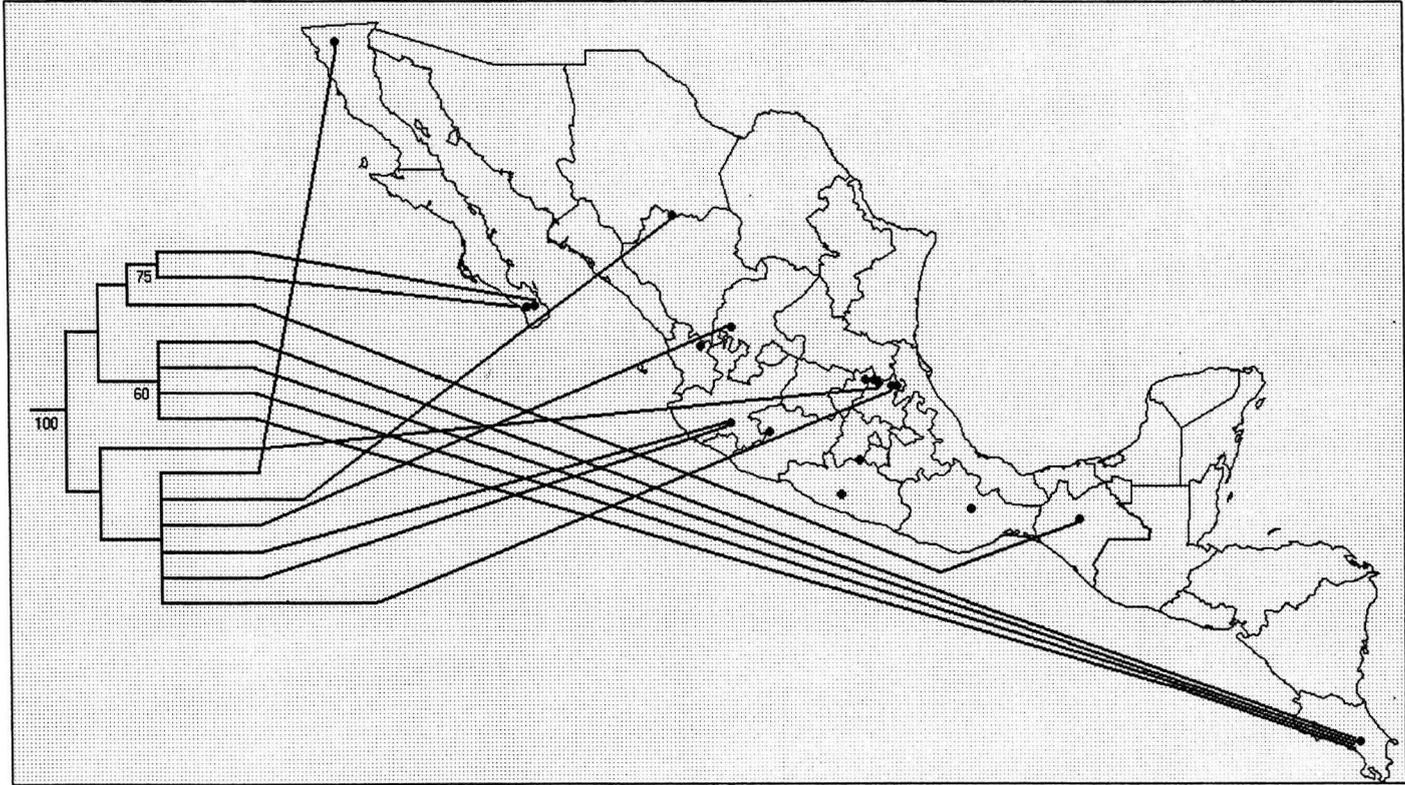


Figura 7. Árbol de parsimonia escogido de los 28 resultantes comparado con la distribución de las localidades de donde se obtuvieron las muestras. Las localidades que no presentan clados tuvieron haplotipos iguales a uno de los representados para el estado de Jalisco. Incluidas los otros cinco haplotipos obtenidos para BCN, como se muestra en la Tabla 1.

## DISCUSIÓN

### Árboles de distancia

De los árboles de distancia obtenidos se observa que los individuos que se utilizaron como grupos externos se agruparon formando una unidad aparte de *Melanerpes formicivorus*, es decir, ésta especie se puede considerar como un grupo consistente de acuerdo a la distancia genética del gen.

De la unidad formada por los grupos externos (Figura 3, 4 y 5) es importante resaltar que todos los individuos pertenecientes a *M. aurifrons grateloupensis* quedan unidos en la misma rama junto con uno de los haplotipos de *M. a. aurifrons*; esta rama se une con los dos individuos de *M. uropygialis* y a esta rama se une el segundo haplotipo de *M. a. aurifrons*. Es decir, ambos haplotipos de *M. a. aurifrons* quedan separados. *M. pygmaeus* conforma otro grupo muy cercano a la especie basal que es *M. pucherani*, y la topología de los árboles está fuertemente apoyada según las pruebas de "bootstrap" que alcanzan valores por arriba del 50%. La unión de este gran grupo formado por todos los grupos externos propuestos se puede asumir que la secuencia parcial de ND2 es muy útil para esclarecer las relaciones de distancia entre las diferentes especies del género *Melanerpes*. Es importante resaltar que en todos los árboles de distancia el grupo más cercano a *M. formicivorus* es *M. pucherani*, lo que podría sugerirnos que se trata del grupo hermano.

En la unidad formada por todos los haplotipos de *M. formicivorus* para todos los árboles se distinguen claramente cuatro grupos que coinciden con la distribución geográfica de algunos de los grupos propuestos por Benítez-Díaz (1993): uno formado por los individuos que se distribuyen en Baja California Sur (*M. f. angustifrons*), otro que contiene los que se distribuyen en Chiapas (*M. f. lineatus*) que generalmente se encuentra unido al primero, el tercero formado por los que se distribuyen en Costa Rica (*M. f. striatipectus*) y los que conforman el grupo Centro de México que tienen distribución en Baja California Norte (*M. f. bairdi*) y los estados del centro de México (*M. f. formicivorus*) (Figura 3 y 4).

El grupo formado por los individuos provenientes de Costa Rica se ve apoyado mediante la prueba estadística "bootstrap" tanto en NJ como en ME (Figuras 4 y 5, respectivamente), mientras que en UPGMA esto no sucede. A pesar de esto, por la distribución general de *M. formicivorus* se esperaría que los individuos de *M. f. lineatus* formen una unidad aparte porque se encuentran aislados geográficamente. Esto apoya lo propuesto por varios autores, como se

Tabla 4. Se muestran las diferentes subespecies para *Melanerpes formicivorus* que han propuesto varios autores a lo largo de la historia y las obtenidas por este estudio. El asterisco indica falta de información debido a la falta de muestras.

Ridgway (1914)	Peters (1948)	Miller <i>et al.</i> (1957)	Benítez (1993)	Esta Tesis
	<i>M.f. lineatus</i>	<i>M.f. lineatus</i>	<i>M.f. lineatus</i>	<i>M. f. lineatus</i>
<i>M. f. formicivorus</i>	<i>M. f. formicivorus</i>	<i>M. f. formicivorus</i>	<i>M. f. formicivorus</i>	<i>M. f. formicivorus</i>
<i>M. f. aculeatus</i>				
<i>M. f. bairdi</i>	<i>M. f. bairdi</i>	<i>M. f. bairdi</i>	<i>M. f. bairdi</i>	
	<i>M. f. martirensis</i>	<i>M. f. martirensis</i>		
<i>M. f. angustifrons</i>	<i>M. f. angustifrons</i>	<i>M. f. angustifrons</i>	<i>M. f. angustifrons</i>	<i>M. f. angustifrons</i>
<i>M. f. albeolus</i>	<i>M. f. albeolus</i>	<i>M. f. albeolus</i>	<i>M. f. albeolus</i>	*
<i>M. f. striatipectus</i>	<i>M. f. striatipectus</i>	<i>M. f. striatipectus</i>	<i>M. f. striatipectus</i>	<i>M. f. striatipectus</i>
<i>M. f. flavigula</i>	<i>M. f. flavigula</i>	<i>M. f. flavigula</i>	<i>M. f. flavigula</i>	*

observa en la Tabla 4 (Ridgway 1914, Peters 1948, Miller *et al.* 1957, Benítez-Díaz 1993). Es importante notar que en todas las topologías este grupo siempre aparece como el más cercano al grupo *M. f. formicivorus*

Los haplotipos que provienen de individuos que se distribuyen en Baja California Sur conforman una unidad aparte que coincide con *M. f. angustifrons*, lo que apoya a Ridgway (1914), Peters (1957) y Benítez-Díaz (1993) en los tres juegos de árboles de distancia que se obtuvieron (Figuras 3, 4 y 5). Esto podría apoyar lo propuesto por Navarro y Peterson (en revisión) que define a *M. f. angustifrons* como una especie diferente de *M. formicivorus*. Este grupo solamente en el UPGMA (Figura 3) y el NJ (Figura 4) se une con el grupo *M. f. lineatus*, mientras que esto no sucede en el ME (Figura 5). En las tres figuras (3, 4 y 5) se observa que el grupo *M. f. angustifrons* está fuertemente apoyada por la prueba estadística “bootstrap”, mientras que la unión con *M. f. lineatus* no está apoyada, lo que sugiere que *lineatus* podría cambiar de lugar como lo hace en el árbol de ME y que en realidad los datos no son suficientes para proponer un grupo mayor formado por *M. f. angustifrons* y *M. f. lineatus*.

Otro grupo que se distingue en todos los árboles, es el de Chiapas que coincide con la subespecie *M. f. lineatus* y aunque las pruebas estadísticas de “bootstrap” no apoyan la separación de esta rama, en la matriz de distancias (Tabla 2) se aprecia una distancia mayor entre este grupo y el grupo *formicivorus*, por lo que al parecer existe una separación entre *M. f. formicivorus* y *M. f. lineatus* como se dijo que ocurre a nivel morfológico, según lo propuesto por Peters (1948) seguido de Miller *et al.* (1957) y lo más recientemente encontrado por Benítez-Díaz (1993).

Es importante observar que este estudio no apoya en su totalidad la hipótesis de Peters (1948), Miller *et al.* (1957) ni Benítez-Díaz (1993) que afirman que se puede distinguir tanto geográfica como morfológicamente al grupo *M. f. formicivorus*. Este grupo es interesante, ya que presenta la mayor área de distribución geográfica de la especie en la que se encontró cierto grado de variación, como se esperaba, ya que de 22 individuos resultaron en siete haplotipos en total. Hubo tal grado de variación, que ninguno de los análisis de distancia pudo agruparlo en una sola rama definida para esta población con este tipo de marcador molecular (ND2). Benítez-Díaz (1993) encontró que la morfología del grupo *formicivorus* varía de acuerdo con clinas latitudinales, lo que resulta que los individuos del norte de México (que Ridgway denominó *aculeatus*) sean ligeramente diferentes de los del sur (*formicivorus*); esto se asemeja a lo que se encontró en este estudio respecto a la gran cantidad de variación genética dentro de este grupo. Con base en los resultados obtenidos, no se puede confirmar la presencia del grupo *M. f. aculeatus* debido a que no se obtuvieron muestras procedentes de Arizona y Texas como para hacer una comparación y tampoco puede confirmarse la clina morfológica propuesta por Benítez-Díaz (1993).

Además, a diferencia de Benítez-Díaz (1993) y el resto de los autores, en este estudio no se observa la separación de los individuos de Baja California Norte, *M. f. bairdi*, del grupo *M. f. formicivorus*. Cabe aclarar que en este estudio no se incluyeron individuos de California (E.U.) lo que puede ser una posible explicación al respecto, ya que una vez que se puedan incluir estas muestras se esperaría que los haplotipos de Baja California Norte se agrupen con los de California (E. U.) y conformen al grupo *bairdi* y pueda distinguirse también (si es que existe) el grupo *martirensis* que es el que se encuentra en Baja California Norte.

De la misma forma en que se separaron los grupos *angustifrons* y *lineatus*, se esperaría que los haplotipos provenientes de Colombia sean distintos a los de Costa Rica (que es la

población más cercana) y al resto de *M. formicivorus*, debido al aislamiento geográfico y conformar el grupo *M. f. flavigula* (Ridgway 1914, Peters 1948, Miller *et al.* 1957, Benítez 1993). Desafortunadamente no se tuvo acceso a las muestras de Colombia. Lo mismo ocurrió con la población de Belice, *M. f. albeolus* la cual también se esperaría fuera un grupo diferente del resto debido al aislamiento, aunque morfológicamente sea muy similar a *M. f. lineatus*.

Los resultados de los análisis realizados no apoyan la hipótesis de Short (1982) quien plantea que dentro de *M. formicivorus* no existe suficiente variación como para distinguir diversos grupos y que por lo tanto debe de ser considerada como una sola especie.

Asimismo, de acuerdo con los árboles de distancia obtenidos, no se pueden distinguir las siete unidades que Benítez-Díaz (1993) apoya con datos métricos, sino que de acuerdo a los haplotipos encontrados solamente podemos distinguir tres grupos como antes se menciona (tomando en cuenta que solamente se utilizaron cinco de las siete unidades propuestas por Benítez-Díaz 1993).

### Árboles de parsimonia

Los árboles de parsimonia obtenidos apoyan fuertemente lo encontrado en los árboles de distancia, aunque en estos análisis se observan tres clados generales en vez de dos, uno formado por todos los grupos externos, con excepción de *Melanerpes pucherani* que conforma un segundo clado aparte. El tercer clado está formado por todos los haplotipos encontrados en *M. formicivorus*. Si se observa el cladograma (Figura 6) las relaciones del grupo externo están fuertemente apoyadas por la prueba estadística "bootstrap" y se resuelven de manera similar a las relaciones de distancia obtenidas previamente. Además, la posición de este grupo dentro su clado permanece casi sin variación tanto en los árboles de distancia como en el de parsimonia; por ejemplo, *M. pygmaeus* siempre aparece basal al grupo externo (si se coloca a *M. pucherani* en otro grupo aparte). Por esto se puede asumir una vez más que a nivel genérico la porción secuenciada del gen mitocondrial ND2 es una herramienta útil para resolver la filogenia a este nivel.

En cuanto a la ubicación no definida de *M. pucherani* con respecto a *M. formicivorus* y al resto de las especies del grupo externo (Figura 6), se puede decir que se debe a que únicamente se contó con un solo individuo y que si se obtuvieran muestras de más individuos de esta especie, tal vez podría encontrarse cierta resolución en cuanto a sus relaciones con estas especies de

*Melanerpes*. Cabe destacar que en *M. aurifrons* se identificaron dos haplotipos diferentes que se ubican en clados diferentes separados por la especie *M. uropygialis*. Esto sugiere que dentro de la especie puede haber haplotipos muy diferentes entre sí que pueden corresponder a subespecies tan distintas que podrían ser especies diferentes no reconocidas debido a los problemas taxonómicos en este grupo.

Cuando uno define el grupo externo en el programa PAUP\* (Swofford 1999), la monofilia del grupo interno se da automáticamente, pero esto sucede cuando solamente se cuenta con un solo grupo externo, en este caso se utilizaron cuatro especies. Con el fin de probar la monofilia de *M. formicivorus*, las cuatro especies del grupo externo (*M. pucherani*, *M. pygmaeus*, *M. uropygialis* y *M. aurifrons*) se seleccionaron como grupo externo funcional una por una independientemente y no en conjunto como se realizó en los análisis de parsimonia. En los cuatro árboles obtenidos, el clado de *M. formicivorus* siempre se unifica como uno solo e independiente del resto y se encuentra apoyado por un 100% de las réplicas de la prueba "bootstrap". Además cuando se realizaron los análisis del grupo externo funcional una por una, en todos los casos se determinó a *M. pucherani* como el grupo hermano, como se había sugerido en los resultados de los análisis de distancia.

En el caso de *M. formicivorus* se detectaron catorce haplotipos diferentes al secuenciarse un total de 49 individuos. Esto muestra una gran variación genética producto, posiblemente, de una historia de divergencia parecida a la que se observa a nivel genérico, es decir, cuando *M. formicivorus* se separa como una unidad de historia independiente, empieza un proceso de divergencia muy rápido o al mismo nivel que todo el género *Melanerpes*. De acuerdo al árbol obtenido (Figura 6), observamos que el clado formado por todos los individuos de *M. formicivorus* está fuertemente apoyado por la prueba estadística "bootstrap" (100%), lo que sugiere que se trata de un clado natural. Dentro de este clado se observan los mismos cuatro grupos obtenidos en los árboles de distancia: *M. f. angustifrons* (con un valor "bootstrap" de 75%), unido a *M. f. lineatus*, *M. f. striatipectus* ("bootstrap" de 60%) y el grupo Centro de México formado por los individuos de *M. f. formicivorus* y *M. f. bairdi*. Los grupos cuyo valor estadístico fue menor al 50% de las réplicas, no tienen una posición definida en el árbol y pueden cambiar sus posiciones o resoluciones en el árbol.

### Consideraciones filogeográficas

De acuerdo a los resultados obtenidos, tanto en los árboles de distancia como en los de parsimonia, se determinó que los individuos o los haplotipos que conforman a la especie *M. formicivorus* son un grupo natural que ha divergido al mismo tiempo que lo hizo el género. Al sobreponer el árbol de parsimonia (sin incluir al grupo externo) sobre la distribución geográfica de la especie (Figura 7) se reconocen cuatro unidades de historia. Al observar el patrón de variación genética, de los árboles de distancia y de parsimonia, y compararla con la distribución geográfica de los distintos grupos que conforman *M. formicivorus*, se identifica el patrón filogeográfico de la categoría V (Avice 2000) que consta de linajes comunes con amplia distribución (*M. f. formicivorus* y *M. f. bairdi*) y de linajes relacionados con distribución restringida confinados a uno o más locales cercanos (*M. f. angustifrons*, *M. f. lineatus* y *M. f. striatipectus*).

Una unidad de historia es la formada por los individuos que geográficamente se encuentran en Chiapas y que conforman a la subespecie *M. f. lineatus*. Aún cuando se secuenciaron dos individuos solamente se reconoció un solo haplotipo único, lo que sugiere que esta población está evolucionando conjuntamente conformando una unidad de historia independiente, sin presentar flujo génico con las poblaciones aledañas. Por lo tanto podría considerarse como una especie aparte. El patrón morfológico hallado por Benítez-Díaz (1993) muestra cierta diferenciación principalmente en las rayas gruesas y motas rojas del pecho que agrupan a toda la población de Centroamérica (excepto Belice y Costa Rica), lo que sirve de apoyo para ubicar a *M. f. lineatus* como una unidad de historia independiente teniendo como barrera geográfica el Istmo de Tehuantepec. El único autor que no apoya la existencia de *M. f. lineatus* es Ridgway (1914), que la coloca como parte de *M. f. formicivorus*.

En el caso de *M. f. angustifrons* se puede reconocer como una unidad de historia y biogeográfica distinta de todos los demás individuos que conforman la especie *M. formicivorus*. Esta población que biogeográficamente es la más aislada, ha alcanzado una divergencia genética muy marcada reconociéndose dos haplotipos diferentes para 11 individuos secuenciados (Figura 7) que no se presentan en otra población, lo que sugiere que no hay evidencia de flujo génico con la población del norte de Baja California ni con las del continente. Esta divergencia también se aprecia a nivel morfológico (tamaño general más pequeño y alas más cortas) según lo obtenido por Benítez-Díaz (1993) y está apoyada por el hecho de que es el único grupo que presenta iris

color café y no blanco, como el resto. Este resultado confirma lo propuesto por otros autores (Ridgway 1914, Peters 1948, Miller *et al.* 1957) lo que sugiere que pudo haber sido una de las primeras poblaciones que se separaron y que se ha mantenido aislada de las demás. Además, el análisis de parsimonia lo relaciona más con *M. f. lineatus* y con *M. f. striatipectus* por lo que se apoya la hipótesis de que se encuentra más relacionada con las poblaciones del continente que con la de BCN y que la invasión a la Península de Baja California se dio cuando se encontraba unida al continente (Benítez Díaz 1990).

Con respecto a *M. f. striatipectus*, que incluye a los individuos de Costa Rica, se observa que ya conforman una unidad de historia reciente ya que de un total de diez individuos se reconocen cuatro haplotipos, y, aunque existe divergencia, se unen por una serie de caracteres que conforman el clado (Figura 7). Esto, aunado a una evidente ausencia de flujo génico, sugiere que posiblemente se trate de una especie diferente, ya que es una población que ha estado lo suficientemente aislada (se encuentra en las tierras altas de la cordillera central de ese país) para tener un camino evolutivo independiente de las demás poblaciones de *M. formicivorus*. Esto se encuentra apoyado también por el patrón de coloración que en esta localidad se distinguen como garganta muy amarilla y espalda de tonalidad marcadamente azul (Benítez Díaz 1990). Además, tanto en este grupo como en *M. f. lineatus* las poblaciones no construyen almacenes de bellotas como en las poblaciones del norte (BCN y norte y centro de México) lo que contribuye a pensar en un aislamiento prolongado en estas dos subespecies.

En los 22 individuos de *M. f. formicivorus* (que se distribuye desde el sur de Arizona y Texas al sur a través de las sierras y en el centro de México, hasta Oaxaca) que se secuenciaron se obtuvieron siete haplotipos diferentes que en los análisis se agrupan con uno de los dos haplotipos de la subespecie *M. f. bairdi* (seis individuos) aunque este clado no está fuertemente apoyado por el "bootstrap". Con estos grupos la historia es más complicada y aún con este estudio no está resuelta. Se obtuvo cierto grado de diversidad nucleotídica en el grupo *M. f. formicivorus* pero no hubo un patrón que diferenciara varios grupos (por ejemplo, uno en cada sierra). Esto mismo le sucedió a Benítez Díaz (1990) con la morfología, encontró mucha variación pero sin poder hacer agrupaciones claras, por lo que se propuso a esta subespecie como una sola unidad. En cuanto a *M. f. bairdi* se reconocieron dos haplotipos diferentes, pero uno (presente en cinco individuos) fue idéntico a uno de los siete de *M. f. formicivorus* (Tabla 1). Esto sugiere que algunos individuos de la población y de la subespecie *M. f. bairdi*, se han mantenido

con el mismo haplotipo que les dio lugar (*M. f. formicivorus*) o que posiblemente haya eventos de flujo génico actual entre las poblaciones. Mientras que otros individuos de la misma población han divergido y posiblemente se relacionen más cercanamente con los individuos que se encuentran en California (Estados Unidos), aunque esta hipótesis tiene que confirmarse. Esto sugiere que la parte norte de Baja California tuvo una historia diferente por un lado, a la de Baja California Sur, y por otro lado, al resto del país. El resultado obtenido del análisis molecular difiere del de Benítez Díaz (1990) ya que él encontró que el grupo *M. f. bairdi* es morfológicamente distinguible por ser más grande y por su patrón de coloración y lo propone como un grupo natural. En este grupo se encuentra como una unidad junto con *M. f. formicivorus* y no se caracteriza genéticamente. Este grupo se encuentra aislado del resto por el desierto del Río Colorado y el desierto de Baja California por lo que pueda suceder que sea incipiente cierto fenómeno de diferenciación genética con respecto al resto. Lo anterior podría sugerir que actualmente se esté llevando a cabo un proceso de especiación en esta población.

Por último, según lo sugerido por Benítez-Díaz (1993) que se pueden reconocer siete unidades morfológicamente distintas, con este estudio solamente se apoya la existencia de cuatro unidades de historia (*M. f. formicivorus*, *M. f. striatipectus*, *M. f. angustifrons* y *M. f. lineatus*) esto se debió a que no se secuenciaron individuos de la subespecie *M. f. albeolus* (Belice), ni de *M. f. flavigula* (Colombia) porque no se tuvo acceso a muestras de estas poblaciones.

## CONCLUSIONES

- De las secuencias obtenidas del gen mitocondrial ND2 se concluye que este gen es una herramienta muy útil para resolver las relaciones tanto a nivel genérico como a nivel específico en el caso de la familia Picidae, por lo que se recomienda el uso de este marcador molecular para estudios similares.
- La topología obtenida en los análisis de distancia y de parsimonia son muy similares, lo que sugiere que la distancia está íntimamente relacionada con los eventos de historia que se llevan a cabo para esta especie.
- En este estudio se reconocen tres clados mayores, uno formado por *M. pucherani*, otro por las demás especies consideradas como grupo externo (*M. grateloupensis*, *M. aurifrons*, *M. uropygialis* y *M. pygmaeus*) y el formado por la especie *M. formicivorus*.
- Del clado formado por el grupo externo, la especie basal es *M. pygmaeus*, seguido por un haplotipo de *M. aurifrons*, mientras que el otro haplotipo de *M. aurifrons* se une con *M. grateloupensis*. Otro clado lo conforma *M. uropygialis*. El grupo externo queda claramente definido, a excepción de *M. pucherani*, que forma otro clado.
- De acuerdo a los resultados obtenidos se define a *M. formicivorus* como un grupo natural, siendo su grupo hermano *M. pucherani*.
- Dentro del grupo *M. formicivorus* se reconocen cuatro unidades de historia *M. f. formicivorus*-*M. f. bairdi*, *M. f. striatipectus*, *M. f. angustifrons* y *M. f. lineatus*.
- Se recomienda el uso de otro marcador molecular más conservado, como el gen mitocondrial del citocromo *b* para confirmar lo hallado en este estudio y al mismo tiempo resolver las relaciones entre las unidades de historia de *M. formicivorus* así como definir los grupos de *M. f. formicivorus* y *M. f. bairdi*.

**FALTAN  
PAGINAS  
37-38**

Apéndice 3. Secuencias completas para los 14 haplotipos obtenidos de *Melanerpes formicivorus* y los 9 del grupo externo. Únicamente se presentan los números de catálogo de los haplotipos. Para consultar la especie y localidad correspondiente, referirse a Apéndice 1 y 2.

MXJ172	ATC	CCC	TTG	CAA	AAC	TAA	TCA	CTC	TAA	CAA	GCC	TCG	CCA	TTG	GAA	CCA	CCA	TCA	CAA	TCT	CAA	GCA	ACC	ACT	GAG	CAA	
MXJ273	...	...	A..	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
BMM392	...	...	A..	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
HBD03	...	...	A..	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
HGOSLP23	.A.	...	A..	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
HBD19	.C.	...	A..	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
HBD17	.C.	...	A..	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
HBD20	.C.	...	A..	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
HBD23	.C.	...	A..	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
CONACYT708A	.A.	...	A..	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
MXJ316	...	...	A..	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
HBD02	...	...	A..	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
CHIS04	.AT	...	A..	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
MXJ231	...	...	A..	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
CHIMA68	.C.	...	A..	...	.T	...	.G.	.A.	...	...	...	...	.C	...	...	...	.T	...	...	.T	...	...	...	...	...	...	
CONACYT109	.C.	.GT	A..	...	.T	...	...	.AT	...	...	...	...	.C	...	...	...	.T	...	...	.T	...	...	...	...	...	...	
CONACYT212	.C.	.GT	A..	...	.T	...	...	.A.	...	...	...	...	.T	...	.C	.C.	.T	...	...	.T	...	...	...	...	...	.G.	
MEX185	.C.	.GT	A..	...	.T	...	...	.A.	...	...	...	...	.T	...	.C	.C.	.T	...	...	.T	...	...	...	...	...	...	
CONACYT9936	.C.	.AT	AC.	...	.T	.G.	.T.	.A.	...	...	...	...	.T	...	.C	.A.	.T	...	...	.T	...	...	...	...	...	...	
CHIMA506	.C.	.AT	AC.	...	.T	.G.	.T.	.A.	...	...	...	...	.T	...	.C	.A.	.T	...	...	.T	...	...	...	...	...	...	
QRO081	.C.	.AT	AC.	...	.T	.G.	.T.	.A.	...	...	...	...	.T	...	.C	.A.	.T	...	...	.T	...	...	...	...	...	...	
MEX095	.C.	.AT	AC.	...	.T	.G.	.T.	.A.	...	...	...	...	.T	...	.C	.A.	.T	...	...	.T	...	...	...	...	...	...	
QRO412	.C.	.AT	A..	...	.T	...	...	.A.	...	...	...	...	.T	...	.C	.A.	.T	...	...	.T	...	...	...	...	...	...	
MXJ172	TAG	CTT	GAA	CTG	GCT	TAG	AAA	TCA	ACA	CCA	TCG	CCA	TCA	TCC	CCA	TAA	TCT	CAA	AAT	CCC	ACC	ACC	CAC	GAG	CTA	TTG	
MXJ273	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
BMM392	..C	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
HBD03	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
HGOSLP23	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
HBD19	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
HBD17	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
HBD20	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
HBD23	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
CONACYT708A	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
MXJ316	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
HBD02	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
CHIS04	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
MXJ231	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
CHIMA68	...	.C.	...	...	.C	...	...	...	...	.T.	.T.	...	.T.	...	...	...	...	...	...	.C	...	...	...	...	.C.	...	
CONACYT109	...	.C.	...	.C.	.C	...	...	...	...	...	.T.	.T.	...	...	...	...	...	...	...	.C	...	...	.T.	...	.C.	.C.	
CONACYT212	...	.C.	...	.C.	.C	...	...	...	...	...	.T.	.T.	...	...	...	...	...	...	...	.C	...	...	...	...	.C.	.C.	
MEX185	...	.C.	...	.C.	.C	...	...	...	...	...	.T.	.T.	...	...	...	...	...	...	...	.C	...	...	...	...	.C.	.C.	
CONACYT9936	...	TC.	...	...	.C	...	...	...	...	...	.T.	.T.	...	...	...	...	...	...	...	.C	...	...	.T.	.G.	...	.C.	.CT
CHIMA506	...	TC.	...	...	.C	...	...	...	...	...	.T.	.T.	...	...	...	...	...	...	...	.C	...	...	.T.	.G.	...	.C.	.C.
QRO081	...	TC.	...	...	.C	...	...	...	...	...	.T.	.T.	...	...	...	...	...	...	...	.C	...	...	.T.	.G.	...	.C.	.C.
MEX095	...	TC.	...	...	.C	...	...	...	...	...	.T.	.T.	...	...	...	...	...	...	...	.C	...	...	.T.	.G.	...	.C.	.C.
QRO412	...	.C.	...	.C.	.C	...	...	...	...	...	.T.	.T.	...	...	...	...	...	...	...	.C	...	...	.T.	.G.	...	.C.	.C.
MXJ172	AAG	CCA	CAA	TCA	AAT	ATT	TTT	TAG	TCC	AAG	CAG	CCG	CCT	CCG	CCT	CCA	TCC	TAT	TCT	CAA	GCA	TAA	TTA	ACG	CTT	GAA	
MXJ273	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	..A	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
BMM392	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
HBD03	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
HGOSLP23	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
HBD19	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
HBD17	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
HBD20	...	...	...	...	...	..C.	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
HBD23	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
CONACYT708A	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	



FALTA

PAGINA

41

## LITERATURA CITADA

- American Ornithologist's Union. 1998. Check-list of North American Birds. AOU, USA.
- Arnaiz-Villena, A., Guillén, J., Ruiz-del-Valle, V., Lowy, E., Zamora, J., Varela, P., Stefani, D., y L.M. Allende. 2001. Phylogeography of crossbills, bullfinches, grosbeaks, and rosefinches. *Cellular and Molecular Life Sciences* **58**: 1159-1166.
- Avise, J.C. 2000. Phylogeography. The history and formation of species. Harvard University Press, Cambridge. 340 pp.
- Baker, A.J., Persma, T. y L. Rosenmeier. 1994. Unraveling the intraspecific phylogeography of knots *Calidris canutus*: a progress report on the search of genetic markers. *Journal fur Ornithologie* **135**: 599-608.
- Ball, R.M.Jr., Freeman, S., James, F.C., Bermingham, E. y J.C. Avise. 1988. Phylogeographic population structure of red-winged blackbirds assessed by mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* **85**: 1558-1562.
- Barrowclough, G.F., Gutiérrez, R.J. y J.G. Groth. 1999. Phylogeography of spotted owl (*Strix occidentalis*) populations based on mitochondrial DNA sequences: gene flow, genetic structure and a novel biogeographic pattern. *Evolution* **53**(3): 919-931.
- Benítez Díaz, H. 1990. Variación geográfica del carpintero arlequín *Melanerpes formicivorus* (Aves: Picidae). Tesis de licenciatura. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, División de Ciencias y Humanidades, Escuela de Biología.
- Benítez-Díaz, H. 1993. Geographic variation in coloration and morphology of the acorn woodpecker. *The Condor* **95**: 63-71.
- Bensch, S. y D. Hasselquist. 1999. Phylogeographic population structure of great reed warblers: an analysis of mtDNA control region sequences. *Biological Journal of the Linnean Society* **66**: 171-185.
- DeFilippis, V.R. y W.S. Moore. 2000. Resolution of Phylogenetic Relationships among Recently Evolved Species as a Function of Amount of DNA Sequence: An Empirical Study Based on Woodpeckers (Aves: Picidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **16**(1): 143-160.
- Degnan, S.M. y C. Moritz. 1992. Phylogeography of mitochondrial DNA in two species of white-eyes in Australia. *The Auk* **109**(4): 800.
- Desjardins P, Morais R. 1990. Sequence and gene organization of the chicken mitochondrial genome: a novel gene order in higher vertebrates. *Journal of Molecular Biology* **212**: 599-634.
- Du Plessis, M.A., Weathers, W.W. y W.D. Koenig. 1994. Energetic benefits of communal roosting by acorn woodpeckers during the nonbreeding season. *The Condor* **96**(3): 631-637.
- Ehrlich, P.R., Dobkin, D.S. y D. Wheye. 1988. The Birder's handbook. A field guide to the Natural History of North American Birds. Simon & Schuster Inc., USA.

- Futuyma, D. J. 1998. *Evolutionary Biology*. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Haydock, J. y W.D. Koenig. 2002. Reproductive skew in the polygynandrous Acorn Woodpecker. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99(10): 7178-7183
- Hooge, P.N., Stanback, M.T. y W.D. Koenig. 1999. Nest-site selection in the Acorn Woodpecker. *The Auk* 116(1): 45-54.
- Howell, S.N.G. y S. Webb. 1995. *A guide to the birds of Mexico and Northern Central America*. Oxford Univ. Press. USA.
- Hughes, J.M., Baker, A.M., De Zylva, G. y P.B. Mather. 2001. A phylogeographic analysis of southern and eastern populations of the Australian magpie: evidence for selection in maintenance of the distribution of two plumage morphs. *Biological Journal of the Linnean Society* 74: 25-34.
- Ibáñez-Hernández, P.G. 2000. Variación geográfica de las poblaciones del turco real (*Momotus momota*), Momotidae, Aves. Tesis de Maestría en Ciencias, Facultad de Ciencias, UNAM.
- Kirchman, J.J., Whittingham, L.A. y F.H. Sheldon. 2000. Relationships among Cave Swallow Populations (*Petrochelidon fulva*) Determined by Comparisons of Microsatellite and Cytochrome *b* data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 14(1): 107-121.
- Koenig, W.D. y P.L. Williams. 1979. Notes on the status of Acorn Woodpecker in Central Mexico. *The Condor* 81(3): 317-318.
- Koenig, W.D., Hooge, P.N., Stanback, M.T. y J. Haydock. 2000. Natal dispersal in the cooperatively breeding Acorn Woodpecker. *The Condor* 102: 492-502.
- Koenig, W.D., Stanback, M.T. y J. Haydock. 1999. Demographic consequences of incest avoidance in the cooperatively breeding acorn woodpecker. *Animal Behaviour* 57: 1287-1293.
- Koenig, W.D., Stanback, M.T., Haydock, J. y F. Kraaijeveld-Smit. 2001. Nestling sex ratio variation in the cooperatively breeding acorn woodpecker (*Melanerpes formicivorus*). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 49: 357-365.
- Kumar, S., Tamura, K., Jakobsen, I.G. y M. Nei. 2001. MEGA2: Molecular Evolutionary Genetics Analysis software 2.1, Arizona State University, Tempe, Arizona, USA.
- Li, W.H. 1997. *Molecular Evolution*. Sinauer Associates, Inc. Pub., USA.
- Lovette, I.J. 1999. Mitochondrial DNA phylogeography and the conservation of endangered lesser antillean *Icterus* orioles. *Conservation Biology* 13(5): 1088.
- Miller, A.H., Friedmann, H., Griscon, L. y R.T. Moore. 1957. Distributional check-list of the Birds of Mexico.
- Moore, W.S., Graham, J.H. y J.T. Price. 1991. Mitochondrial DNA variation in the northern flicker (*Colaptes auratus*, Aves). *Molecular Biology and Evolution* 8(3): 327-344.

- Navarro, A.G. y A. T. Peterson. En revisión. An Alternative Species Taxonomy of the Birds of Mexico.
- Omland, K.E., Tarr, C.L., Boarman, W.I., Marzluff, J.M. y R.C. Fleischer. 2000. Cryptic genetic variation and paraphyly in ravens. *Proceedings of the Royal Society of London B* 267: 2475-2482.
- Peters, J. L. 1948. Check-list of the Birds of the World. Vol. VI. Cambridge, Harvard Univ. Press.
- Peterson, A.T., Escalante, P. y A. Navarro. 1992. Genetic variation and differentiation in mexican populations of common bush-tanagers and chestnut-capped brush-finches. *The Condor* 94: 244-253.
- Prychitko, T.M. y W.S. Moore. 1997. The Utility of DNA Sequences of an Intron from the  $\beta$ -Fibrinogen Gene in Phylogenetic Analysis of Woodpeckers (Aves: Picidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 8(2): 193-204.
- Prychitko, T.M. y W.S. Moore. 2000. Comparative evolution of the mitochondrial cytochrome b gene and nuclear  $\beta$ -fibrinogen intron 7 in woodpeckers. *Molecular Biology and Evolution*. 17: 1101-1111.
- Quinn, T.W. 1992. The genetic legacy of mother goose – phylogeographic patterns of lesser snow goose *Chen caerulescens caerulescens* maternal lineages. *Molecular Ecology* 1: 105-117.
- Quinn, T.W. 1997. Molecular evolution of the mitochondrial genome. En “Avian Molecular Evolution and Systematics” (Mindell, D.P., ed.), pp. 4-28, Academic Press, San Diego.
- Ridgway, R. 1914. The Birds of North and Middle America. Bulletin of the United States Natural Museum 50, Parte IV.
- Schneider, S., Roessli, D. y L. Excoffier. 2000. Arlequin ver. 2000: A software for population genetics data analysis. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Switzerland.
- Short, L. 1982. Woodpeckers of the world. Delaware Museum of Natural History, USA.
- Sibley, C.G. y B.L. Monroe. 1990. Distribution and Taxonomy of Birds of the World. Yale University Press, USA.
- Stacey, P.B. 1981. Foraging behavior of the Acorn Woodpecker in Belize, Central America. *The Condor* 83(4): 336-339.
- Stanback, M.T. 1994. Dominance within broods of the cooperatively breeding acorn woodpecker. *Animal Behavior* 47: 1121-1126.
- Stanback, M.T. 1998. Getting stuck: a cost of communal cavity roosting. *The Wilson Bulletin* 110(3): 421-423.
- Swofford, D.L. 1999, PAUP\* Phylogenetic Analysis Using Parsimony (\*and other methods). Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

Walsh, S.P., Metzger, D.A. y R. Higuchi. 1991. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *BioTechniques* **10**: 506-513.

Weibel, A.C. y W.S. Moore. 2002a. Molecular Phylogeny of a Cosmopolitan Group of Woodpeckers (Genus *Picoides*) Based on *COI* and *cyt b* Mitochondrial Gene Sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **22**(1): 65-75.

Weibel, A.C. y W.S. Moore. 2002b. A Test of a Mitochondrial Gene-Based Phylogeny of Woodpeckers (Genus *Picoides*) Using an Independent Nuclear Gene,  $\beta$ -Fibrinogen intron 7. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **22**(2): 247-257.

Weir, B.S. 1996. Intraspecific differentiation. En: "Molecular Systematics" (Hillis, D. M., Moritz, C. y B. K. Mable, eds.) pp. 385-390.

Wenink, P.W., Baker, A.J., Rösner, H-U. y M.G.J. Tilanus. 1996. Global mitochondrial DNA phylogeography of holarctic breeding dunlins (*Calidris alpina*). *Evolution* **50**: 318-330.

Zink, R.M. 1996. Comparative phylogeography in North American birds. *Evolution* **50**(1): 308.

Zink, R. M. 1997. Phylogeographic Studies of North American Birds. En: "Avian Molecular Evolution and Systematics" (Mindell, D.P., ed.), pp. 301-324, Academic Press, San Diego.

Zink, R. M. 2001. Comparative phylogeography of some aridland bird species. *The Condor* **103**(1): 1-10.

Zink, R.M., Rohwer, S., Drovetski, S., Blackwell-Rago, R.C. y Farrell, S.L. 2002. Holarctic phylogeography and species limits of three-toed woodpeckers. *The Condor* **104**: 167-170.