



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**POSGRADO EN CIENCIAS  
BIOLÓGICAS**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**PATRONES DE VARIACIÓN GEOGRÁFICA DEL Género  
*Ergaticus* (AVES: PARULIDAE)**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
(SISTEMÁTICA)**

**P R E S E N T A**

**ALFREDO OLIVER BARRERA GUZMÁN**

**DIRECTOR DE TESIS: Dr. ADOLFO GERARDO NAVARRO-SIGÜENZA**

**MÉXICO D.F.**

**OCTUBRE 2010**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
FACULTAD DE CIENCIAS  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

OFICIO FCIE/DEP/499/10

ASUNTO: Oficio de Jurado

**Dr. Isidro Ávila Martínez**  
**Director General de Administración Escolar, UNAM**  
**Presente**

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 23 de agosto de 2010, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de del (la) alumno (a) **BARRERA GUZMAN ALFREDO OLIVER** con número de cuenta **509015103** con la tesis titulada "**Patrones de Variación Geográfica del Género *Ergaticus* (Aves: Parulidae)**", realizada bajo la dirección del (la) **DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA**:

Presidente: DRA. ELLA GLORIA VAZQUEZ DOMINGUEZ  
Vocal: DR. MARK EARL OLSON  
Secretario: DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA  
Suplente: DR. ALEJANDRO ZALDIVAR RIVERON  
Suplente: DRA. BLANCA ESTELA HERNANDEZ BAÑOS

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

**Atentamente**  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"  
Cd. Universitaria, D.F., a 5 de octubre de 2010.

  
Dr. Juan Nuñez Farfán  
Coordinador del Programa

JNF/DCRV/ASR/ipp

La realización de este trabajo ha sido posible gracias a:

Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) por la preparación académica recibida y todas las facilidades asociadas.

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por otorgar una beca para la realización de los estudios de posgrado.

El proyecto SEMARNAT-CONACYT (C01-0265) por proporcionar el financiamiento requerido para llevar a cabo el proyecto de maestría.

Programa de Apoyo a los Estudios de Posgrado (PAEP) de la UNAM y Programa de Becas Mixtas de CONACYT por brindar apoyos económicos para la realización de estancias en el extranjero.

Los miembros del comité tutorial por sus aportaciones durante la realización del proyecto mediante sugerencias y correcciones: Dra. Blanca Hernández Baños, Dra. Ella Vázquez Domínguez y Dr. Adolfo Navarro Sigüenza.

A las siguientes instituciones académicas ya sea por proporcionar apoyo logístico o por brindar muestras de tejido para la realización de este proyecto: Museo de Zoología “Alfonso L. Herrera”, Facultad de Ciencias, UNAM; Museo Nacional de Ciencias Naturales, CSIC, Madrid; Natural History Museum & Biodiversity Research Center, University of Kansas; Marjorie Barrick Museum, University of Nevada Las Vegas; Field Museum of Natural History; Conservation Genetics Resource Center, University of California Los Angeles.

## AGRADECIMIENTOS

Al personal de todas las colecciones consultadas, quienes han hecho posible la realización de este trabajo, en especial a sus respectivos curadores y encargados: Adolfo Navarro Sigüenza, Blanca Hernández Baños y Fanny Rebón Gallardo (MZFC); John Klicka (UNLV); John Bates y David Willard (FMNH); John Pollinger y Emily Curd (UCLA).

A mi director de tesis Adolfo Navarro Sigüenza por permitirme trabajar en su grupo, por todo el aprendizaje, su apoyo, sus agudos consejos y críticas, así como por su paciencia y disposición.

A Alejandro Gordillo Martínez por todo el apoyo logístico otorgado durante el proyecto.

A Blanca Hernández Baños, Anuar López López, Enrique Arbeláez Cortés, Anahí Ávila Valle, Susette Castañeda Rico y Luz Zamudio Beltrán por su valiosa colaboración durante el trabajo de laboratorio.

A A. Townsend Peterson, Mark Robbins, Luis Sánchez González, Brett Benz, y Árpád Nyári por su apoyo durante mi estancia en The Natural History Museum & Biodiversity Research Center, University of Kansas.

A Borja Milá Valcárcel, Patrick Fitze, Cristina Romero Díaz, Carlos Pedraza Lara y Patricia Ornelas García por su apoyo durante mi estancia en el Museo Nacional de Ciencias Naturales en Madrid.

A los miembros del jurado: Adolfo Navarro Sigüenza, Ella Vázquez Domínguez, Blanca Hernández Baños, Mark Olson y Alejandro Zaldívar Riverón por sus comentarios y sugerencias que han contribuido al mejoramiento de la versión final de este trabajo.

A Octavio Rojas Soto, Enrique Arbeláez Cortés, Irby Lovette, Borja Milá Valcárcel y Jaime García Moreno por los consejos y sugerencias proporcionados durante el desarrollo de este trabajo.

A Cesar Muñoz Ríos y Luis Verde Arregoitia por su ayuda en la elaboración de mapas.

A Luis Sánchez González, Cesar Muñoz Ríos, Erick García Trejo, Anuar López López, Marco Ortiz Ramírez y a todos los demás colectores del MZFC cuyos nombres se me escapan pero que han hecho una invaluable contribución proporcionando los ejemplares usados en este trabajo.

A Enrique Arbeláez Cortés, Anuar López López, Anahí Ávila Valle y Gala Cortés Ramírez por proporcionarme información de literatura útil para este trabajo.

A Mirza Ortega Olivares por proporcionar el contacto para la transición Parasitología-Ornitología.

A Anahí Ávila Valle y Susette Castañeda Rico por su ayuda con algunos trámites del posgrado mientras me encontraba fuera del país.

Una vez más, a toda la banda (ustedes saben muy bien quienes son) que me ha acompañado durante todo este proceso, ya sea en la distancia o en cuerpo presente, por hacer más soportables las largas horas de trabajo, por los chistes, apoyo moral, peleas, más carcajadas insanas y todo lo demás.....

A mi familia, en especial a mi madre Violeta Guzmán Medina y a mi hermana Mónica Barrera Guzmán por todo su apoyo incondicional, por seguir creyendo en mí y por todos sus consejos. Será difícil pero seguiré en este camino mejorándome cada día hasta que estén orgullosas de mí.

## INDICE

<b>RESUMEN/ ABSTRACT .....</b>	<b>2</b>
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>3</b>
<b>MÉTODOS .....</b>	<b>7</b>
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>13</b>
<b>DISCUSIÓN .....</b>	<b>25</b>
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>32</b>
<b>LITERATURA CITADA .....</b>	<b>33</b>
<b>Apéndice 1 .....</b>	<b>42</b>
<b>Apéndice 2 .....</b>	<b>45</b>
<b>Apéndice 3 .....</b>	<b>46</b>
<b>Apéndice 4 .....</b>	<b>49</b>

## RESUMEN

La avifauna montana de Mesoamérica constituye un buen modelo para el estudio de los procesos evolutivos. Analizando sus complejos patrones de variación geográfica es posible la evaluación de diferentes hipótesis de diversificación en la región. El complejo *Ergaticus* representa un grupo de aves endémico a los sistemas montañosos de Mesoamérica. Tradicionalmente se reconocen dos especies: *E. ruber* y *E. versicolor*. Las poblaciones de *E. ruber* se dividen en tres subespecies circunscritas por sutiles diferencias morfológicas. Se emplearon tres marcadores mitocondriales (ND2, citocromo b y ATPasas) para examinar los patrones de variación geográfica, las relaciones filogenéticas, la historia demográfica y los tiempos de divergencia en el género. Los resultados muestran altos niveles de diferenciación genética y una marcada estructura genética que se corresponde con los límites geográficos de las poblaciones. Las poblaciones de cada región no presentaron señales de expansión demográfica con excepción de aquellas restringidas al Eje Neovolcánico Transversal. Los niveles de diferenciación genética observados pueden explicarse como resultado del aislamiento de las poblaciones de cada región montañosa, separadas por zonas de tierras bajas que actúan como barreras geográficas. Se distinguen cuatro linajes independientes como producto de este aislamiento. Se propone un evento geológico acontecido a finales del Plioceno y una serie de eventos climáticos ocurridos durante el Pleistoceno como los agentes causales de las divergencias dentro del complejo.

## ABSTRACT

Montane avifauna of Mesoamerica constitutes a good model for the study of evolutionary processes. By analyzing its complex patterns of geographic variation it is possible the assessment of the different diversification hypothesis in the region. The *Ergaticus* complex represents a group of endemic birds of the montane systems of Mesoamerica. Traditionally two species are recognized within the complex: *E. ruber* and *E. versicolor*. Populations of *E. ruber* are divided in three subspecies, which are identified in the base of subtle morphological differences. Three mitochondrial markers (ND2, cytochrome b and ATPases) were used to evaluate the patterns of geographic variation, the phylogenetic relationships, the demographic history and the divergence times in the genus. The results show high levels of genetic differentiation and remarkable genetic structure that are in correspondence with the geographic limits of the populations. The populations of each region did not show signals of demographic expansion, with the exception of the ones restricted to the Transvolcanic Belt Mountains. The levels of genetic differentiation observed can be explained as a consequence of the isolation of the populations in each montane region, separated by lowland zones acting as geographic barriers. Four independent lineages are recognized as a result of this isolation. We propose a geologic event happened at the end of the Pliocene and a series of climatic events occurred during the Pleistocene as the causal agents of the divergences within the complex.

## INTRODUCCIÓN

Los bosques montanos de Mesoamérica constituyen un interesante caso para el estudio de los procesos evolutivos. Esto por ciertas características que los distinguen de los bosques montanos presentes en otras latitudes. Debido a las particulares condiciones ambientales que requieren (Rzedowski, 1986; Hernández-Baños *et al.*, 1995; Kapelle, 2006) y a la complejidad topográfica de la región (Ferrusquía-Villafranca, 1998; Marshall, 2007) se presentan en un alto grado de fragmentación, lo que les confiere una condición similar a islas (Acosta, 2004; Baker, 2008). Las especies de aves habitando estas “islas terrestres” también suelen presentar distribuciones fragmentadas, además de rangos de altitud limitados y requerimientos ecológicos específicos, siendo estos factores potenciales para la generación de nuevas especies (Graves, 1985, 1988). Lo anterior cobra importancia si se considera que en la mayoría de los casos las especies se generan por especiación alopátrica (Coyne & Orr, 1994; Helbig *et al.*, 2002). En consecuencia, los bosques montanos de Mesoamérica presentan una gran diversidad biológica, reflejada en su considerable riqueza avifaunística y en un alto número de endemismos (Hernández-Baños *et al.*, 1995; Sánchez-González *et al.*, 2008).

El desarrollo de un creciente interés por la avifauna montana de Mesoamérica se ha visto proyectado en numerosos estudios de caso que analizan relaciones filogenéticas y/o patrones de variación geográfica (Navarro-Sigüenza *et al.*, 2001; García-Moreno *et al.*, 2004; García-Moreno *et al.*, 2006; Milá *et al.*, 2006; Pérez-Emán, 2005; Cadena *et al.*, 2007; Milá *et al.*, 2007a, 2007b; Sánchez-González *et al.*, 2007; Spellman & Klicka, 2007; Bonaccorso *et al.*, 2008; Cortés-Rodríguez *et al.*, 2008; Navarro-Sigüenza *et al.*, 2008; McCormack *et al.*, 2008b; Milá *et al.*, 2008; Puebla-Olivares *et al.*, 2008; Weir *et al.*, 2008; Bonaccorso, 2009). Dichos estudios documentan diversos grupos de aves con diferentes grados de diferenciación y proporcionan indicios de la naturaleza de los procesos evolutivos y de los factores que tienen influencia en su acción.

Las conclusiones de los estudios para la región (y en general para el resto del continente) sugieren diferentes hipótesis acerca del origen y los mecanismos de diversificación de la avifauna. Algunos autores proponen que glaciaciones de carácter

cíclico acontecidas en el pasado fueron el principal factor promotor de la diversificación de las aves y otros grupos de organismos (Mengel 1964; Webb & Bartlein, 1992; Hewitt, 1996; Weir & Schluter, 2004; Weir, 2006). Sin embargo, otros autores han propuesto procesos geológicos (formación de istmos, depresiones y cadenas montañosas, actividad volcánica, etc.) como el principal agente de diversificación (Cracraft & Prum, 1988; Morrone., 2005; Sánchez-González *et al.*, 2008; Castoe *et al.*, 2009). Aunque a menudo ambas explicaciones se invocan por separado no necesariamente son excluyentes entre sí, como han sugerido algunos estudios (García-Moreno *et al.*, 2004; Pérez-Emán, 2005; Ribas *et al.*, 2007; Barber & Klicka, 2010).

Cabe mencionar que dentro del contexto de la primera de las propuestas mencionadas existe una fuerte discusión respecto a la ubicación en el tiempo para la diversificación de los grupos de aves más recientes. La idea ampliamente difundida de que los ciclos glaciares acontecidos a finales del Pleistoceno fueron cruciales para dicho evento (Hubbard 1973; Avise & Walker, 1998; Johnson & Cicero, 2004) ha sido fuertemente cuestionada por varios estudios que sostienen que el origen de la mayoría de los grupos se remonta más atrás en el tiempo (Klicka & Zink, 1997, 1999; Zink, *et al.*, 2004; Zink & Klicka, 2006). De lo anterior, se desprende la importancia de realizar más estudios de variación geográfica con grupos de aves poco conocidos, puesto que permiten inferir la importancia de eventos del pasado como agentes causales de los patrones de divergencia entre linajes.

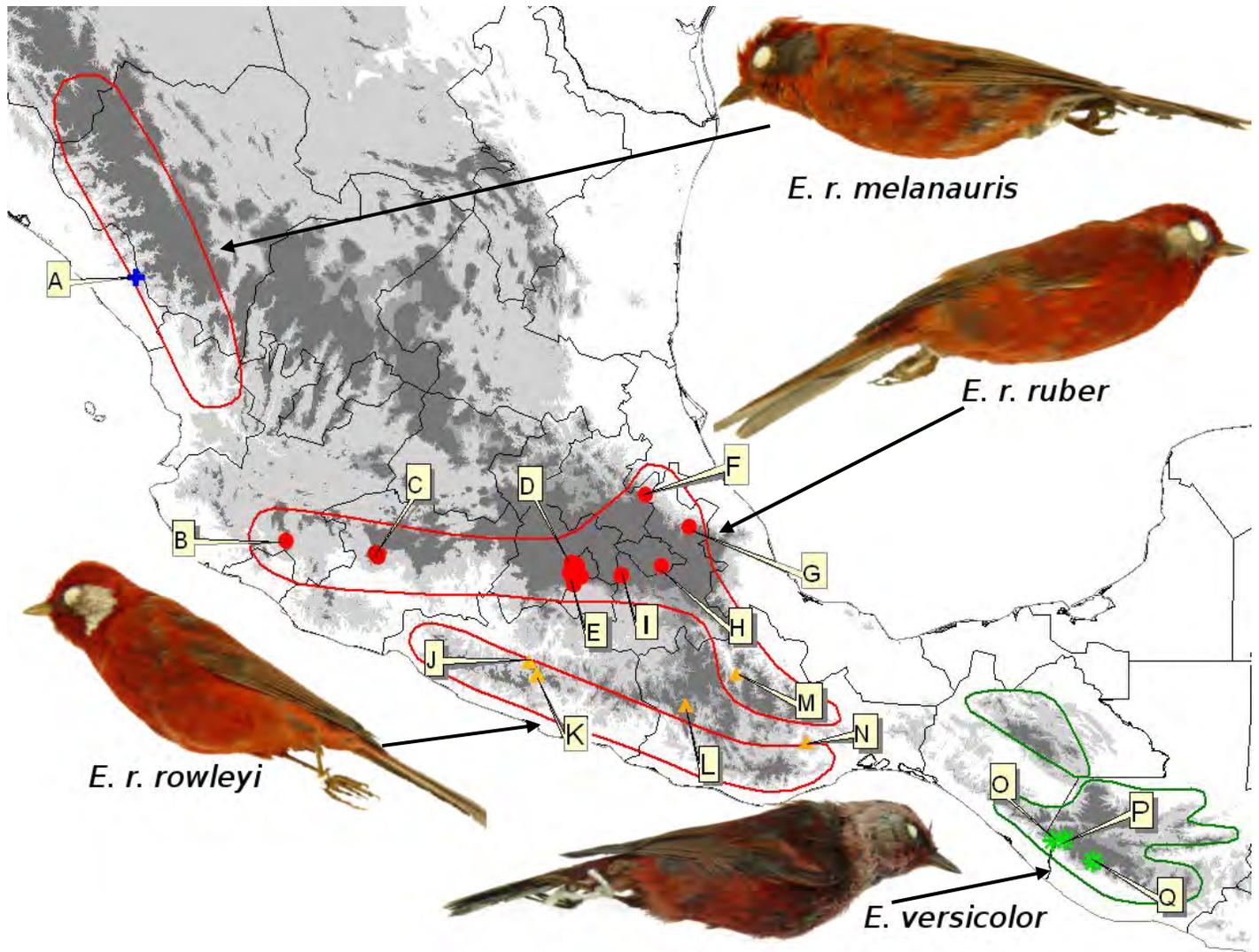
Las aves del género *Ergaticus*, pertenecientes a la familia Parulidae, constituyen un buen modelo para evaluar las diferentes hipótesis de diversificación en la región. Esto por su peculiar distribución casi restringida a los bosques montanos húmedos de México y a la aparente baja variabilidad morfológica de sus poblaciones. Dadas estas características es muy probable la existencia de aislamiento genético entre las poblaciones presentes en diferentes cadenas montañosas.

Tradicionalmente se ha reconocido la existencia de solo dos especies distribuidas desde el Norte de México hasta Guatemala (Baird, 1865; Ridgway, 1902; Howell & Webb,

1995; Curson *et al.*, 1995; Wilson & Will, 1997; AOU, 1998) (Figura 1). Algunos tratados taxonómicos agrupan a ambas especies como una superespecie, lo que sugiere una divergencia muy reciente (Sibley & Monroe, 1990). La especie monotípica *E. versicolor* está restringida al Centro y Sureste de Chiapas en México y al Oeste de Guatemala. Por otra parte, *E. ruber*, de más amplia distribución, se encuentra sólo en México y sus poblaciones están divididas en tres subespecies circunscritas por diferencias morfológicas aparentemente sutiles: *E. r. ruber* en el Eje Neovolcánico Transversal, *E. r. melanauris* en la Sierra Madre Occidental y *E. r. rowleyi* en la Sierra Madre del Sur (Curson *et al.*, 1995).

Los individuos de *ruber* presentan una coloración rojo vivo en casi todo el cuerpo y un parche auricular color plateado aperlado (Swainson, 1827); los de *melanauris* se distinguen por poseer un parche auricular color gris plomo y las partes superiores ligeramente más brillantes con un rojo más escarlata (Moore, 1937); por último, los individuos de *rowleyi* tienen un parche auricular similar a *ruber* pero poseen una coloración en las partes superiores de un rojo rubí aún más brillante que las otras dos formas (Orr & Webster, 1968). A pesar de estas diferencias, no se ha hecho una revisión del género que incluya todas las formas descritas anteriormente. Hasta la fecha, solo existe una propuesta que considera la separación de *ruber* y *melanauris* bajo el concepto de especie evolutiva (Navarro-Sigüenza & Peterson, 2004).

En el presente trabajo se realizó un análisis de las diferentes poblaciones empleando caracteres moleculares para examinar los patrones de variación geográfica, las relaciones filogenéticas, la historia demográfica y los tiempos de divergencia en el género. De esta manera, se pretende establecer un primer marco sobre las relaciones evolutivas, la historia biogeográfica y la situación taxonómica del complejo *Ergaticus*, evaluando los resultados dentro del contexto de las hipótesis de diversificación de la avifauna en Mesoamérica.



**Figura 1.-** Mapa de distribución del complejo *Ergaticus* y localidades de muestreo. Las áreas delineadas señalan la distribución aproximada para *E. ruber* (rojo) y *E. versicolor* (verde). Los símbolos con sus respectivas letras representan las localidades de muestreo, mientras que el color y la forma de cada símbolo indican la zona geográfica a la que pertenece la localidad, así como las especies o subespecies: (asterisco verde)= montañas de Chiapas y Guatemala, *E. versicolor*; (círculo rojo)= Eje Neovolcánico Transversal, *E. r. ruber*; (triángulo amarillo)= Sierra Madre del Sur, *E. r. rowleyi*; (cruz azul)= Sierra Madre Occidental, *E. r. melanauris*. Las áreas más oscuras indican una mayor elevación.

## MÉTODOS

### *Obtención de especímenes*

Se colectaron especímenes de *Ergaticus* provenientes de distintas localidades a lo largo de su área de distribución (Figura 1). Dichos especímenes fueron conservados en forma de piel de estudio y se les extrajo muestras de tejidos (músculo, corazón e hígado), los cuales fueron preservados en nitrógeno líquido y/o etanol al 96%. Estos especímenes se encuentran depositados en el Museo de Zoología “Alfonso L. Herrera” de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Autónoma de México. Asimismo, se recurrió a muestras de tejido, sangre y plumas donadas de especímenes depositados en colecciones de Estados Unidos (ver Apéndice 1).

### *Procedimientos de laboratorio*

Se extrajo el ADN mitocondrial (ADNmt) de las muestras obtenidas para cada espécimen utilizando el kit de extracción QIA-GEN DNEasy (Qiagen) usando los protocolos del fabricante. Se empleó la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para amplificar tres fragmentos de diferentes regiones del genoma mitocondrial: 849 pares de bases (pb) de la subunidad 2 del dinucleótido de nicotidamina adenina hidrogenasa (ND2) empleando los primers L5215 (Hackett, 1996) y H6313 (Johnson & Sorenson, 1998), así como los pares de primers L5216-H6313, L5219-H5766 y L5758-H6313 (Sorenson *et al.*, 1999); 848 pb para el citocromo b empleando los primers L14841 (Kocher *et al.*, 1989) y Thr1 (Johanson *et al.*, 2002) y también el par de primers L14990-H16064 (Sorenson *et al.*, 1999); y un fragmento de 673 pb que incluye la ATP sintasa 8 completa y parcialmente la ATP sintasa 6 (ATPasas) mediante los primers L8950 (García-Moreno *et al.*, 2004) y H9855 (Sorenson *et al.*, 1999). Se amplificaron los fragmentos correspondientes mediante una modificación del protocolo Touchdown (Korbie & Mattick, 2008) para mayor especificidad de los primers. Dicho protocolo siguió los siguientes pasos: Un período inicial de desnaturalización a 95 °C por 2 minutos; seguido por 35 ciclos con desnaturalización a 95 °C por 45 segundos, alineamiento a 53 °C por 40 segundos y

extensión a 74 °C por 45 segundos; y un período final de extensión a 74 °C por 7 minutos. Las amplificaciones se llevaron a cabo en reacciones de 50 µl que incluyeron: Buffer de PCR a 1x, cloruro de magnesio a una concentración de 2.4 mM, dNTP a 0.2 mM, primers a 1 µM cada uno, 2 unidades de ADN polimerasa y 100 ng de ADN aproximadamente. Los productos de PCR fueron verificados en geles de agarosa al 1% con bromuro de etidio y purificados empleando el kit de purificación EXOSAP-IT (Usb) o mediante columnas de purificación Millipore (Millipore) siguiendo los protocolos de los fabricantes.

Posteriormente se llevaron a cabo reacciones de secuenciación mediante el kit BigDye 3.1 en el ciclo recomendado (Applied Biosystems) y los productos fueron purificados mediante filtración en gel usando columnas de Sephadex G50 (Sigma) o mediante precipitación en etanol. Finalmente los productos purificados fueron sometidos a un secuenciador automático ABI prism 377 (Applied Biosystems). Para los análisis filogenéticos se incluyeron como grupo externo secuencias de otras especies obtenidas de Genbank, de acuerdo a hipótesis filogenéticas previas de la familia Parulidae (Lovette & Bermingham, 2002): *Cardellina rubrifrons* (AF383142, AF383026, AF382987), *Wilsonia canadensis* (AF383132, AF383016, AF382977) y *Myioborus pictus* (AF383127, AF383011, AF382972). Todas las secuencias obtenidas fueron ensambladas, editadas y alineadas a ojo mediante los programas BioEdit 4.8.10 (Hall, 1999) y SEQUENCHER 4.1.4 (Genecodes). Las secuencias fueron verificadas mediante su traducción sin ambigüedad a su correspondiente secuencia de aminoácidos mediante el programa DNAsp 5.1 (Librado & Rozas, 2009). Debido a que las ATPasas 8 y 6 tienen una superposición de 10 pb en diferentes marcos de lectura, se consideró un fragmento de 683 pb cuando los análisis requirieron el uso de codones.

### ***Análisis filogenéticos***

Se consideraron los fragmentos de ADNmt para cada región por separado y combinándolos para obtener un total de 2370 pb (2380 pb cuando se consideraron codones). Se crearon redes de haplotipos mediante el programa Networks 4.5.1.6 (<http://www.fluxus-technology.com>) empleando el algoritmo de unión de medianas

(Bandelt *et al.*, 1999). Se construyeron árboles mediante el criterio de máxima parsimonia con TNT 1.1 (Goloboff *et al.*, 2008) mediante búsquedas heurísticas con el algoritmo TBR (división de árboles y reconexión) y 100 réplicas. Se elaboraron árboles de consenso del 50% de mayoría con las topologías más parsimoniosas. El soporte de los nodos se obtuvo mediante 1000 réplicas de bootstrap con las mismas configuraciones que las búsquedas heurísticas.

Para la obtención de los arboles bajo los criterios de máxima verosimilitud e inferencia Bayesiana se estimaron los modelos más apropiados de evolución molecular para las secuencias obtenidas mediante el criterio de información de Akaike (AIC) con Jmodeltest 0.1.1 (Posada, 2008). Se obtuvieron árboles con el criterio de máxima verosimilitud mediante búsquedas heurísticas para 100 réplicas con el algoritmo TBR con PAUP 4.0 (Swofford, 2002). El soporte de los nodos se obtuvo mediante 100 réplicas de bootstrap con 10 réplicas con el programa GARLI 1.0 (Zwick, 2006), el cual proporciona una búsqueda más rápida usando un algoritmo genético. Tanto para el criterio de máxima verosimilitud, como para el de máxima parsimonia, los valores de bootstrap igual o mayores al 70% se consideraron robustos (Hillis & Bull, 1993). También se llevó a cabo una prueba de razón de verosimilitud en PAUP con las mejores topologías para determinar si las tasas de substitución se ajustan a un modelo de reloj molecular estricto (Felsenstein, 1981).

Se construyeron árboles mediante inferencia bayesiana con el programa Mr. Bayes 3.1.2 (Huelsenbeck & Ronquist, 2001) realizando un análisis sin partición y uno con particiones por posición de codón en cada región mitocondrial (nueve particiones) asignando a cada una el mejor modelo obtenido por Jmodeltest. Los parámetros entre particiones fueron desligados, excepto el largo de las ramas y la topología. Se realizaron simultáneamente dos corridas con cuatro cadenas de Markov Montecarlo por 10 millones de generaciones con una frecuencia de muestreo de cada 500 generaciones para obtener 20,000 árboles muestreados por corrida. Se evaluó que las corridas hayan alcanzado un estado estacionario graficando los valores de  $-\ln L$  por cada generación con el programa Tracer 1.5 (Rambaut & Drummond, 2009). Las corridas se estabilizaron al primer millón de generaciones y se

descartaron los primeros 2000 árboles de cada una para construir, a partir de los árboles restantes, un árbol de consenso de 50% de mayoría con las probabilidades posteriores para cada nodo (Huelsenbeck *et al.*, 2002). Valores de probabilidad posterior mayores o iguales a 0.95 se consideraron robustos (Larget & Simon, 1999). Finalmente se evaluaron las topologías obtenidas de los datos particionados y sin particionar con los factores Bayes a partir las medias armónicas para poder determinar cuál es la más informativa (Kass & Raftery, 1995; Nylander *et al.*, 2004).

### ***Diferenciación genética, estructura poblacional e historia demográfica.***

En esta sección, se consideraron nuevamente los datos concatenados y los fragmentos de ADNmt por separado. Se calculó la diversidad haplotípica y nucleotídica empleando el programa ARLEQUIN versión 3.01 (Excoffier *et al.*, 2005). En este mismo programa se calcularon las distancias genéticas corregidas entre grupos de secuencias (según el modelo de evolución TrN, siendo el más aproximado a los sugeridos por Jmodeltest de los disponibles en las configuraciones de ARLEQUIN), usando los cambios de nucleótidos entre haplotipos al tomar en cuenta la variación intrapoblacional (Nei & Li, 1979). Se analizó la estructura de las poblaciones mediante un análisis de varianza molecular (AMOVA) a través de estimaciones de los componentes de la varianza en forma de estadísticos  $\phi$  (Excoffier *et al.*, 1992) con ARLEQUIN. Para poder detectar grupos de poblaciones de acuerdo a sus diferencias genéticas, se realizaron varios arreglos de las localidades de colecta con base a las diferentes cadenas montañosas tratando de maximizar el componente de varianza intragrupal ( $\phi_{ct}$ ). Para tratar de dilucidar la historia demográfica, nuevamente con ARLEQUIN, se calcularon las distribuciones “Mismatch” (Rogers & Harpending, 1992) y se pusieron a prueba contra un modelo de expansión poblacional, evaluando su significancia estadística mediante 1000 réplicas de bootstrap. También se realizó la prueba de neutralidad de Fu (Fu, 1997) para evaluar la posible existencia de eventos de expansión demográfica (empleando ARLEQUIN una vez más), con 1000 muestras simuladas para determinar la significancia estadística. Finalmente, como complemento a los análisis demográficos, se calculó el estadístico R2 (Ramos-Onsins & Rozas, 2002) con DNAsp y se evaluó su significancia mediante 10,000 réplicas simuladas.

### ***Estimación de tiempos de divergencia.***

Se estimaron los tiempos de divergencia de los grupos estudiados mediante inferencia bayesiana en el programa BEAST 1.5.4 (Drummond & Rambaut, 2007). Para este método se aplicó un modelo de reloj molecular relajado sin autocorrelación en las tasas de sustitución siguiendo una distribución lognormal (Drummond *et al.*, 2006). Todos los criterios y configuraciones que se describirán fueron ajustados con la interfaz BEAUti incorporada en BEAST. Únicamente se emplearon los datos concatenados puesto que son más apropiados para este tipo de análisis y producen mejores estimados de los tiempos de divergencia. Lo anterior se debe a la reducción en la varianza asociada al uso de una mayor cantidad de datos y a la homogeneización de diferentes tasas de sustitución de las diferentes regiones mitocondriales cuando estas son combinadas (Battistuzzi *et al.*, 2010). Los estimados se realizaron bajo el mejor modelo sugerido por jmodeltest y asumiendo un prior de tamaño poblacional constante, basado en los resultados de los análisis de historia demográfica.

Se introdujo en el programa una de las mejores topologías obtenidas de los análisis filogenéticos previos (la mejor obtenida mediante máxima verosimilitud) como prior para proporcionar un punto de inicio para la búsqueda de las cadenas de Markov Montecarlo. Se calibró el reloj mediante un prior en el nodo que contiene la separación de *Ergaticus* y *Cardellina*. Dicha calibración está basada en la formación del Istmo de Tehuantepec acontecida hace 6 millones de años aproximadamente (Barrier *et al.*, 1998). La elección de este punto de calibración se debe a la importancia del Istmo como barrera geográfica para muchos grupos de aves montanas (Pérez Emán, 2005; Cadena *et al.*, 2007; Cortés-Rodríguez *et al.*, 2008; Sánchez-González *et al.*, 2008; Weir *et al.*, 2008; Bonaccorso, 2009; Barber & Klicka, 2010) y a la ausencia de fósiles para los grupos estudiados. Otro motivo para la elección de este evento tiene que ver con las sugerencias de un origen Mesoamericano para varios grupos de la familia Parulidae que cuentan con poblaciones sedentarias distribuidas en el extremo Este del Istmo (Curson *et al.*, 1995; Lovette & Bermingham, 2001; Lovette, 2004; Pérez-Emán, 2005; Milá *et al.*, 2007a; Escalante *et al.*, 2009; Torres-Vilaça & Rodrigues dos Santos, 2010). En relación a lo anterior, la

distribución de *Cardellina* es muy similar a la de *Ergaticus*, pero con la diferencia de que el primero en gran parte de su distribución, incluyendo al Oeste del Istmo, cuenta con poblaciones migratorias visitantes de invierno (Curson *et al.*, 1995; Howell & Webb, 1995). Considerando la posibilidad de un ancestro común de hábitos migratorios (también sugerido por el hecho de que *W. canadensis* presenta hábitos migratorios), para la calibración se asumió el supuesto de que la formación del Istmo de Tehuantepec llevó a la expansión del ancestro común y a la posterior divergencia *Ergaticus-Cardellina*. El prior para la calibración fue ajustado siguiendo una distribución normal, que es la más apropiada para eventos biogeográficos (Ho, 2007), con una desviación estándar de 0.5 millones de años.

Las distribuciones de probabilidad posterior de las fechas estimadas fueron obtenidas con un muestreo cada 5000 generaciones de un ciclo de 50 millones de generaciones. Se evaluó con Tracer que los parámetros estimados hubieran alcanzado la convergencia verificando que los tamaños efectivos de muestra fueran mayores de 200 (Drummond *et al.*, 2006). Las primeras 1000 generaciones fueron descartadas y las restantes fueron compiladas en un árbol final con los tiempos de divergencia y sus intervalos de confianza del 95% con TreeAnnotator, también incorporado en BEAST.

### ***Revisión taxonómica: Identificación de linajes independientes.***

Tomando como referencia las diferencias morfológicas circunscritas para las especies y subespecies en conjunto con los resultados de los análisis filogenéticos se realizó una identificación de posibles linajes independientes. Para este fin, se evaluó la presencia de grupos monofiléticos, parafiléticos o polifiléticos considerando aquellos grupos que recibieron buen soporte de bootstrap o probabilidad posterior. Aquellas agrupaciones con un buen soporte, y respaldadas por valores significativos para la AMOVA y las distancias genéticas, fueron consideradas con más probabilidad de representar linajes independientes en concordancia con las recomendaciones de Helbig *et al.* (2002).

## RESULTADOS

### *Análisis filogenéticos*

Se secuenciaron 82 individuos para el fragmento de ND2, 86 para el segmento de citocromo b y 81 para la región de las ATPasas. Únicamente se utilizaron los individuos para los cuales se contaba con secuencias para las tres regiones por lo que al final se usaron 79 individuos para cada fragmento. Puede notarse al observar las Tablas 1 y 2 que a pesar de que los fragmentos de ND2 y ATPasas fueron más variables y/o presentaron más haplotipos, el citocromo b fue el más informativo de las tres regiones mitocondriales.

**Tabla 1.-** Valores de diversidad genética para las tres regiones secuenciadas.

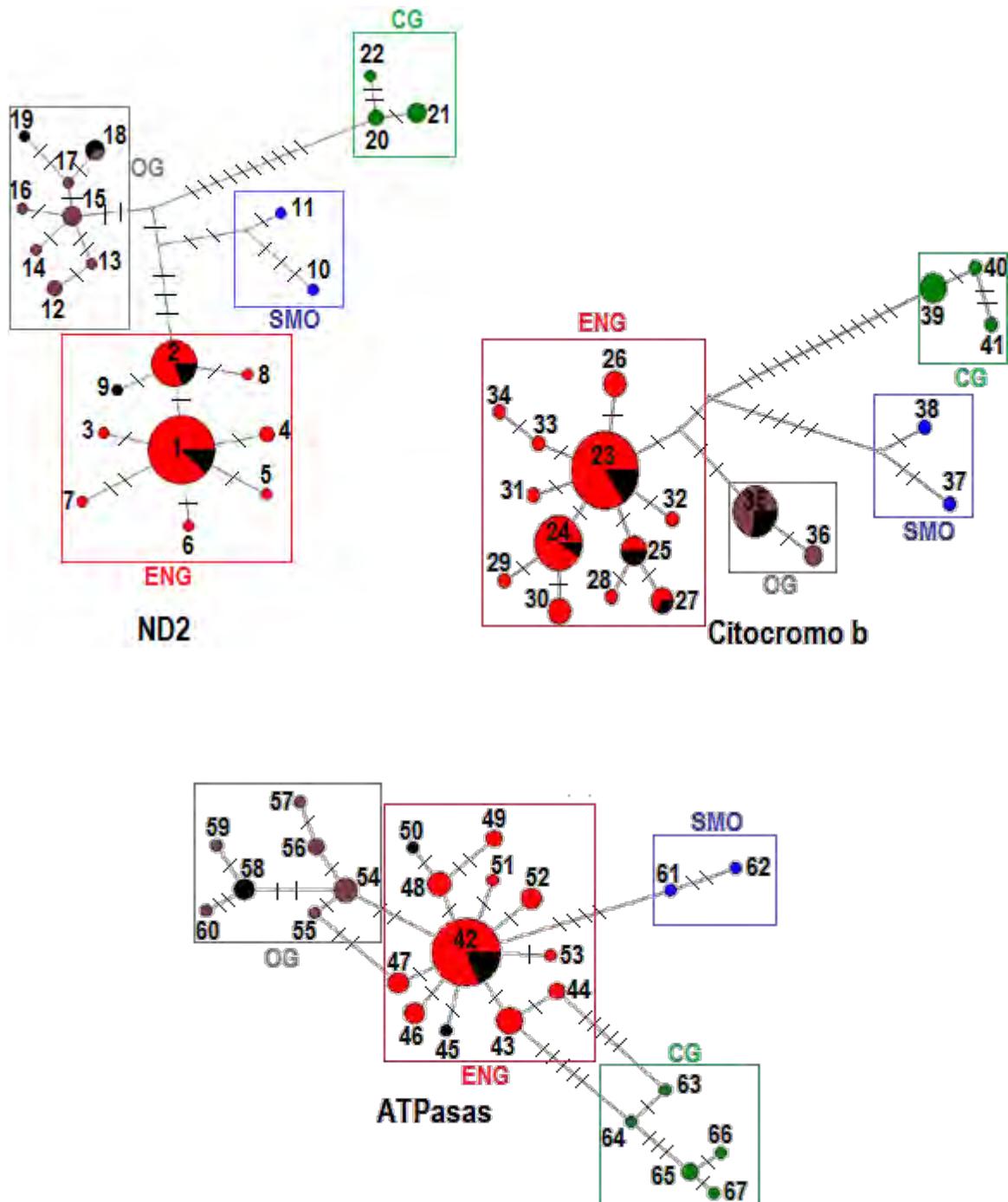
	<b>ND2</b>	<b>Citb</b>	<b>ATPasas</b>	<b>concatenadas</b>
Sitios variables	41	38	34	113
Sitios informativos	26	30	24	80
No. Haplotipos	22	19	26	48
Diversidad haplotípica	0.775 (+/-0.041)	0.844 (+/-0.029)	0.827 (+/-0.042)	0.969 (+/-0.011)
Diversidad Nucleotídica	0.00599 (+/-0.00599)	0.00531 (+/-0.00097)	0.00480 (+/-0.00070)	0.00541 (+/-0.00082)

En las redes de haplotipos (Figura 2) también se observan más haplotipos para ND2 y ATPasas, no obstante, muchos ellos se presentan en bajas frecuencias sugiriendo una mayor tasa de mutación en estas regiones (Tabla 2). Todas las redes de haplotipos muestran agrupamientos similares, aunque existieron algunas diferencias principalmente en las conexiones de algunos grupos de haplotipos y el número de pasos mutacionales entre ellos. Notablemente, estas agrupaciones coinciden con las distribuciones de los individuos colectados y sugieren un alto nivel de estructuración en las poblaciones de este complejo. Así, es posible observar cuatro agrupamientos principales: uno perteneciente al centro de México y Guerrero (ENG), otro que contiene a todos los individuos de Oaxaca y tres de

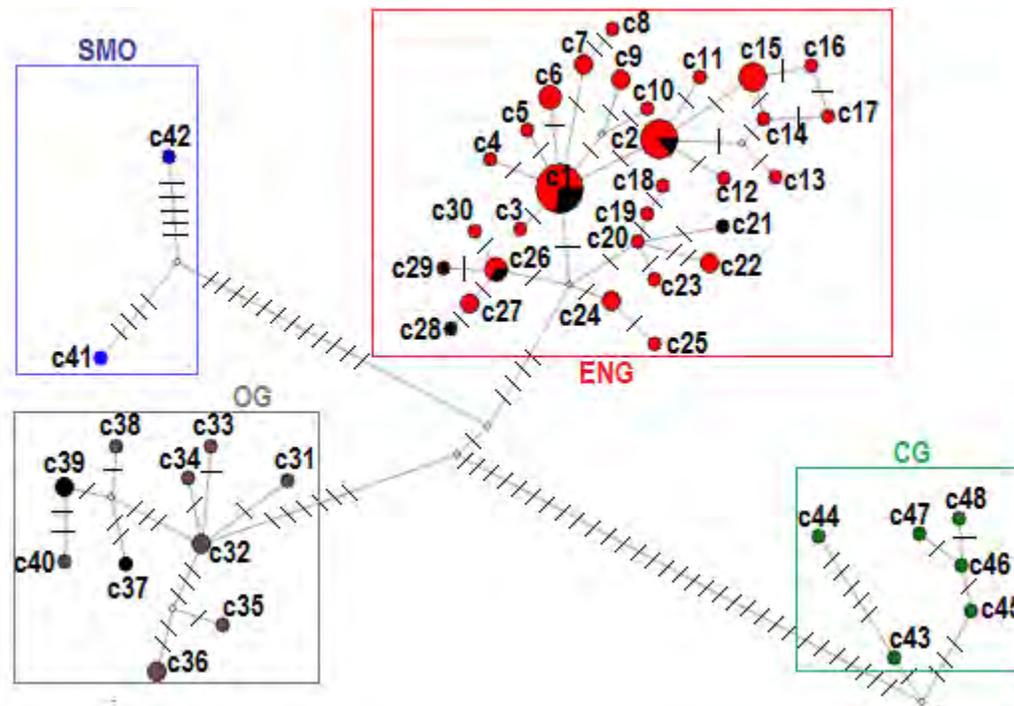
Guerrero (OG), el perteneciente a la Sierra Madre Occidental (SMO) y el que corresponde a los individuos de *E. versicolor* (CG) (ver Figuras 2 y 3).

**Tabla 2.-** Haplotipos por cada región de ADNmt. Cada haplotipo es identificado por un número (ND2, Citb, ATP, haplotipos concatenados en Apéndice 2). (#) =Número de individuos para ese haplotipo. Las letras corresponden a las localidades identificadas en la Figura 1 donde se encontró el haplotipo determinado.

ND2	#	Localidad	Citb	#	Localidad	ATP	#	Localidad
1	34	B, C, D, E, G, H, I, J, K	23	26	C, B, D, E, F, G, H, I, J, K	42	32	B, C, D, E, G, H, I, J, K
2	16	C, D, E, I, J	24	13	B, C, D, E, H, I, J	43	5	D, E, H
3	1	E	25	4	E, J	44	2	D, E
4	2	C, G	26	3	C, G, E	45	1	J
5	1	E	27	3	D, E, K	46	3	C, E, G
6	1	B	28	1	E	47	3	B, C, E
7	1	C	29	1	I	48	4	C, E, F
8	1	F	30	3	D	49	2	I
9	1	K	31	1	D	50	1	J
10	1	A	32	1	C	51	1	D
11	1	A	33	1	E	52	3	D, E
12	2	N	34	1	C	53	1	C
13	1	L	35	11	K, L, M, N	54	4	L, M, N
14	1	N	36	2	N	55	1	N
15	3	M, N	37	1	A	56	2	N
16	1	L	38	1	A	57	1	L
17	1	L	39	4	P, Q	58	3	K
18	3	K, L	40	1	Q	59	1	L
19	1	K	41	1	O	60	1	L
20	2	Q				61	1	A
21	3	P, Q				62	1	A
22	1	O				63	1	O
						64	1	Q
						65	2	Q
						66	1	Q
						67	1	P



**Figura 2.-** Redes de haplotipos para cada región mitocondrial por separado. Los cuadros representan los agrupamientos descritos en el texto. Los números de cada haplotipo corresponden a los mismos de la Tabla 2. Los colores dentro de cada haplotipo representan la proporción de individuos provenientes de las siguientes zonas geográficas: Eje Neovolcánico Transversal (rojo), Sierra Madre Occidental (azul), Oaxaca (café), Guerrero (negro), y Chiapas-Guatemala (verde).



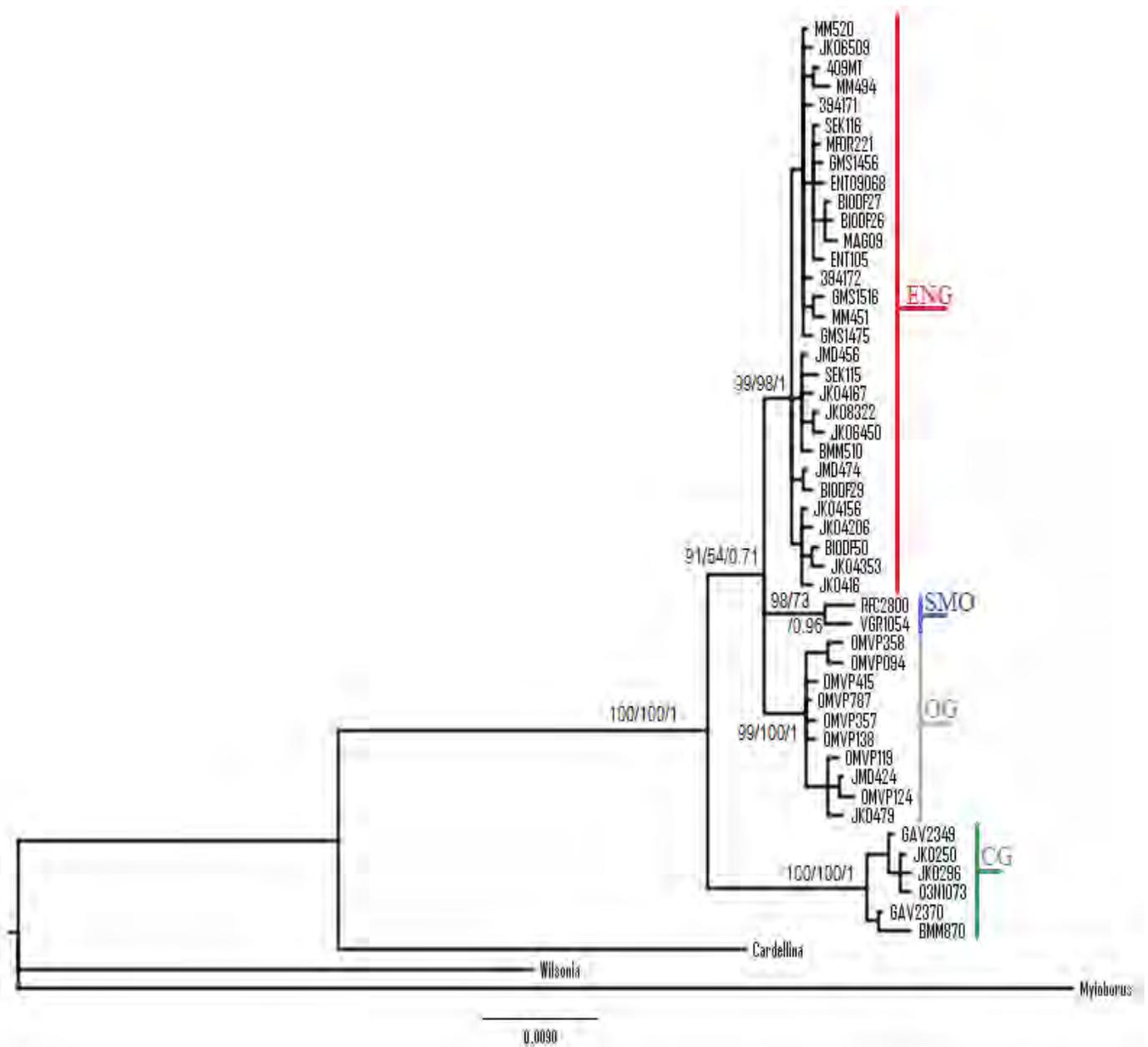
**Figura 3.-** Red de haplotipos para los fragmentos concatenados. Los cuadros representan los agrupamientos descritos en el texto. Los números de cada haplotipo corresponden a descritos en el Apéndice 2. Los colores dentro de cada haplotipo representan la proporción de individuos provenientes de las siguientes zonas geográficas: Eje Neovolcánico Transversal (rojo), Sierra Madre Occidental (azul), Oaxaca (café), Guerrero (negro), y Chiapas-Guatemala (verde).

Para ND2 el mejor modelo evolutivo que se ajustó a los datos según el AIC fue el TrN; para el citocromo b fue el TPM3uf+G; para las ATPasas fue el TrN+G; mientras que para los tres genes concatenados fue el TIM3+G. Las topologías obtenidas por los tres criterios de reconstrucción filogenética fueron virtualmente idénticas, aunque se observaron algunas diferencias entre las que fueron obtenidas para cada región mitocondrial por separado, principalmente respecto al soporte de los nodos y en la presencia/ausencia de algunos clados (ver Apéndice 3). Estas diferencias se observaron principalmente en el árbol de las ATPasas ya que presentó un arreglo poco claro con nodos con muy pobre soporte. En esta sección se presenta únicamente la mejor hipótesis filogenética obtenida con los datos combinados mediante inferencia bayesiana (Figura 4) (para los resultados por segmentos separados ver Apéndice 3).

Asimismo, las topologías obtenidas con el análisis particionado y sin partición fueron idénticas. El factor bayes indicó que el árbol obtenido con los datos particionados fue ligeramente superior ( $\log B_{10} = 0.94$ ), aunque por una diferencia nada significativa; este es el árbol bayesiano que se muestra en la Figura 4. En general, se observaron los mismos agrupamientos que en la red de haplotipos, con cuatro clados principales (ENG, SMO, OG y CG) con soportes muy significativos, aunque su valor varió dependiendo del criterio de reconstrucción filogenética. El arreglo entre estos clados principales es ambiguo debido al pobre soporte obtenido para el nodo que los contiene. El modelo de reloj molecular fue rechazado para todas las topologías, indicando heterogeneidad en las tasas de sustitución para todas las regiones (Tabla 3).

**Tabla 3.-** Resultados de la prueba de razón de verosimilitud. ( $-\ln L$ ) = valor de log verosimilitud de los árboles obtenidos, (G.L.) = grados de libertad, (+) = valores significativos.

	<b>ND2</b>	<b>Citb</b>	<b>ATP</b>	<b>concatenadas</b>
- lnL Sin reloj	2081.57	1942.26229	1621.84199	5701.85499
- ln L Con reloj	2126.16744	1979.50978	1687.67267	5755.99955
G.L.	49	49	49	49
Estadístico LR	89.19488	74.49498	131.66136	108.28912
p	0.00039444+	0.01089939+	1.6955E-09+	2.29614E-06+



**Figura 4.-** Mejor hipótesis filogenética obtenida mediante inferencia bayesiana. Los números cercanos a los nodos corresponden a los valores de soporte (bootstrap parsimonia/bootstrap máxima verosimilitud/probabilidad posterior). ENG= Centro de México-Guerrero, OG= Oaxaca-Guerrero, SMO= Sierra Madre Occidental, CG= Chiapas-Guatemala.

### ***Diferenciación genética, estructura poblacional e historia demográfica.***

Los resultados de la AMOVA se presentan en la Tabla 4. Puede observarse una estructura geográfica significativa tanto para los datos concatenados como para los genes considerados por separado. Más de la mitad de la variación es explicada por el componente de variación entre grupos ( $\Phi_{ct}$ ), representado por las diferentes cadenas montañosas. Es de notar que el arreglo que divide a la Sierra Madre del Sur en dos porciones (Guerrero y Oaxaca) presenta valores de  $\Phi_{ct}$  ligeramente superiores. En base a estos resultados, se decidió agrupar las localidades en regiones para los análisis poblacionales: Eje Neovolcánico Transversal (ENT), Sierra Madre Occidental (SMO), Oaxaca (OAX), Guerrero (GUE) y Chiapas-Guatemala (CG, poblaciones de *E. versicolor*).

Como puede observarse por las distancias genéticas, existe una divergencia muy marcada para varios de los grupos considerados (Tabla 5). Puede notarse por las distancias corregidas que las poblaciones de *E. versicolor* fueron las más divergentes. La mayor divergencia se presenta entre los individuos de *melanauris* (SMO) y los de *E. versicolor* (más de 44% para los datos concatenados), mientras que la menor fue entre las poblaciones del Eje Neovolcánico y Guerrero (casi 1 % para los datos concatenados). Las diferencias entre *melanauris* respecto a los demás grupos también fueron considerables (entre 14.99% y 19.61% con los fragmentos concatenados). Considerando a Oaxaca, el porcentaje de divergencia respecto a las poblaciones de Eje Neovolcánico fueron bastantes altas (12.07% datos concatenados) aunque menores con respecto a Guerrero (5.96% datos concatenados). Notablemente, al considerar las regiones mitocondriales por separado, el citocromo b mostró la mayor divergencia y las ATPasas la menor.

En general, puede observarse una predominancia de estabilidad demográfica en las poblaciones estudiadas, a juzgar por la alta diversidad genética y los valores de  $F_s$  y  $R_2$  no significativos (Tabla 6), así como por las gráficas de “Mismatch” que no se ajustan a un modelo de expansión poblacional (Figuras 5 y 6). Una excepción la constituyen las poblaciones de ENT, que al parecer han experimentado expansión demográfica, como lo sugieren de forma recurrente las pruebas de neutralidad (Tabla 6) y las curvas unimodales

de las distribuciones “Mismatch” (Figuras 5 y 6). Debe mencionarse que los valores para SMO están sesgados debido a un tamaño de muestra de dos individuos.

**Tabla 4.-** Resultados de la AMOVA. Las agrupaciones se refieren a las siguientes zonas:(ENT)= Eje Neovolcánico Transversal, (OAX)= Oaxaca, (GUE)= Guerrero, (SMO)=Sierra Madre Occidental, (CG)= Chiapas-Guatemala. (G.L.) = grados de libertad, (+)= valores significativos.

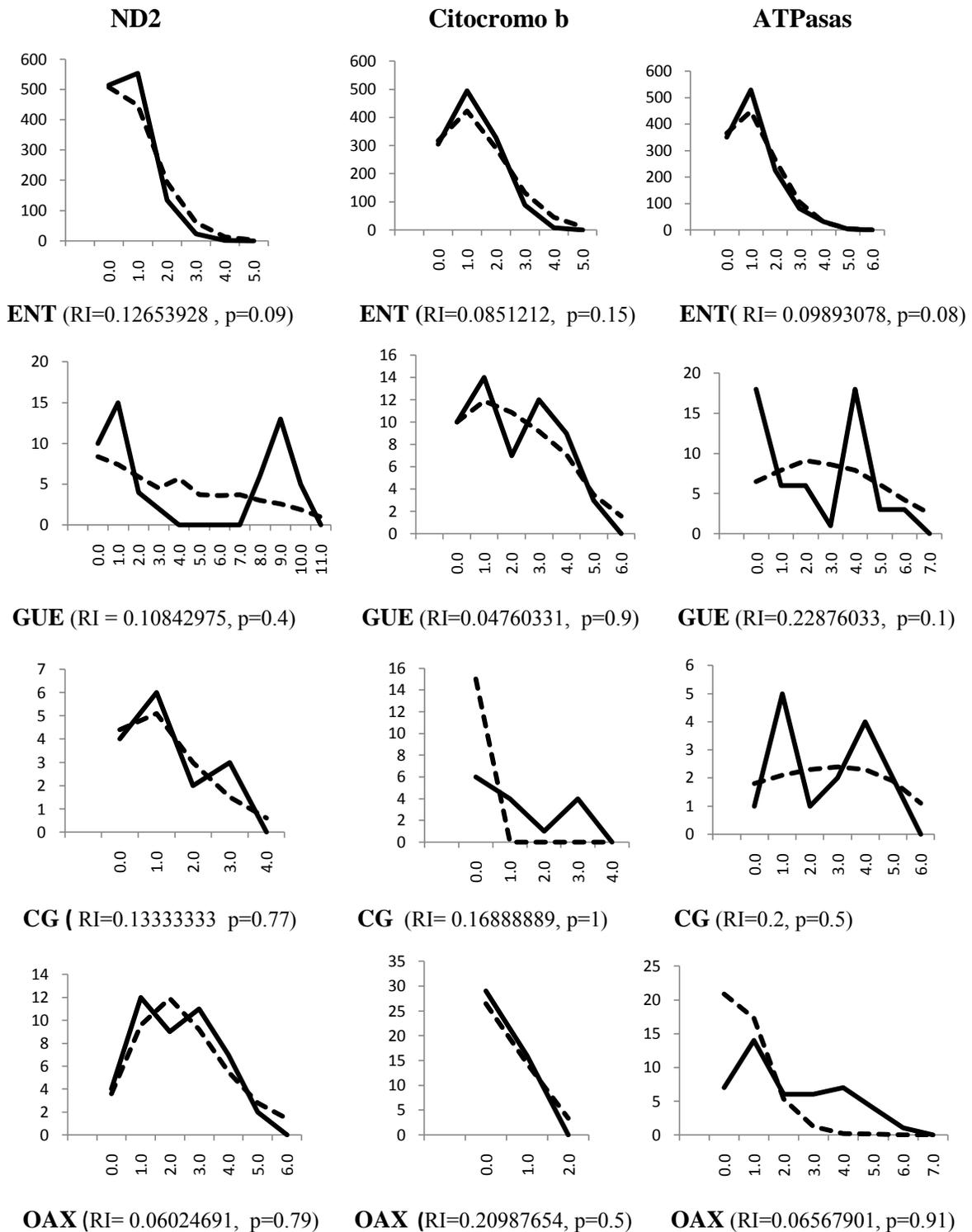
<b>Agrupación</b>	<b>Fuente de Variación</b>	<b>G.L.</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>Componentes de Varianza</b>	<b>Porcentaje de Variación</b>
<b>(ENT)(OAX)(GUE) (SMO)(CG)</b>	<b>Concatenadas</b>				
	Entre grupos ( $\phi_{ct}$ )	4	348.882	7.64492	77.64+
	Entre poblaciones ( $\phi_{sc}$ )	12	37.033	0.25438	2.58+
	Dentro de Poblaciones ( $\phi_{st}$ )	62	120.712	1.94697	19.77+
	<b>ND2</b>				
	Entre grupos ( $\phi_{ct}$ )	4	145.718	3.20618	80.39+
	Entre poblaciones ( $\phi_{sc}$ )	12	13.727	0.10408	2.61+
	Dentro de Poblaciones ( $\phi_{st}$ )	62	42.026	0.67784	17.00+
	<b>Citocromo b</b>				
	Entre grupos ( $\phi_{ct}$ )	4	132.349	2.93365	82.33+
	Entre poblaciones ( $\phi_{sc}$ )	12	9.483	0.04619	1.3
	Dentro de Poblaciones ( $\phi_{st}$ )	62	36.174	0.58344	16.37+
<b>(ENT)(OAX+GUE) (SMO)(CG)</b>	<b>ATPasas</b>				
	Entre grupos ( $\phi_{ct}$ )	4	70.959	1.50794	65.54+
	Entre poblaciones ( $\phi_{sc}$ )	12	13.879	0.10458	4.55+
	Dentro de Poblaciones ( $\phi_{st}$ )	62	42.673	0.68828	29.91+
	<b>Concatenadas</b>				
	Entre grupos ( $\phi_{ct}$ )	3	314.298	7.24146	72.57+
	Entre poblaciones ( $\phi_{sc}$ )	13	71.617	0.79055	7.92+
	Dentro de Poblaciones ( $\phi_{st}$ )	62	120.712	1.94697	19.51+
	<b>ND2</b>				
	Entre grupos ( $\phi_{ct}$ )	3	126.698	2.90037	72.75+
	Entre poblaciones ( $\phi_{sc}$ )	13	32.746	0.40861	10.25+
	Dentro de Poblaciones ( $\phi_{st}$ )	62	42.026	0.67784	17+
<b>Citocromo b</b>					
Entre grupos ( $\phi_{ct}$ )	3	123.26	2.88918	78.93+	
Entre poblaciones ( $\phi_{sc}$ )	13	18.572	0.18758	5.12+	
Dentro de Poblaciones ( $\phi_{st}$ )	62	36.174	0.58344	15.94+	
<b>ATPasas</b>					
Entre grupos ( $\phi_{ct}$ )	3	64.451	1.45416	62.2+	
Entre poblaciones ( $\phi_{sc}$ )	13	20.386	0.19529	8.35+	
Dentro de Poblaciones ( $\phi_{st}$ )	62	42.673	0.68828	29.44+	

**Tabla 5.-** Distancias genéticas. Los valores debajo de la diagonal señalan el porcentaje de distancias pareadas promedio corregidas; los valores arriba de la diagonal indican el porcentaje de distancias pareadas promedio sin corrección; los valores situados en la diagonal muestran el porcentaje de divergencia promedio dentro de las poblaciones del grupo. Las agrupaciones son las mismas de la Tabla 4.

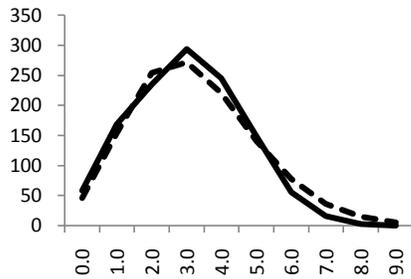
	ENT	SMO	GUE	OAX	CG
<b>ND2</b>					
ENT	0.73331	7.92542	3.11387	8.281	16.06898
SMO	5.54707	4.02339	8.182	8.39414	16.16902
GUE	0.50104	3.92413	4.49236	6.68701	15.71939
OAX	6.78763	5.25573	3.31411	2.25343	14.41673
CG	15.06776	13.52275	12.83864	12.65545	1.26914
<b>Citocromo b</b>					
ENT	1.18684	9.32692	1.8491	3.94675	17.71537
SMO	7.22773	3.01153	9.33849	9.82204	21.7351
GUE	0.20455	6.7816	2.10225	2.8543	17.76915
OAX	3.17519	8.13813	1.62503	0.35629	18.27644
CG	16.52065	19.62803	16.11672	17.497	1.2026
<b>ATP</b>					
ENT	1.12648	5.66271	1.95561	3.78425	8.93931
SMO	4.09565	2.00765	6.44686	8.32187	13.82471
GUE	0.23805	4.28872	2.30864	3.27871	10.03339
OAX	2.1244	6.22144	1.02778	2.19322	11.89575
CG	7.06873	11.51354	7.57173	9.4918	2.61468
<b>Concatenadas</b>					
ENT	3.04186	22.90102	6.90704	15.98783	42.65858
SMO	16.86054	9.0391	23.9518	26.52301	51.65802
GUE	0.94243	14.98858	8.88735	12.79859	43.46681
OAX	12.07085	19.60742	5.95887	4.79209	44.55299
CG	38.59794	44.59876	36.48343	39.61724	5.07941

**Tabla 6.-** Índices de diversidad genética y pruebas de neutralidad por región. (n)= Tamaño de muestra, (#hap)= número de haplotipos, (h)= diversidad haplotípica, (Pi)= diversidad nucleotídica, (Fs)= prueba de Fu, (R2)= prueba R2, (p)= valor de significancia para las pruebas de neutralidad, (+)= valores significativos. Las agrupaciones son las mismas de la Tabla 4.

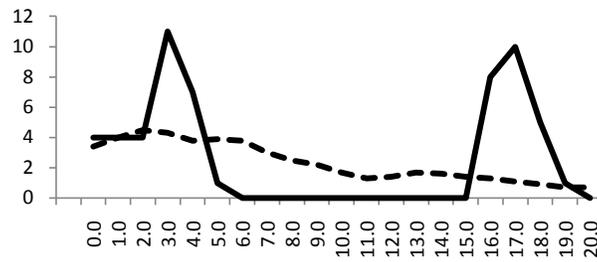
Región	n	#hap	h	Pi	Fs	p	R2	p
<b>ND2</b>								
ENT	50	8	0.5804 +/- 0.0628	0.000864 +/- 0.000725	-4.39469	<b>0.02+</b>	0.0567	<b>0.04+</b>
GUE	11	5	0.8182 +/- 0.0826	0.005291 +/- 0.003183	1.55951	0.81	0.1701	0.60
CG	6	3	0.7333 +/- 0.1552	0.001495 +/- 0.001252	0.20897	0.41	0.2678	0.67
SMO	2	2	1.0000 +/- 0.5000	0.004739 +/- 0.005295	1.38629	0.45	0.5	1
OAX	10	7	0.9111 +/- 0.0773	0.002654 +/- 0.001800	-2.90554	<b>0+</b>	0.1345	0.085
<b>Citocromo b</b>								
ENT	50	12	0.7510 +/- 0.0500	0.001398 +/- 0.001012	-7.10051	<b>0+</b>	0.0644	0.098
GUE	11	5	0.8182 +/- 0.0826	0.002475 +/- 0.001685	-0.29292	0.44	0.1892	0.62
CG	6	3	0.6000 +/- 0.2152	0.001418 +/- 0.001204	0.11694	0.51	0.2639	0.48
SMO	2	2	1.0000 +/- 0.5000	0.003550 +/- 0.004098	1.09861	0.47	0.5	1
OAX	10	2	0.3556 +/- 0.1591	0.000420 +/- 0.000501	0.4167	0.35	0.1778	0.24
<b>ATPasas</b>								
ENT	50	10	0.7127 +/- 0.0651	0.001674 +/- 0.001229	-4.76112	<b>0.01+</b>	0.0556	<b>0.04+</b>
GUE	11	4	0.6727 +/- 0.1232	0.003430 +/- 0.002291	1.08919	0.76	0.1527	0.29
CG	6	5	0.9333 +/- 0.1217	0.003885 +/- 0.002779	-1.5652	0.1	0.1572	0.06
SMO	2	2	1.0000 +/- 0.5000	0.002983 +/- 0.003651	0.69315	0.35	0.5	1
OAX	10	6	0.8444 +/- 0.1029	0.003259 +/- 0.002222	-1.61059	0.06	0.1116	<b>0.01+</b>
<b>Concatenadas</b>								
ENT	50	27	0.9527 +/- 0.0161	0.001283 +/- 0.000755	-21.91362	<b>0+</b>	0.0504	<b>0.02+</b>
GUE	11	8	0.9273 +/- 0.0665	0.003750 +/- 0.002114	-0.03884	0.52	0.1576	0.52
CG	6	6	1.0000 +/- 0.0962	0.002143 +/- 0.001398	-2.13455	<b>0.02+</b>	0.1865	0.29
SMO	2	2	1.0000 +/- 0.5000	0.003814 +/- 0.004019	2.19722	0.66	0.5	1
OAX	10	8	0.9556 +/- 0.0594	0.002022 +/- 0.001220	-2.11372	0.13	0.1133	0.039



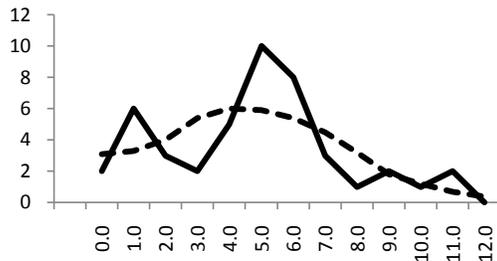
**Figura 5.-** Distribuciones “Mismatch” para ND2 (primera columna), citocromo b (segunda columna) y ATPasas (tercera columna). Las líneas sólidas corresponden a las frecuencias observadas de diferencias nucleotídicas pareadas y las líneas punteadas a las frecuencias simuladas de acuerdo a un modelo de expansión. (RI)=Índice de “Raggedness”. Las agrupaciones son las mismas de la Tabla 4.



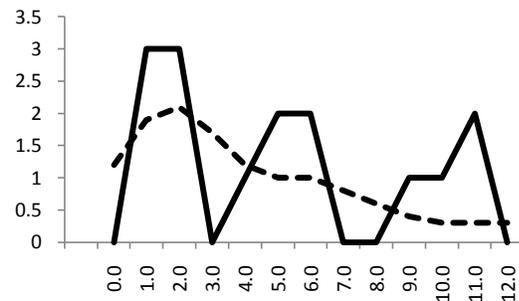
**ENT** (RI= 0.02812295, p=0.54)



**GUE** ( RI= 0.07008264, p=0.45)



**OAX** (RI=0.04938272, p=0.64)



**CG** (RI= 0.13333333, p=0.68)

**Figura 6.-** Distribuciones “Mismatch” para los fragmentos concatenados. Las líneas sólidas corresponden a las frecuencias observadas de diferencias nucleotídicas pareadas y las punteadas a las frecuencias simuladas de acuerdo a un modelo de expansión. (RI)=Índice de “Raggedness”. Las agrupaciones son las mismas de la Tabla 4.

### ***Estimación de tiempos de divergencia.***

Las estimaciones de tiempos de divergencia obtenidas con BEAST señalan que la separación entre el clado CG y el resto del complejo ocurrió hace alrededor de 2.28 millones de años (M.A.) (intervalo de confianza del 95% de 1.15 a 3.02 M.A.). La divergencia entre el clado SMO y el resto de *Ergaticus* sucedió alrededor de 1.13 M.A (intervalo de confianza del 95% de 572, 000 años a 1.67 M.A). La divergencia entre el clado OG y el clado ENG se estima en 748, 000 años (intervalo de confianza del 95% de 471, 000 años a 1.39 M.A). Por último la consolidación del clado ENG está estimada en 348, 000 años (intervalo de confianza del 95% de 184, 000 años a 660, 000 años).

## DISCUSIÓN

### *Patrones de variación geográfica e historia demográfica.*

Los resultados obtenidos muestran la existencia de una marcada estructura genética en las poblaciones de *Ergaticus*, la cual corresponde geográficamente con los sistemas montañosos en los que se encuentran. Estos resultados observados son similares a los obtenidos para otros grupos de aves montañas distribuidas en Mesoamérica (García-Moreno *et al.*, 2004; Milá *et al.*, 2006; Cadena *et al.*, 2007; Milá *et al.*, 2007a, 2007b; Bonaccorso *et al.*, 2008; Navarro-Sigüenza *et al.*, 2008; McCormack *et al.*, 2008b; Puebla-Olivares *et al.*, 2008; Weir *et al.*, 2008). En principio pueden distinguirse cuatro grupos bien diferenciados que contienen a las poblaciones de cada región montañosa.

Aunque los agrupamientos fueron consistentes, hay que señalar que existen ciertas discrepancias observadas entre las hipótesis filogenéticas obtenidas para cada uno de los tres genes por separado. La pobre resolución presentada por el árbol de las ATPasas es indicio de que este marcador no es el adecuado para este tipo de análisis debido a su aparentemente alta tasa de cambio. La tasa a la que evoluciona determinada región mitocondrial puede afectar su señal filogenética (Mueller, 2006), y es sabido que la región que codifica para la ATPasa 8 se encuentra entre las que tienen una mayor tasa de cambio en todo el genoma mitocondrial. Según Zardoya & Meyer (1996), las ATPasas no se caracterizan por poseer una buena señal filogenética, no obstante, para especies de divergencia muy reciente se esperaría que fueran apropiados (Hewitt, 2001; Mueller, 2006; McCormack *et al.*, 2008a). Al parecer en este caso, la región en cuestión evoluciona tan rápido que experimenta saturaciones en sitios informativos causadas por mutaciones recurrentes que aparecen en un periodo de tiempo muy corto, lo que puede llevar a estimaciones incorrectas o inconsistentes por la convergencia de caracteres provocada por dichas saturaciones (Felsenstein, 1978; Mueller, 2006). Las menores distancias genéticas observadas para las ATPasas también sugieren una mayor tasa de cambio (Tabla 5). Genes con una tasa de cambio menor son adecuados para exploraciones filogenéticas más profundas (Hewitt, 2001; Mueller, 2006), lo que se observa en este estudio por la mejor

resolución obtenida para los fragmentos de ND2 y citocromo b. Esto sugiere que las divergencias dentro del complejo *Ergaticus* no son tan recientes como podría esperarse en una superespecie (sensu Sibley & Monroe, 1990). Si las discrepancias entre árboles obtenidos de genes diferentes son menores y no tienen buen soporte (como en este caso) es mejor considerar las hipótesis filogenéticas obtenidas a partir de los datos combinados, puesto que son más precisas, y por tanto, más informativas (Wiens, 1998).

Por los demás, los cuatro clados obtenidos mediante los tres criterios de reconstrucción filogenética presentan soportes significativos (valores de bootstrap y probabilidad posterior). El clado de CG corresponde a la especie *E. versicolor*, el de SMO contiene a las formas *melanauris*, mientras que OG contiene las formas *rowleyi*. No es muy claro lo que sucede para el Eje Neovolcánico Transversal y la Sierra Madre del Sur, puesto que haplotipos correspondientes a la forma *rowleyi* de Guerrero se agrupan en dos clados diferentes: la mayoría de ellos conforman un clado junto con los haplotipos de la forma *ruber* provenientes del Eje Neovolcánico (ENG), mientras que tres de ellos se agrupan junto con los haplotipos de Oaxaca (OG).

De acuerdo a lo anterior, se podría decir que se presenta un gradiente Norte-Sur desde las montañas del centro de México hasta Oaxaca, aunque de manera casi imperceptible, dado que casi todos los haplotipos de Oaxaca son únicos y no se comparten con otras regiones. Esto último, aunado a que sus poblaciones parecen estables demográficamente, sugiere un tiempo de aislamiento considerable para las montañas de Oaxaca. El alto grado de diferenciación para esta zona en particular es consistente con otros estudios que señalan la singularidad de la fauna montana de Oaxaca (Binford, 1989; García-Moreno *et al.*, 2004; Cadena *et al.*, 2007; Bonacorsso *et al.*, 2008; Navarro-Sigüenza *et al.*, 2008; León-Paniagua *et al.*, 2006; Puebla-Olivares *et al.*, 2008; Weir *et al.*, 2008). La presencia de barreras biogeográficas como el valle de Tehuacán-Cuicatlán y la cuenca del Río Santo Domingo al Norte, la cuenca del Río Verde al Oeste y las tierras bajas del Istmo de Tehuantepec al Este ha contribuido al aislamiento de muchas especies montanas de esta zona (Binford, 1989; Puebla-Olivares *et al.*, 2008).

Es difícil proporcionar una explicación para lo que sucede en las montañas de Guerrero, ya que entre esta región y el Eje Neovolcánico se encuentra la depresión del Balsas, que constituye una importante barrera para especies montañas (Marshall & Liebherr, 2000; Sánchez-González *et al.*, 2008), mientras que la cuenca del Río Verde, que al parecer también es una barrera importante (Puebla-Olivares *et al.*, 2008), la separa de las montañas de Oaxaca. A este respecto, los resultados de las distribuciones “Mismatch” y las pruebas de neutralidad para Guerrero sugieren estabilidad demográfica. Una posibilidad que hay que considerar es la existencia de flujo génico ocasional, aunque este no parece ser el caso entre las poblaciones del Eje Neovolcánico y Guerrero. Para la región del Eje Neovolcánico las distribuciones “Mismatch” y los valores de las pruebas de neutralidad sugieren un evento de expansión demográfica. De igual forma, la falta de estructura genética y los relativamente bajos valores de diversidad genética observados para estas poblaciones son un rasgo característico de expansión demográfica (Hewitt, 1996). Entonces, una explicación más plausible es que las poblaciones del Eje Neovolcánico y las de Guerrero se hayan separado entre sí en tiempos relativamente recientes y lo que se observa son haplotipos ancestrales coexistiendo en estas poblaciones debido a un fenómeno de sorteo de linajes incompleto (Funk & Omland, 2003; McKay & Zink, 2010). De esta forma, los diferentes linajes alélicos aún no han coalescido y deberá transcurrir un tiempo considerable antes de que estas poblaciones alcancen la monofilia recíproca. La predominancia de haplotipos compartidos con Guerrero para el agrupamiento ENG en las redes de haplotipos apoya también esta afirmación. La cercana relación entre las poblaciones de Guerrero y el Eje Neovolcánico para aves del género *Arremon* (Cadena *et al.*, 2007; Navarro-Sigüenza *et al.*, 2008) parece documentar un proceso de separación similar en esta región, aunque en un estado más avanzado.

Los haplotipos de la Sierra Madre Occidental presentan un muy alto grado de diferenciación. La separación observada en la red de haplotipos y los árboles, las distancias genéticas y los valores obtenidos por las pruebas de neutralidad indican lo anterior. Esta región también es característica por presentar altos grados de endemismo para otros grupos de aves, (Escalante-Pliego *et al.*, 1998; Milá *et al.*, 2007a; McCormack *et al.*, 2008b; Medina-Macías *et al.*, 2010). Las tierras bajas de la depresión del Bajío constituyen una

importante barrera biogeográfica que separan esta zona de las montañas del Eje Neovolcánico (Marshall & Liebherr, 2000). No hay que descartar la posibilidad de que el reducido tamaño de muestra para esta zona pueda estar produciendo los patrones observados (García-Moreno *et al.* 2006). A pesar de esto, combinando los tres segmentos secuenciados se puede obtener un estimado bastante confiable del grado de diferenciación, dada la clara separación de estos individuos respecto a las demás poblaciones.

Por su parte, los haplotipos de *E. versicolor* mostraron el mayor grado de diferenciación y una aparente estabilidad demográfica. Su separación respecto de las otras poblaciones de *Ergaticus* era de esperarse debido a que las poblaciones de esta especie sólo se distribuyen en las montañas al Este del Istmo de Tehuantepec. La importancia de las tierras bajas del Istmo de Tehuantepec como una barrera biogeográfica está ampliamente reconocida (Pérez Emán, 2005; León-Paniagua *et al.*, 2006; Cortés-Rodríguez *et al.*, 2008; Sánchez-González *et al.*, 2008; Weir *et al.*, 2008; Bonaccorso, 2009; Castoe *et al.*, 2009; Barber & Klicka, 2010) con numerosos casos de taxa montanos que presentan grupos altamente divergentes en lados opuestos del Istmo.

### ***Tiempos de divergencia e historia evolutiva.***

Los tiempos de divergencia estimados sugieren que todos los grupos dentro del complejo *Ergaticus* se originaron en un segmento de tiempo ubicado entre finales del Plioceno y Medios del Pleistoceno. En primer lugar, la divergencia estimada para *E. versicolor* y el resto del complejo se sitúa entre finales del Plioceno e inicios del Pleistoceno. Dicha estimación se encuentra muy cercana a un evento acontecido hace aproximadamente 3 millones de años, en el cuál un corredor continuo de tierras altas en el Istmo de Tehuantepec fue fragmentado debido a la actividad tectónica relacionada a la subducción de la placa de Cocos (Barrier *et al.*, 1998). Como resultado, las tierras altas al Este y al Oeste del Istmo quedaron separadas, detonando la posterior diferenciación de ciertos taxa distribuidos en la zona (Castoe *et al.*, 2009; Sánchez-González *et al.*, 2008; Barber & Klicka, 2010). Dicho evento probablemente afectó también al ancestro común de

todo el género *Ergaticus* provocando la primera divergencia en el complejo y configurando su distribución actual respecto al Istmo.

Las demás fechas estimadas abarcan un intervalo de tiempo que va de inicios a mediados del Pleistoceno. Dicho intervalo cae dentro de un período que se caracterizó por importantes oscilaciones climáticas, influenciadas por los ciclos de Milankovitch, con ciclos glaciares e interglaciares de cierta periodicidad y de intensidades diferentes (Bennet, 1990; Webb & Bartlein, 1992; Hewitt, 1996; Zachos *et al.* 2001; EPICA, 2004). Sin importar si los intervalos de confianza para las fechas de divergencia estimadas se superponen entre sí, se puede afirmar con seguridad que dichas fechas caen fuera del último máximo glacial. Lo anterior contrasta con el modelo de “origen de finales del Pleistoceno”, invocado frecuentemente para los eventos de diversificación de muchos taxa de aves (Hubbard 1973; Avise & Walker, 1998; Johnson & Cicero, 2004) y se adecúa a un modelo de diversificación que se remonta a un período más antiguo que las últimas dos glaciaciones (Klicka & Zink, 1997, 1999; Zink, *et al.*, 2004; Zink & Klicka, 2006).

Las intensas fluctuaciones climáticas acontecidas a lo largo del Pleistoceno en el hemisferio Norte también influenciaron los regímenes climáticos en el Neotropico; concretamente en las regiones montañosas, cuya avifauna fue afectada por continuos procesos de fragmentación y reconexión de los hábitats montanos, resultando en una elevada tasa de diversificación (Weir, 2006). De esta forma, fenómenos paralelos afectaron tanto a la avifauna de las regiones boreales del Neártico como a la avifauna distribuida en tierras altas más hacia al Sur (Weir & Schluter, 2004; Weir, 2006). Para México en particular, existen evidencias que sugieren la existencia de grandes bosques templados anteriormente continuos que fueron fragmentados secuencialmente por los cambios climáticos hasta alcanzar sus distribuciones actuales en los diferentes sistemas montañosos (McDonald, 1998; Luna *et al.*, 1999; Kapelle, 2006). Probablemente el ancestro común de todas las poblaciones de *E. ruber* contaba con una amplia distribución a inicios del Pleistoceno y fue fragmentándose consecutivamente durante los cálidos períodos interglaciares, originando los grupos presentes en la actualidad. Considerando en su conjunto los estimados de tiempos de divergencia con otras evidencias ya mencionadas, es

posible sugerir que las poblaciones más jóvenes del complejo *Ergaticus* son aquellas restringidas al Eje Neovolcánico. Dichas poblaciones posiblemente se originaron a partir de un ancestro común proveniente de las montañas de Guerrero hace aproximadamente 348,000 años, cuando ambas regiones fueron aisladas por el aumento de las temperaturas durante un período interglacial acontecido en el intervalo de 450-300,000 años antes del presente (Webb & Bartlein, 1992; EPICA, 2004).

Se debe recalcar que todas estas estimaciones están basadas en un modelo de reloj molecular relajado sin autocorrelación en las tasas de sustitución. Este método permite estimar tiempos de divergencia cuando los linajes estudiados no presentan tasas de sustitución constantes (como revelaron las pruebas de razón de verosimilitud) asumiendo que estas varían de manera aleatoria (Drummond *et al.*, 2006). Sin embargo, hasta el momento no existe método para saber con certeza si las tasas de sustitución varían de manera aleatoria o evolucionan de manera autocorrelacionada entre linajes cercanos. A este respecto, es recomendable combinar estas estimaciones con aquellas obtenidas mediante métodos que asuman autocorrelación de tasas de sustitución, a fin de obtener estimaciones más robustas (Battistuzzi *et al.*, 2010).

Otro punto a destacar es el supuesto implícito en la calibración empleada para el reloj molecular. En dicho supuesto se asume que la formación del Istmo de Tehuantepec tuvo efecto en la divergencia del ancestro común de *Cardellina* y *Ergaticus*. No obstante, las calibraciones basadas en eventos biogeográficos tienden a subestimar las fechas por la incertidumbre inherente respecto al momento de colonización por el ancestro común (Ho, 2007; Weir & Schluter, 2008). De esta forma, el evento en cuestión no necesariamente tuvo un rol funcional en la divergencia del hipotético ancestro común, ya que éste pudo haber colonizado nuevas áreas antes o después de la datación empleada en la calibración. El uso de una distribución paramétrica normal en la calibración permite incorporar y modelar la naturaleza bidireccional de esta incertidumbre, aunque la especificación del nivel de incertidumbre es algo subjetiva (Ho, 2007).

### ***Implicaciones taxonómicas***

Los resultados obtenidos ponen en evidencia la necesidad de una revisión taxonómica más profunda del complejo a la luz de los marcados patrones de divergencia genética encontrados. Helbig *et al.* (2002), siguiendo el concepto de linaje general de especie, señala que las especies son linajes evolutivos que mantienen su integridad respecto a otros linajes a través del tiempo y el espacio y son diagnosticados en base a múltiples criterios (De Queiroz, 1998; 2007). De acuerdo a lo anterior, varias líneas de evidencia sugieren la presencia de cuatro linajes independientes dentro del complejo (Apéndice 4): diferentes clados reconocidos por robustos soportes de bootstrap y de probabilidad posterior; una marcada estructura genética de las poblaciones indicada por la AMOVA; distancias genéticas con divergencias similares o incluso más profundas que aquellas observadas entre otras especies ya reconocidas de la misma familia (Milá *et al.*, 2007a; 2008); por último, diferenciación morfológica reconocible (coloración). Cabe mencionar que la mayoría de estos criterios, están basados en el análisis de ADNmt. A pesar de las críticas que ha recibido el uso de ADNmt para la delimitación de especies (Edwards *et al.*, 2005; Edwards & Bensch, 2009), este marcador ha probado seguir siendo de gran utilidad al proporcionar una evaluación inicial de los límites de especies (Zink & Barrowclough, 2008; Barrowclough & Zink, 2009), que puede ser corroborada posteriormente mediante el uso de otros caracteres. Se sugiere entonces que las poblaciones correspondientes a *E. r. melanauris* de la Sierra Madre Occidental deben elevarse a categoría de especie de acuerdo a la propuesta de Navarro-Sigüenza & Peterson (2004) (Apéndice 4). De igual forma, las poblaciones de Oaxaca correspondientes a *E. r. rowleyi* también merecen esta distinción (Apéndice 4). Los criterios empleados apuntan hacia la ausencia de flujo génico entre los diferentes linajes (con una probable excepción entre ciertas poblaciones de Guerrero y Oaxaca), por lo que incluso serían especies válidas bajo el concepto biológico de especie, aunque esto debe confirmarse con el uso de marcadores nucleares. Asimismo, es necesario corroborar la independencia evolutiva de los linajes encontrados mediante un análisis más riguroso de la morfología, así como analizando otros caracteres como vocalizaciones, comportamiento, etc. Esto es más importante para los individuos asignados a la subespecie *rowleyi* bajo la taxonomía tradicional, que genéticamente se dividen en grupos distintos.

Debe mencionarse que el hecho de que las poblaciones de Guerrero no estén diferenciadas genéticamente de las formas *ruber* del Eje Neovolcánico sugiere que el plumaje en este grupo puede ser un carácter muy plástico, de rápida evolución y propenso a la convergencia, como ha sido propuesto para otros grupos de aves montañas (Pérez- Emán, 2005; Cortés-Rodríguez *et al.*, 2008; Navarro-Sigüenza *et al.*, 2008). Hasta no contar con otros caracteres adicionales para analizar, la situación taxonómica de estas poblaciones de Guerrero permanecerá incierta.

## CONCLUSIONES

Los marcados niveles de divergencia genética, consistentes con otros estudios ya mencionados, sugieren tiempos de aislamiento considerables para las poblaciones del complejo *Ergaticus*, lo que ha resultado en la evolución de cuatro linajes independientes. Este aislamiento se ha mantenido gracias a las tierras bajas que separan a los diferentes sistemas montañosos donde se encuentran dichas poblaciones, las cuales actúan como barreras geográficas. La falta de diferenciación genética entre las poblaciones de Guerrero y aquellas limitadas al Eje Neovolcánico Transversal posiblemente se deba a un evento de expansión demográfica relativamente reciente. Los patrones de variación geográfica observados probablemente son consecuencia de los efectos de diferentes eventos geológicos y climáticos acontecidos durante los últimos 3 millones de años. Los resultados de este trabajo sientan las bases para futuros estudios enfocados en otros aspectos de la variación geográfica del complejo (vocalizaciones, nicho ecológico, comportamiento, etc.). Estos estudios serán necesarios a fin de someter a prueba en otros niveles las conclusiones inferidas en este primer marco de investigación sobre las relaciones evolutivas, la historia biogeográfica y los límites de especies de dicho complejo. En este procedimiento se encuentra implícita la idea de una “aproximación iterativa” para los estudios de variación geográfica con caracteres moleculares (filogeografía); en la que ciclos sucesivos de investigación van acumulando una línea de evidencia que puede ser consistente con un conjunto de mecanismos causales (Buckley, 2009). Esta aproximación difiere de la típica prueba de hipótesis de los estudios frecuentistas, los cuales difícilmente pueden captar la complejidad de los procesos históricos subyacentes en los patrones de variación geográfica.

## LITERATURA CITADA

- Acosta, S. 2004. Afinidades de la flora genérica de algunos bosques mesófilos de montaña del Nordeste, Centro y Sur de México: un enfoque fenético. *Anales del Instituto de Biología, Serie Botánica*. 75: 61-72.
- American Ornithologists' Union. 1998. Check-list of North American birds. 7th ed. American Ornithologists' Union, Washington, D.C. 829 pp.
- Avise, J. C. & Walker, D. 1998. Pleistocene phylogeographic effects on avian populations and the speciation process. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*. 265: 457-463.
- Baird, S. F. 1865. Review of American Birds. Part 1. *Smithsonian miscellaneous collections*. 181: 235-262.
- Baker, A. J. 2008. Islands in the sky: the impact of Pleistocene climate cycles on biodiversity. *Journal of Biology*. 7: 32.
- Bandelt, H. J., Forster, P. & Röhl, A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*. 16: 37-48.
- Barber, B. R. & Klicka, J. 2010. Two pulses of diversification across the Isthmus of Tehuantepec in a montane Mexican bird fauna. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*. In Press: doi: 10.1098/rspb.2010.0343.
- Barrier, E., Velasquillo, L., Chavez, M. & Gaulon, R. 1998. Neotectonic evolution of the Isthmus of Tehuantepec (Southeastern Mexico). *Tectonophysics*. 287: 7-96.
- Barrowclough, G. F. & Zink, R. M. 2009. Funds enough, and time: mtDNA, nuDNA and the discovery of divergence. *Molecular Ecology*. 18: 2934-2936.
- Battistuzzi, F. U., Filipowski, A., Hedges, S. B. & Kumar, S. 2010. Performance of relaxed-clock methods in estimating evolutionary divergence times and their credibility intervals. *Molecular Biology and Evolution*. 27: 1289-1300.
- Bennet, K. D. 1990. Milankovitch cycles and their effects on species in ecological and evolutionary time. *Paleobiology*. 16:11-21.
- Binford, L. C. 1989. A distributional survey of the birds of the Mexican state of Oaxaca. *Ornithological Monographs No. 43*. The American Ornithologists Union, Washington D.C. 418 pp.
- Bonaccorso, E. 2009. Historical biogeography and speciation in the neotropical highlands: Molecular Phylogenetics of the jay genus *Cyanolyca*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 50: 618-632.

- Bonaccorso, E., Navarro-Sigüenza A. G., Sánchez-González, L. A., Peterson A. T. & García-Moreno, J. 2008. Genetic differentiation of the *Chlorospingus ophthalmicus* complex in Mexico and Central America. *Journal of Avian Biology*. 39: 311-321.
- Buckley, D. 2009. Toward an organismal, integrative, and iterative phylogeography. *BioEssays*. 31: 784-93.
- Cadena, C.D., Klicka, J. & Ricklefs, R.E., 2007. Evolutionary differentiation in the Neotropical montane region: molecular phylogenetics and phylogeography of *Buarremon* brush-finches (Aves, Emberizidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 44: 993–1016.
- Castoe, T., Daza, J. M., Smith, E., Mahmood, M. S., Kuch, U., Campbell, J. A., Chippindale, P. T. & Parkinson C. L. 2009. Comparative phylogeography of pitvipers suggests a consensus of ancient Middle American highland biogeography. *Journal of Biogeography*. 36: 88-103.
- Cortés-Rodríguez, N., Hernández-Baños, B. E., Navarro-Sigüenza, A. G., Peterson, A. T. & García-Moreno, J. 2008. Phylogeography and population genetics of the Amethyst-throated Hummingbird (*Lampornis amethystinus*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 48:1- 11.
- Coyne, J. A. & Orr, H. A. 2004. *Speciation*. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts. 545 pp.
- Cracraft, J. & Prum, R. O. 1988. Patterns and processes of diversification: speciation and historical congruence in some Neotropical birds. *Evolution*. 42: 603-620.
- Curson, J., Quinn, D. & Beadle, D. 1995. *New World Warblers*. Christopher Helm Publishing Company, London. 252 pp.
- De Queiroz, K. 1998. The general lineage concept of species, species criteria, and the process of speciation: A conceptual unification and terminological recommendations. In: *Endless forms: Species and Speciation* (Howard, D. J. & Berlocher, S. H.) pp 57-75. Oxford University Press, New York.
- De Queiroz, K. 2007. Species concepts and species delimitation. *Systematic Biology*. 56: 879-886.
- Drummond, A. J. & Rambaut, A. 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology*. 7: 214.
- Drummond, A. J., Ho, S. Y. W., Phillips, M. J. & Rambaut, A. 2006. Relaxed phylogenetics and dating with confidence. *PLoS Biology*. 4: 699-710.
- Edwards, S. & Bensch, S. 2009. Looking forwards or looking backwards in avian phylogeography? A comment on Zink and Barrowclough 2008. *Molecular ecology*. 18: 2930-2933.
- Edwards, S. V., Kingan, S. B., Calkins, J. D., Balakrishnan, C. N., Jennings, W. B., Swanson, W. J. & Sorenson, M. D. 2005. Speciation in birds: genes, geography, and sexual selection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 102: 6550-6557
- EPICA community members. 2004. Eight glacial cycles from an Antarctic ice core. *Nature*. 429: 623-628.

- Escalante-Pliego, P., Navarro-Sigüenza, A. G. & Peterson, A. T. 1998. Un análisis geográfico, ecológico e histórico de la diversidad de aves terrestres de México. In: *Diversidad biológica de Mexico: Orígenes y Distribución* (T. P. Ramamoorthy, R. Bye, A. Lot, and J. Fa,) pp 279-304. Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México.
- Escalante, P., Márquez-Valdelamar, L., De la Torre, P., Laclette, J. P. & Klicka, J. 2009. Evolutionary history of a prominent North American warbler clade: the *Oporonis-Geothlypis* complex. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 53: 668-678.
- Excoffier, L., Smouse, P. E. & Quattro, J. M. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*. 131: 479–491.
- Excoffier, L., Laval, G. & Schneider, S. 2005. ARLEQUIN (version 3.0.): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*. 1:47-50.
- Felsenstein, J. 1978. Cases in which parsimony or compatibility methods will be positively misleading. *Systematic Zoology*. 27: 401–410.
- Felsenstein, J. 1981. Evolutionary trees from DNA sequences: A maximum likelihood approach. *Journal of Molecular Evolution*. 17: 368-376.
- Ferrusquia-Villafranca, V. I. 1998. Geología de México: Una sinopsis. In: *Diversidad biológica de Mexico: Orígenes y Distribución* (T. P. Ramamoorthy, R. Bye, A. Lot, and J. Fa,) pp 3-108. Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México.
- Fu, Y. X. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*. 147: 915-925.
- Funk, D. J. & Omland, K. E. 2003. Species-level paraphyly and polyphyly: frequency, causes, and consequences, with insights from animal mitochondrial DNA. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*. 34: 397-423.
- García-Moreno, J., Navarro-Sigüenza, A. G., Peterson, A. T. & Sánchez-González, L. A. 2004. Genetic variation coincides with geographic structure in the Common Bush-tanager (*Chlorospingus ophthalmicus*) complex from Mexico. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 33: 186-196.
- García-Moreno, J., Cortés, N., García-Deras, G. M. & Hernández-Baños, B. E. 2006. Local origin and diversification among *Lampornis* hummingbirds: a Mesoamerican taxon. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 38: 488-491.
- Goloboff, P. A., Farris, J. S. & Nixon, K. C. 2008. TNT, a free program for phylogenetic analysis. *Cladistics*. 24: 774-786.
- Graves, G. R. 1985. Elevational correlates of speciation and intraspecific geographic variation in plumage in Andean forest birds. *Auk*. 102: 556-579.
- Graves, G. R. 1988. Linearity of geographic range and its possible effect on the population structure of Andean birds. *Auk*. 105: 47-52.

- Hackett S. J. 1996. Molecular phylogenetics and biogeography of tanagers in the genus *Ramphocelus* (Aves). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 5: 368–382.
- Hall, T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium*. 41: 95–98.
- Helbig, A. J., Knox, A. G., Parkin, D. T., Sangster, G. & Collinson, M. 2002. Guidelines for assigning species rank. *Ibis*. 144: 518 - 525.
- Hernández-Baños, B., Peterson, A. T., Navarro-Sigüenza, A. G. & Escalante-Pliego, B. P. 1995. Bird faunas of the humid montane forests of Mesoamérica: biogeographic patterns and priorities for conservation. *Bird Conservation International*. 5: 251-277.
- Hewitt, G. M. 1996. Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biological Journal of the Linnean Society*. 58: 247-276.
- Hewitt, G. M. 2001. Speciation, hybrid zones and phylogeography- or seeing genes in space and time. *Molecular Ecology*. 10: 537-549.
- Hillis, D. M. & Bull, J. J. 1993. An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analyses. *Systematic Biology*. 42: 182–192.
- Ho, S. Y. W. 2007. Calibrating molecular estimates of substitution rates and divergence times in birds. *Journal of Avian Biology*. 38: 409-414.
- Howell, S. N.G. & Webb, S. 1995. *A Guide to the Birds of Mexico and Northern Central America*. Oxford University Press, Oxford. 1010pp.
- Hubbard, J. P. 1973. Avian evolution in the aridlands of North America. *Living Bird*. 12:155-196.
- Huelsenbeck, J. P., & Ronquist, F. 2001. MrBayes: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics*. 17: 754–755.
- Huelsenbeck, J. P., Laraget, B., Miller, R. E. & Ronquist, F., 2002. Potential applications and pitfalls of bayesian inference of phylogeny. *Systematic Biology*. 51: 673–688.
- Johansson, U. S., Irestedt, M., Parsons, T. J. & Ericson, P. G. P. 2002. Basal phylogeny of the Tyrannoidea based on comparisons of cytochrome b and exons of nuclear c-myc and RAG-1 genes. *Auk*. 119: 984–995.
- Johnson, N. K. & Cicero, K. 2004. New Mitochondrial DNA data affirm the importance of Pleistocene speciation in North American birds. *Evolution*. 58: 1122-1130.
- Johnson, K. P. & Sorenson, M. D. 1998. Comparing molecular evolution in two mitochondrial protein coding genes (cytochrome *b* and ND2) in the dabbling ducks (Tribe Anatini). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 10: 82–94.
- Kapelle, M. 2006. Neotropical montane oak forests: overview and outlook . In: *Ecology and Conservation of Neotropical Montane Oak Forests* (M. Kapelle) pp 447- 467. *Ecological Studies* 185, Springer, Verlag Berlin Heidelberg.

- Kass, R. E. & Raftery, A. E. 1995. Bayes factors. *Journal of the American Statistical Association*. 90: 773-795.
- Klicka, J. & Zink, R. M. 1997. The importance of recent ice ages in speciation: a failed paradigm. *Science*. 277: 1666-1669.
- Klicka, J. & Zink, R. M. 1999. Pleistocene effects on North American songbird evolution. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*. 266: 695-700.
- Kocher, T. D., Thomas, W. K., Meyer, A., Edwards, S. V., Pääbo, S., Villablanca, F. X. & Wilson, A. C. 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: Amplification and sequencing with conserved primers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 86: 6196-6200.
- Korbie, D. J. & Mattick, J. S. 2008. Touchdown PCR for increased specificity and sensitivity in PCR amplification. *Nature Protocols*. 3: 1452-1456.
- Larget, B., & Simon, D. L. 1999. Markov chain Monte Carlo algorithms for the Bayesian analysis of phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*. 16: 750-759.
- León-Paniagua, L., Navarro-Sigüenza, A. G., Hernández-Baños, B. E. & Morales, J.C. 2006. Diversification of the arboreal mice of the genus *Habromys* (Rodentia: Cricetidae: Neotominae) in the Mesoamerican highlands. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 42: 653-664.
- Librado, P. & Rozas, J. 2009. DnasSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*. 25: 1451-1452.
- Lovette, I. J. 2004. Molecular phylogeny and plumage signal evolution in a trans Andean and circum Amazonian avian species complex. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 32: 512-523.
- Lovette, I. J. & Bermingham, E. 2001. Mitochondrial perspective on the phylogenetic relationships of the *Parula* wood-warblers. *Auk*. 118: 211-215.
- Lovette, I. J. & Bermingham, E. 2002. What is a wood-warbler? Molecular characterization of a monophyletic Parulidae. *Auk*. 119: 695-714.
- Luna, I., Alcántara, O., Espinosa, D. & Morrone, J. J. 1999. Historical relationships of the Mexican Cloud forests: a preliminary vicariance model applying Parsimony Analysis of Endemicity to vascular plant taxa. *Journal of Biogeography*. 26: 1299-1305.
- Marshall, J. S. 2007. The geomorphology and physiographic provinces of Central America. In: *Central America: Geology, Resources and Hazards* (J. Bundschuh & G. Alvarado) pp 75-122. Balkema, Leiden, The Netherlands.
- Marshall, C. & Liebherr, J. 2000. Cladistic biogeography of the Mexican transition zone. *Journal of Biogeography*. 27: 203-216.
- McCormack, J. E., Bowen, B. S. & Smith, T. B. 2008a. Integrating paleoecology and genetics of bird populations in two sky island archipelagos. *BMC biology*. 6: 1-12.

- McCormack, J. E., Peterson, A. T., Bonaccorso, E. & Smith, T. B. 2008b. Speciation in the highlands of Mexico: phenotypic divergence in the Mexican Jay (*Aphelocoma ultramarina*). *Molecular Ecology*. 17: 2505-2521.
- McDonald, J. A. 1998. Fitogeografía e historia de la flora alpina-subalpina del noreste de México. In: *Diversidad biológica de México: Orígenes y Distribución* (T. P. Ramamoorthy, R. Bye, A. Lot, and J. Fa.) pp 665-686. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México.
- McKay, B. D. & Zink, R. M. 2010. The causes of mitochondrial DNA gene tree paraphyly in birds. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 54: 647-650.
- Medina-Macias, M. N., González-Bernal, M. A. & Navarro-Sigüenza, A. G. 2010. Distribución altitudinal de las aves en una zona prioritaria en Sinaloa y Durango, México. *Revista Mexicana De Biodiversidad*. 81: 487- 503
- Mengel, R. M. 1964. The probable history of species formation in some northern wood warblers (Parulidae). *Living Bird*. 3: 9-43.
- Milá, B., Smith, T. B. & Wayne, R. K. 2006. Postglacial expansion drives the evolution of long-distance migration in a songbird. *Evolution*. 60: 2403- 2409.
- Milá, B., Smith, T. B. & Wayne, R. K. 2007a. Speciation and rapid phenotypic differentiation in the yellow-rumped warbler *Dendroica coronata* complex. *Molecular Ecology*. 16: 159-173.
- Milá, B., Smith, T. B. & Wayne, R. K. 2008. Ecomorphology of migratory and sedentary populations of the yellow-rumped warbler (*Dendroica coronata*). *Condor*. 110: 335-344.
- Milá, B., McCormack, J. E., Castañeda, G., Wayne, R. K. & Smith, T. B. 2007b. Recent postglacial range expansion drives the rapid diversification of a songbird lineage in the genus *Junco*. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*. 274: 2653-2660.
- Moore, R. T. 1937. Four new birds from Northwestern Mexico. *Proceedings of the Biological Society of Washington*. 50: 95- 102.
- Morrone, J. J. 2005. Hacia una síntesis biogeográfica de México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 76: 207-252.
- Mueller, R. L. 2006. Evolutionary rates, divergence dates, and the performance of mitochondrial genes in Bayesian phylogenetic analysis. *Systematic biology*. 55: 289-300.
- Navarro-Sigüenza, A. G. & Peterson, A. T. 2004. An alternative species taxonomy of the birds of México. *Biota Neotropica*. 4: 1- 32.
- Navarro-Sigüenza, A. G., Peterson, A. T., López-Medrano, E. & Benítez-Díaz, H. 2001. Species limits in mesoamerican *Aulacorhynchus* toucanets. *Wilson Bulletin*. 113: 363- 372.
- Navarro-Sigüenza, A. G., Peterson, A. T., Nyari, A., García-Deras, G. M. & García-Moreno, J. 2008. Phylogeography of the *Buarremon* brush-finch complex (Aves, Emberizidae) in Mesoamerica. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 47: 21-35.

- Nei, M. & Li, W. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 76: 5269-5273.
- Nylander, J. A. A., Ronquist, F., Huelsenbeck, J. P. & Nieves-Aldrey, J. L. 2004. Bayesian phylogenetic analysis of combined data. *Systematic Biology*. 53: 47-67.
- Orr, R. T. & Webster, J. D. 1968. New subspecies of birds from Oaxaca (Aves: Phasianidae, Turdidae, Parulidae). *Proceedings of the Biological Society of Washington*. 81: 37- 40.
- Pérez-Emán, J. L. 2005. Molecular phylogenetics and biogeography of the Neotropical redstarts (*Myioborus*; Aves, Parulidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 37: 511-528.
- Posada, D. 2008. J Modeltest: phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution*. 25: 1253-1256.
- Puebla-Olivares, F., Bonaccorso, E., Espinosa de los Monteros, A., Omland, K. E., Llorente-Bousquets, J. E., Peterson, A. T. & Navarro-Sigüenza, A. G. 2008. Speciation in the Emerald Toucanet (*Aulacorhynchus prasinus*) complex. *Auk*. 135: 39–50.
- Rambaut, A., Drummond, A. J., 2009. Tracer 1.5. <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>
- Ramos-Onsins, S. E. & Rozas, J. 2002. Statistical properties of new neutrality tests against population growth. *Molecular Biology and Evolution*. 19: 2092-2100.
- Ribas, C. C., Moyle, R. G., Miyaki, C. Y. & Cracraft, J. 2007. The assembly of montane biotas: linking Andean tectonics and climatic oscillations to independent regimes of diversification in *Pionus* parrots. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*. 274: 2399-2408.
- Ridgway, R. 1902. The birds of North and Middle America, part II. United States National Museum Bulletin No. 50. 834 pp.
- Rodgers, A. R. & Harpending, H. 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular Biology and Evolution*. 9:552-569.
- Rzedowski, J. 1986. Vegetación de México. 2da edición. Limusa, México, D.F. 432 pp.
- Sánchez-González, L. A., Morrone, J. J. & Navarro-Sigüenza, A. G. 2008. Distributional patterns of the Neotropical humid montane forest avifaunas. *Biological Journal of the Linnean Society*. 94: 175-194.
- Sánchez-González, L. A., Navarro-Sigüenza, A. G., Peterson, A. T. & García-Moreno, J. 2007. Taxonomy of *Chlorospingus ophthalmicus* in México and northern Central America. *Bulletin of British Ornithologists' Club*. 127: 34- 49.
- Sibley, C.G. & Monroe Jr., B.L. 1990. *Distribution and Taxonomy of the Birds of the World*. Yale University Press, New Haven, CT. 11360 pp.

- Sorenson, M. D., Ast, J. C., Dimcheff, D. E., Yuri, T. & Mindell, D. P. 1999. Primers for a PCR-based approach to mitochondrial genome sequencing in birds and other vertebrates. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 12: 105–114.
- Spellman, G. M. & Klicka, J. 2007. Phylogeography of the white-breasted nuthatch (*Sitta carolinensis*): diversification in North American pine and oak woodlands. *Molecular Ecology*. 16: 1729-1740.
- Swainson, W. 1827. A synopsis of the birds discovered in Mexico by W. Bullock, F.L.S., and H.S., Mr. William Bullock. *Philosophy Magazine (New Series)*. 1:364–369.433–442.
- Swofford, D. L. 2002. PAUP\*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (\*and other methods). Ver 4.0b4a. Sinauer Associates. Sunderland, Massachusetts.
- Torres-Vilaça, S. & Rodrigues dos Santos, F. 2010. Biogeographic history of the species complex *Basileuterus culicivorus* (Aves, Parulidae) in the Neotropics. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. In press: doi:10.1016/j.ympev.2010.07.010
- Webb III, T. & Bartlein, P. J. 1992. During the last 3 million years: climatic controls and biotic responses. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 23: 141.
- Weir, J. T. 2006. Divergent timing and patterns of species accumulation in lowland and highland Neotropical birds. *Evolution*. 60: 842 -855.
- Weir, J. T. & Schluter, D. 2004. Ice sheets promote speciation in boreal birds. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*. 271: 1881–1887.
- Weir, J. T. & Schluter, D. 2008. Calibrating the avian molecular clock. *Molecular Ecology*. 17: 2321- 2328.
- Weir, J. T., Bermingham, E., Miller., M. J., Klicka, J. & Gonzáles, M. 2008. Phylogeography of a morphologically diverse Neotropical montane species, the Common Bush-Tanager (*Chlorospingus ophthalmicus*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 47: 650-664.
- Wiens, J. J.1998. Combining data sets with different phylogenetic histories. *Systematic Biology*. 47: 568-581.
- Wilson, J. & Will, T. 1997. The current status of the Pink-headed Warbler *Ergaticus versicolor* in Chiapas, Mexico. *Cotinga*. 8: 34-38.
- Zachos, J., Pagani, M., Sloan, L., Thomas, E. & Billups, K. 2001. Trends, Rhythms, and aberrations in global climates 65 Ma to present. *Science*. 27: 686- 693.
- Zardoya, R. & Meyer, A. 1996. Phylogenetic performance of mitochondrial protein-coding genes in resolving relationships among vertebrates. *Molecular Biology and Evolution*. 13:933–942.
- Zink, R. M. & Barrowclough, G. F. 2008. Mitochondrial DNA under siege in avian phylogeography. *Molecular Ecology*. 17: 2107-2121.

Zink, R. M. & Klicka, J. 2006. The tempo of avian diversification: A comment on Johnson and Cicero. *Evolution*. 60: 411-412.

Zink, R. M., Klicka, J. & Barber, B. R. 2004. The tempo of avian diversification during the Quaternary. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 359: 215-220.

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

**Apéndice 1.-** Lista de especímenes empleados en este estudio. Se proporciona el lugar de colecta (ver Figura 1 en el texto principal), la clave de catálogo de la colección correspondiente, y su respectivo haplotipo para cada fragmento de ADNmt y el fragmento concatenado. Las abreviaciones de las colecciones son las siguientes: MZFC, Museo de Zoología “Alfonso L. Herrera”, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México; UNLV, Marjorie Barrick Museum, University of Nevada Las Vegas; FMNH, Field Museum of Natural History; UCLA, Conservation Genetics Resource Center, University of California Los Angeles.

Catálogo	Taxón	Estado	Localidad	Clave localidad	ND2	Citocromo b	ATP	concatenado	Colección
BMM870	<i>Ergaticus versicolor</i>	Chiapas	Volcán Tacaná, Papales	O	22	41	63	c44	MZFC
gav2349	<i>Ergaticus versicolor</i>	Depto. Quezaltenango	Quezaltenango, Xela, El Baul	Q	20	39	65	c45	UNLV
gav2370	<i>Ergaticus versicolor</i>	Depto. Quezaltenango	Quezaltenango, Xela, El Baul	Q	20	40	64	c43	UNLV
jk02-050	<i>Ergaticus versicolor</i>	Depto. Quezaltenango	Quezaltenango, Xela, El Baul	Q	21	39	65	c46	UNLV
jk02-096	<i>Ergaticus versicolor</i>	Depto. Quezaltenango	Quezaltenango, Xela, El Baul	Q	21	39	66	c47	UNLV
03N1073	<i>Ergaticus versicolor</i>	Depto. San Marcos	Ixchiguán	P	21	39	67	c48	UCLA
BIODF027	<i>Ergaticus ruber</i>	Distrito Federal	Cuajimalpa, San Lorenzo Acopilco	D	1	30	43	c14	MZFC
BIOD05	<i>Ergaticus ruber</i>	Distrito Federal	San Nicolás Totolapan	D	1	23	42	c1	MZFC
BIODF050	<i>Ergaticus ruber</i>	Distrito Federal	Santo Tomás Ajusco	D	2	27	42	c27	MZFC
BIODF06	<i>Ergaticus ruber</i>	Distrito Federal	San Nicolás Totolapan	D	1	24	43	c15	MZFC
BIODF07	<i>Ergaticus ruber</i>	Distrito Federal	San Nicolás Totolapan	D	1	23	42	c1	MZFC
BIODF26	<i>Ergaticus ruber</i>	Distrito Federal	San Lorenzo Acopilco	D	1	30	44	c17	MZFC
BIODF28	<i>Ergaticus ruber</i>	Distrito Federal	San Lorenzo Acopilco	D	1	24	42	c2	MZFC
BIODF29	<i>Ergaticus ruber</i>	Distrito Federal	Segundo Dinamo, Contreras	D	2	31	52	c25	MZFC
MAG09	<i>Ergaticus ruber</i>	Distrito Federal	Cuarto Dinamo, Contreras	D	1	30	51	c13	MZFC
MFOR221	<i>Ergaticus ruber</i>	Distrito Federal	Cuarto Dinamo, Contreras	D	1	24	43	c15	MZFC
FD117	<i>Ergaticus ruber</i>	Estado de México	km 14 de la carretera Ocuilan-Cuernavaca	E	1	24	42	c2	MZFC
jk08-322	<i>Ergaticus ruber</i>	Estado de México	cerca de Huitzilac	E	2	33	48	c19	UNLV
MT409	<i>Ergaticus ruber</i>	Estado de México	km 14.5 de la carretera Ocuilan-Cuernavaca	E	1	23	47	c7	MZFC
jk04-079	<i>Ergaticus ruber</i>	Guerrero	Carrizal de Bravo	K	19	35	58	c37	UNLV
jk04-080	<i>Ergaticus ruber</i>	Guerrero	Carrizal de Bravo	K	18	35	58	c39	UNLV

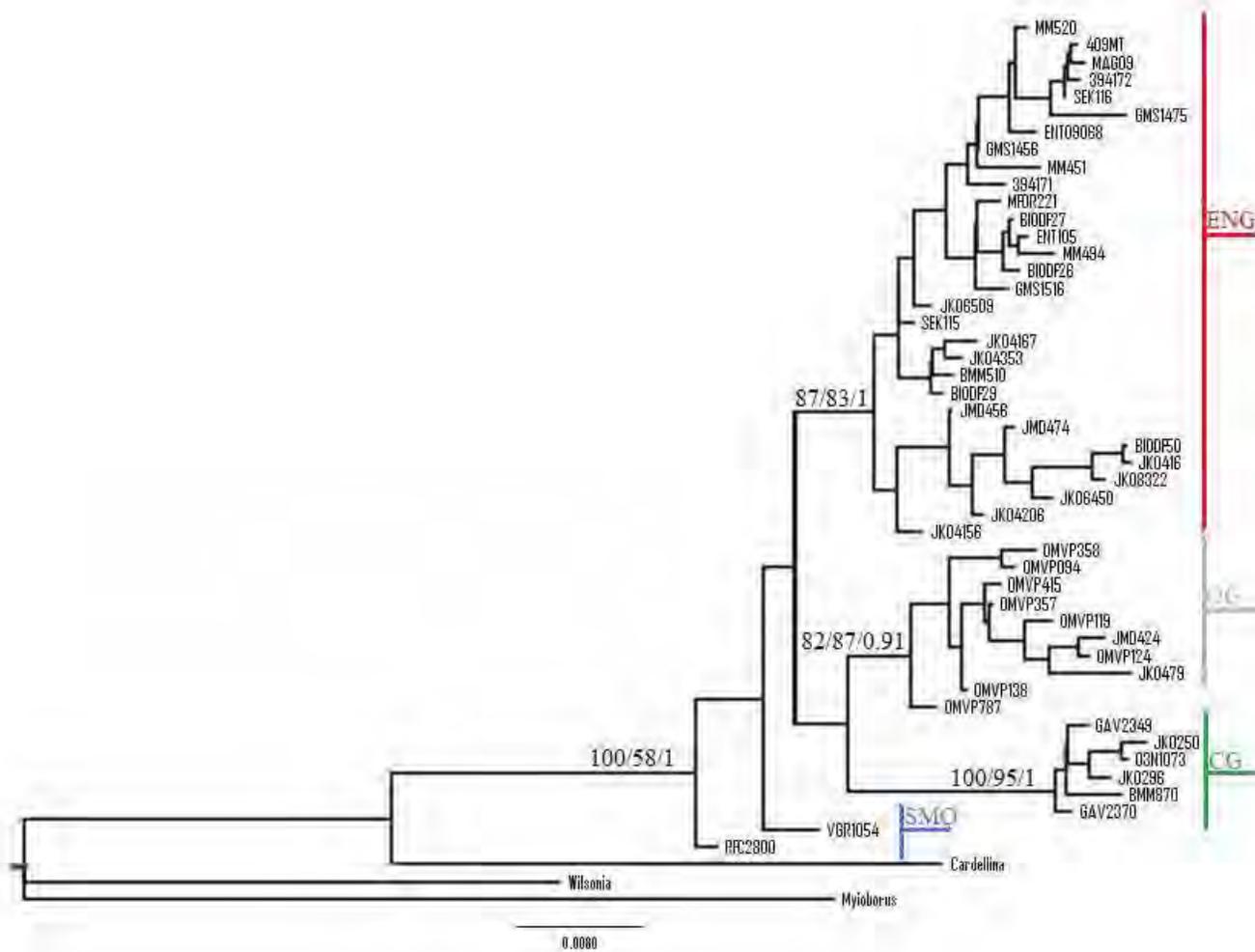
JK04-156	Ergaticus ruber	Guerrero	Carrizal de Bravo	J	2	25	42	c26	MZFC
JK04-167	Ergaticus ruber	Guerrero	Carrizal de Bravo	J	2	23	50	c21	MZFC
JK04-171	Ergaticus ruber	Guerrero	Carrizal de Bravo	J	1	23	42	c1	MZFC
JK04-206	Ergaticus ruber	Guerrero	Carrizal de Bravo	J	2	25	45	c29	MZFC
JK04-207	Ergaticus ruber	Guerrero	Carrizal de Bravo	J	1	24	42	c2	MZFC
jk04-349	Ergaticus ruber	Guerrero	Carrizal de Bravo	K	1	23	42	c1	UNLV
jk04-351	Ergaticus ruber	Guerrero	Carrizal de Bravo	K	1	23	42	c1	UNLV
jk04-353	Ergaticus ruber	Guerrero	Carrizal de Bravo	K	9	27	42	c28	UNLV
jmd424	Ergaticus ruber	Guerrero	Yextla 17 km ENE, Los Otates	K	18	35	58	c39	UNLV
BMM510	Ergaticus ruber	Hidalgo	El Potrero	F	8	23	48	c23	MZFC
ENT104	Ergaticus ruber	Jalisco	El Floripondio, Zapotitlan el Grande	B	1	23	47	c7	MZFC
ENT105	Ergaticus ruber	Jalisco	El Floripondio, Zapotitlan el Grande	B	6	24	42	c12	MZFC
394171	Ergaticus ruber	Michoacán	Zirimondiro, 3 km N, Cerro de Tancitaro	C	1	23	53	c3	FMNH
394172	Ergaticus ruber	Michoacán	Zirimondiro, 3 km N, Cerro de Tancitaro	C	1	32	42	c4	FMNH
jk06-450	Ergaticus ruber	Michoacán	Nuevo San Juan, N San Juan 14 km O, Piedra del Molcajete	C	2	34	48	c18	UNLV
jk06-508	Ergaticus ruber	Michoacán	Nuevo San Juan, N. San Juan 14 km E, Piedra del Molcajete	C	1	23	42	c1	UNLV
jk06-509	Ergaticus ruber	Michoacán	Nuevo San Juan, N San Juan then 14 km O, Piedra del Molcajete	C	1	23	46	c6	UNLV
mm445	Ergaticus ruber	Michoacán	Nuevo San Juan, N. San Juan 11 km E	C	1	24	42	c2	UNLV
mm451	Ergaticus ruber	Michoacán	Nuevo San Juan, N. San Juan 12 km O	C	4	26	42	c9	UNLV
mm494	Ergaticus ruber	Michoacán	Nuevo San Juan, N. San Juan 14 km E, Piedra del Molcajete	C	7	23	47	c8	UNLV
mm500	Ergaticus ruber	Michoacán	Nuevo San Juan, N. San Juan 14 km E, Piedra del Molcajete	C	1	23	42	c1	UNLV
mm513	Ergaticus ruber	Michoacán	Nuevo San Juan, N San Juan 14 km O	C	1	23	42	c1	UNLV
mm520	Ergaticus ruber	Michoacán	Nuevo San Juan, N San Juan 14 km O	C	1	23	42	c1	UNLV
dhb5780	Ergaticus ruber	Morelos	Huitzilac 11 km NE, Fierro del Toro	E	2	23	52	c24	UNLV
gms1455	Ergaticus ruber	Morelos	Huitzilac 11 km NE, Fierro del Toro	E	2	25	42	c26	UNLV
gms1456	Ergaticus ruber	Morelos	Huitzilac 11 km NE, Fierro del Toro	E	1	24	44	c16	UNLV
gms1457	Ergaticus ruber	Morelos	Huitzilac 11 km NE, Fierro del Toro	E	1	24	42	c2	UNLV
gms1475	Ergaticus ruber	Morelos	Huitzilac 11 km NE, Fierro del Toro	E	5	23	42	c5	UNLV
gms1490	Ergaticus ruber	Morelos	Huitzilac 11 km NE, Fierro del Toro	E	2	25	42	c26	UNLV

gms1491	Ergaticus ruber	Morelos	Huitzilac 11 km NE, Fierro del Toro	E	2	27	42	c27	UNLV
gms1516	Ergaticus ruber	Morelos	Huitzilac 11 km NE, Fierro del Toro	E	3	26	42	c10	UNLV
jk04-016	Ergaticus ruber	Morelos	Cuernavaca 20 km NO, Lagunas de Zempoala	E	2	28	42	c30	MZFC
jk04-786	Ergaticus ruber	Morelos	Huitzilac 11 km NE, Fierro del Toro	E	1	23	46	c6	UNLV
jmd456	Ergaticus ruber	Morelos	Huitzilac 11 km NE, Fierro del Toro	E	2	23	48	c20	UNLV
jmd457	Ergaticus ruber	Morelos	Huitzilac 11 km NE, Fierro del Toro	E	1	24	43	c15	UNLV
jmd474	Ergaticus ruber	Morelos	Huitzilac 11 km NE, Fierro del Toro	E	2	23	52	c24	UNLV
OMVP0094	Ergaticus ruber	Oaxaca	Cerro Yucunino, Llano de Guadalupe	L	13	35	57	c35	MZFC
OMVP0119	Ergaticus ruber	Oaxaca	Cerro Yucunino, Llano de Guadalupe	L	17	35	59	c38	MZFC
OMVP0314	Ergaticus ruber	Oaxaca	Cerro Piedra Larga, El Aguacate	N	12	36	56	c36	MZFC
OMVP0357	Ergaticus ruber	Oaxaca	Cerro Piedra Larga, El Aguacate	N	15	35	55	c31	MZFC
OMVP 0358	Ergaticus ruber	Oaxaca	Cerro Piedra Larga, El Aguacate	N	12	36	56	c36	MZFC
OMVP0373	Ergaticus ruber	Oaxaca	Cerro Piedra Larga, El Aguacate	N	15	35	54	c32	MZFC
OMVP0415	Ergaticus ruber	Oaxaca	Cerro Piedra Larga, El Aguacate	N	14	35	54	c34	MZFC
OMVP0787	Ergaticus ruber	Oaxaca	Zoquiapan, Boca de dos Rios	M	15	35	54	c32	MZFC
OMVP124	Ergaticus ruber	Oaxaca	Cerro Yucunino, Llano de Guadalupe	L	18	35	60	c40	MZFC
OMVP138	Ergaticus ruber	Oaxaca	Cerro Yucunino, Llano de Guadalupe	L	16	35	54	c33	MZFC
ENT09068	Ergaticus ruber	Puebla	San Andres Calpan, Ladera noreste de Popocatepetl	I	1	29	42	c11	MZFC
ENT09072	Ergaticus ruber	Puebla	San Andres Calpan, Ladera noreste de Popocatepetl	I	2	23	49	c22	MZFC
ENT09076	Ergaticus ruber	Puebla	San Andres Calpan, Ladera noreste de Popocatepetl	I	1	24	42	c2	MZFC
ENT09078	Ergaticus ruber	Puebla	San Andres Calpan, Ladera noreste de Popocatepetl	I	1	23	42	c1	MZFC
jk04-753	Ergaticus ruber	Puebla	Zacapoaxtla, Instituto Tecnologico Superior	G	4	26	42	c9	UNLV
jk04-754	Ergaticus ruber	Puebla	Zacapoaxtla, Instituto Tecnologico Superior	G	1	23	46	c6	UNLV
SEK115	Ergaticus ruber	Puebla	Ladera noreste del Popocatepetl	I	2	23	49	c22	MZFC
SEK116	Ergaticus ruber	Puebla	Ladera noreste del Popocatepetl	I	1	24	42	c2	MZFC
RCF2800	Ergaticus ruber	Sinaloa	Reserva Chara Pinta a 85 km de Mazatlán	A	10	37	61	c42	MZFC
VGR1054	Ergaticus ruber	Sinaloa	Reserva Chara Pinta a 85 km de Mazatlán	A	11	38	62	c41	MZFC
MALI04	Ergaticus ruber	Tlaxcala	Parque Nacional La Malinche	H	1	24	43	c15	MZFC
MALI011	Ergaticus ruber	Tlaxcala	Parque Nacional La Malinche	H	1	23	42	c1	MZFC

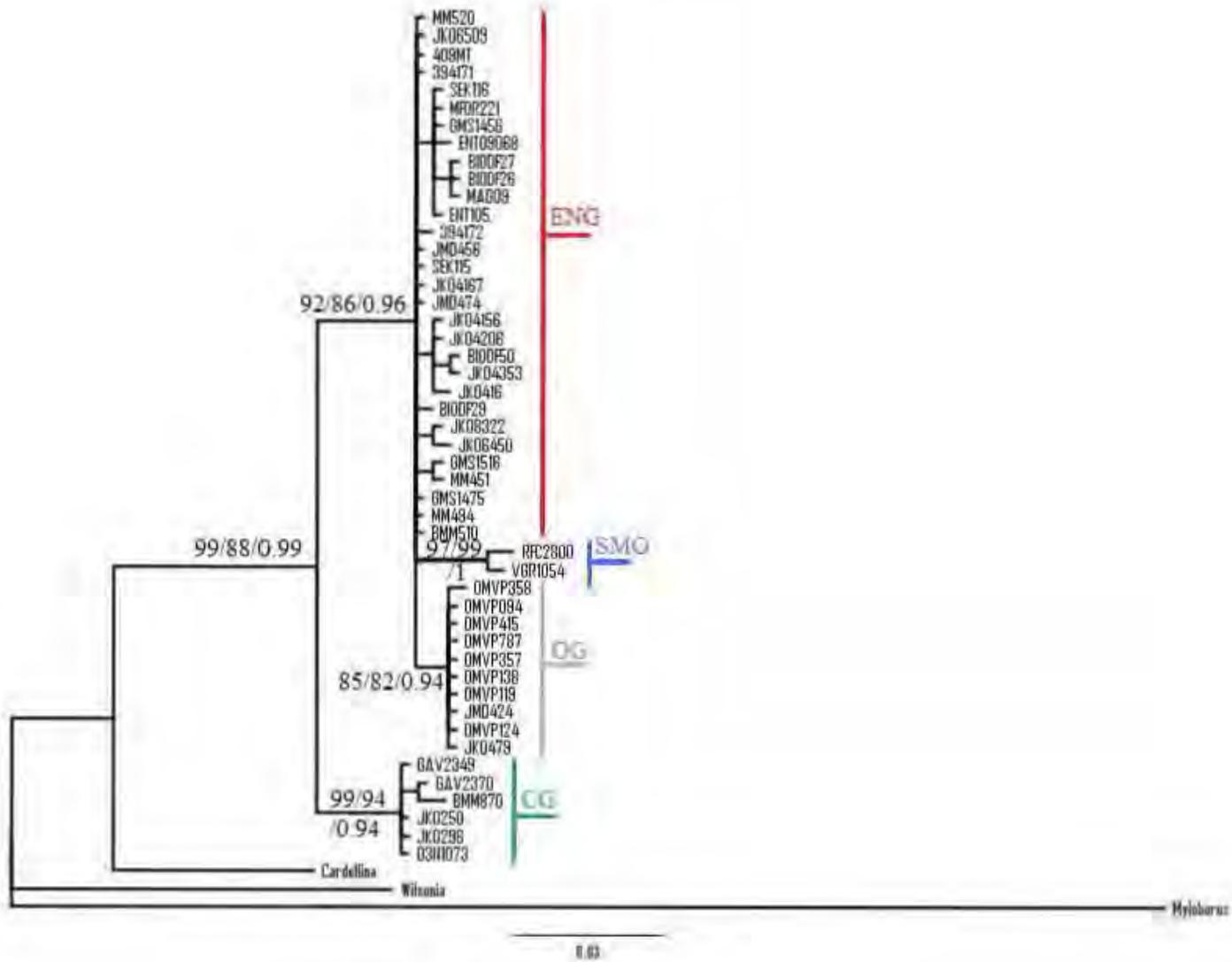
**Apéndice 2.-** Haplotipos para los datos concatenados. Cada haplotipo es identificado por un número que resulta de la combinación de los haplotipos mencionados en la Tabla 2, para cada región mitocondrial, como se muestra en los paréntesis (N=ND2, C=citocromo b, A= ATPasas). (#)=Número de individuos para ese haplotipo. Las letras corresponden a las localidades identificadas en la Figura 1.

Haplotipo	#	Localidad	Haplotipo	#	Localidad
c1(N1C23A42)	11	C, D, H, I, J, K	c25(N2C31A52)	1	D
c2(N1C24A42)	7	C, D, E, I, J	c26(N2C25A42)	3	E, J
c3(N1C23A53)	1	C	c27(N2C27A42)	2	D, E
c4(N1C32A42)	1	C	c28(N9C27A42)	1	K
c5(N5C23A42)	1	E	c29(N2C25A45)	1	J
c6(N1C23A46)	3	C, E, G	c30(N2C28A42)	1	E
c7(N1C23A47)	2	B, E	c31(N15C35A55)	1	N
c8(N7C23A47)	1	C	c32(N15C35A54)	2	M, N
c9(N4C26A42)	2	C, G	c33(N16C35A54)	1	L
c10(N3C26A42)	1	E	c34(N14C35A54)	1	N
c11(N1C29A42)	1	I	c35(N13C35A57)	1	L
c12(N6C24A42)	1	B	c36(N12C36A56)	2	N
c13(N1C30A51)	1	D	c37(N19C35A58)	1	K
c14(N1C30A43)	1	D	c38(N17C35A59)	1	L
c15(N1C24A43)	4	D, E, H	c39(N18C35A58)	2	K
c16(N1C24A44)	1	E	c40(N18C35A60)	1	L
c17(N1C30A44)	1	D	c41(N11C38A62)	1	A
c18(N2C34A48)	1	C	c42(N10C37A61)	1	A
c19(N2C33A48)	1	E	c43(N20C40A64)	1	Q
c20(N2C23A48)	1	E	c44(N22C41A63)	1	O
c21(N2C23A50)	1	J	c45(N20C39A65)	1	Q
c22(N2C23A49)	2	I	c46(N21C39A65)	1	Q
c23(N8C23A48)	1	F	c47(N21C39A66)	1	Q
c24(N2C23A52)	2	E	c48(N21C39A67)	1	P

**Apéndice 3.-** Hipótesis filogenéticas para ND2, Citocromo b y ATPasas. ENG= Centro de México-Guerrero, OG= Oaxaca-Guerrero, SMO= Sierra Madre Occidental, CG= Chiapas-Guatemala.



Árbol Bayesiano para ND2.



Árbol Bayesiano para Citocromo b.

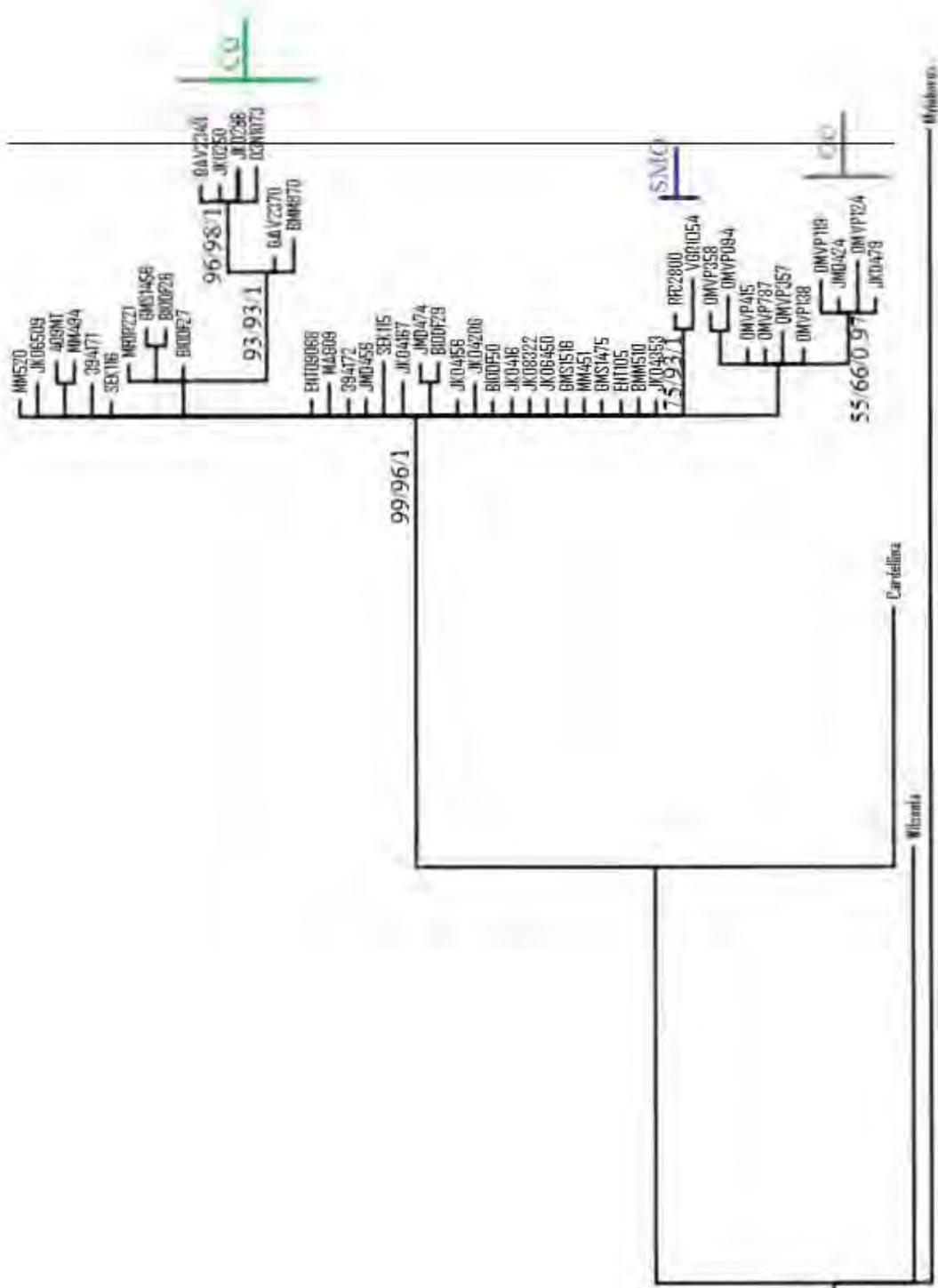


Fig. 1. Arbol Bayesiano para ATPasas

**Apéndice 4.-** Propuesta taxonómica para el complejo *Ergaticus* según los resultados de este estudio. Se presentan los resultados de las distancias genéticas corregidas para las ATPasas a fin de poder hacerlas comparables con las distancias genéticas obtenidas por Milá *et al.* (2007a). Taxonomía tradicional y descripciones de la coloración tomados de Curson *et al.* (1995). ENG= Centro de México-Guerrero, OG= Oaxaca-Guerrero, SMO= Sierra Madre Occidental, CG= Chiapas-Guatemala. (ENT)= Eje Neovolcánico Transversal, (OAX)= Oaxaca, (SMO)= Sierra Madre Occidental, (CG)= Chiapas-Guatemala.

<b>Taxonomía Tradicional</b>	<b>Este estudio</b>	<b>Clado</b>	<b>Rasgos distintivos de coloración</b>	<b>Grupo AMOVA</b>	<b>Distancia Genéticas ATPasas</b>
<i>Ergaticus ruber ruber</i>	<i>Ergaticus ruber</i>	ENG	Cuerpo color rojo rosáceo distribuido uniformemente y con un parche auricular color plateado aperlado.	(ENT)	(SMO)= 4.09565 (OAX)= 2.1244 (CG)= 7.06873
<i>Ergaticus ruber melanauris</i>	<i>Ergaticus melanauris</i>	SMO	Parche auricular color gris plomo y partes superiores de un color rojo escarlata más brillante que <i>E. r. ruber</i>	(SMO)	(ENT)= 4.09565 (OAX)=6.22144 (CG)= 11.51354
<i>Ergaticus ruber rowleyi</i>	<i>Ergaticus rowleyi</i>	OG	Coloración similar a <i>E.r. ruber</i> pero con partes superiores con una coloración rojo rubí más brillante que <i>E. r.ruber</i> o <i>E. r. melanauris</i> .	(OAX)	(ENT)= 2.1244 (SMO)=6.22144 (CG)= 9.4918
<i>Ergaticus versicolor</i>	<i>Ergaticus versicolor</i>	CG	Cabeza, garganta y pecho de un color rosa plateado, partes superiores granate y partes inferiores de una coloración rojo profunda	(CG)	(ENT)= 7.06873 (SMO)= 11.51354 (OAX)= 9.4918