



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Instituto de Ecología

Filogenia Molecular en *Lampornis* (Aves:
Trochilidae): Nueva Inferencia en las
Interrelaciones Evolutivas a partir de ADNmt

TESIS

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

P R E S E N T A

JOSÉ GERARDO HAM DUEÑAS

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS:

Dr. J. Francisco Ornelas Rodríguez

COMITÉ TUTOR:

Dra. Ma. del Coro Arizmendi Arriaga

Dr. J. Alejandro Espinosa de los Monteros

MÉXICO, D.F.

Noviembre, 2011



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



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 29 de agosto de 2011, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS (SISTEMÁTICA)** del alumno **HAM DUEÑAS JOSÉ GERARDO** con número de cuenta **510007977** con la tesis titulada **"Filogenia Molecular de *Lampornis* (Aves: Trochilidae): Nueva Inferencia en las Interrelaciones Evolutivas a partir de ADNmt"**, realizada bajo la dirección del **DR. JUAN FRANCISCO ORNELAS RODRÍGUEZ**:

Presidente: DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA
Vocal: DR. CARLOS ALBERTO LARA RODRÍGUEZ
Secretario: DR. JESÚS ALEJANDRO ESPINOSA DE LOS MONTEROS SOLÍS
Suplente: DR. OCTAVIO RAFAEL ROJAS SOTO
Suplente: DRA. MA. DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 24 de octubre de 2011.

M. del Coro Arizmendí
DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA

c.c.p. Expediente del interesado.

Agradecimientos

Primeramente al Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México por darme la oportunidad de pertenecer a la misma.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca que fue otorgada en el periodo 2010-1 al 2011-2.

Al Instituto de Ecología, A.C. por el apoyo ofrecido para la realización del proyecto de tesis en sus instalaciones.

A los miembros del Comité Tutor: Dr. J. Francisco Ornelas Rodríguez, Dr. J. Alejandro Espinosa de los Monteros y Dra. Ma. del Coro Arizmendi Arriaga por todos sus comentarios y sugerencias durante la realización de este trabajo.

Agradecimientos Personales

Quiero agradecer al Dr. J. Francisco Ornelas Rodríguez por ofrecer su asesoría en este proyecto de maestría, por haberme aceptado como alumno y haber tolerado todas mis ausencias en Xalapa, pero sobre todo por compartir todo su conocimiento y experiencia en esto de la Ornitología y en especial, con estas diminutas y especiales aves.

A la Dra. Ma. del Coro Arizmendi por su muy especial apoyo en comentarios y recomendaciones a lo largo de la maestría para poder alcanzar los objetivos y por ser mi guía mientras permanecía en el D.F.

Al Dr. J. Alejandro Espinosa de los Monteros por su apoyo con material y compartir su conocimiento en esto de la “amplificada” y de la filogenética, además ofrecerme sus sugerencias y comentarios muy valiosos.

Al Dr. Adolfo G. Navarro por aceptarme de forma temporal en la “pajarera” antes de comenzar este proyecto, siendo mi punto de partida para iniciar en este mágico (y tenebroso...) mundo de las aves, además de sus muy valiosos comentarios y consejos.

Al Dr. Octavio R. Rojas y al Dr. Carlos A. Lara por darme muy oportunas y excelentes sugerencias para el manuscrito de esta tesis.

Agradezco a toda la comunidad Xalapeña que fue parte fundamental para que mi estancia (o en su caso ausencia) fuera tan amena y agradable: A Sarita por compartir sábados de “ñoñes” en el laboratorio y estar al tanto de mis avances en la tesis; a Denisse y Armando por recibirme en su casa y darme la oportunidad de ser la rockola casera. A Andreia por su especial aporte en el tamaño de muestra, por compartir territorio en el escritorio y esas charlas de relax. A Flor y Lalo (aahh... y Filo) por compartir experiencia del laboratorio y filogenética, además de su casa cuando recién llegué al instituto; a Erandi por compartir esa misma afición a la “ñoñes” y a Alfonsina por compartir su experiencia ecológica de sus bichos, por esas buenas charlas y por ser compañera durante los necesarios ratos de esparcimiento (i.e. cine, café, cenas, fiestas, etc.).

Muchas gracias a los técnicos que hicieron posible la realización de este trabajo: A Luis por iniciarme y apoyarme en toda la cuestión del laboratorio con técnicas, protocolos etc. A Claudia por el apoyo en el laboratorio y en el envío de muestras al secuenciador; A Toño por su gran apoyo en el laboratorio, por ofrecerme su techo y por compartir esas raíces “chilangas” que en pueblo lejano son necesarias. Y por último a Clementina por todo el apoyo en el laboratorio y en escritorio, por compartir su experiencia ornitológica, recomendaciones de temperaturas, su ventilador en época de calor y, por supuesto, su periodo de gestación casi completo.

Por último, y no menos importante, a mi gran y maravillosa familia que estuvieron siempre dispuestos a apoyarme contra viento y marea, además de mostrarme que todo lo que se realiza, ya sea insignificante o muy notable, regresa como un gran aprendizaje de igual o mayor proporción. A mi mamá por compartir no nada más el genotipo y fenotipo, si no también su conocimiento y cariño a la ciencia, además de su tiempo en ricas pláticas. A mi papá por mostrarme su interés y apoyo en lo hecho en este trabajo y en toda la vida. Y a mi hermano por estar ahí cuando más lo necesito, ya sea con el simple hecho de tener su compañía y compartir tantas experiencias y situaciones que me han ayudado a crecer en todos los aspectos.

A todos los nombrados, no nombrados e innombrables que contribuyeron directa o indirectamente... ¡MUCHAS GRACIAS!

A mi Papá, Mamá y Hermano

ÍNDICE

Resumen	9
Abstract	11
Introducción	13
Objetivos	26
Metodología	27
Resultados	36
Discusión	49
Conclusiones	61
Literatura citada	64
Apéndice	72

FIGURAS

Figura 1. Relaciones evolutivas de Trochilidae con una clasificación informal compuesto por los principales linajes. A. Topología de las relaciones de los colibríes propuesta por Bleiweiss (1997). B. Topología de las relaciones de la familia con mayor aporte de especies (McGuire et al., 2007). _____ 14

Figura 2. Mapa de la distribución del género *Lampornis*. Distribuciones de las especies fueron tomadas de Ridgely et al. (2007). _____ 18

Figura 3. Especies del género *Lampornis*. A) *L. clemenciae*, B) *L. amethystinus*, C) ssp. *L. a. margaritae*, D) *L. viridipallens*, E) *L. sybillae*, F) *L. hemileucus*, G) *L. castaneoventris*, H) ssp. *L. castaneoventris pectoralis*, I) ssp. *L. castaneoventris calolaemus* y J) ssp. *L. castaneoventris cinereicauda*. Ilustraciones tomadas de Schuchmann (1999). _____ 19

Figura 4. Árboles filogenéticos obtenidos en el trabajo de García-Moreno, et al. (2006). A) Topología resultado de un análisis Bayesiano para 100 colibríes con un marcador mitocondrial (ND2) y uno nuclear (AK5). B) Filogenia del linaje *Lampornis* con tres representantes como grupo externo (*L. rhami*, *H. leucotis* e *H. xantusii*) utilizando marcadores mitocondriales (ND5 y *Cyt-b*). _____ 21

Figura 5. Relación entre las distancias sin corregir “P” para el *Cyt-b* y ND5 para la obtención de un aproximado de la tasa de sustitución de ND5 para la estimación de TMRCA. _____ 32

Figura 6. Clasificación de áreas introducidas en RASP, de acuerdo a las distribuciones de las especies de *Lampornis* y las Gemas de Montaña, además de las principales barreras biogeográficas de tierras bajas. _____ 34

Figura 7. Efecto de la Atracción de Ramas Largas (ARL) en los análisis de MP, de los árboles de consenso de mayoría (50%). A) Filogenia de MP con las Esmeraldas (*C. hemileucurus* y *H. leucotis*). B) Filogenia con MP sin Esmeraldas. _____ 38

Figura 8. Inferencia Filogenética de *Lampornis* utilizando IB para los dos genes mitocondriales usados en el estudio (*Cyt-b* y ND5). Los valores mostrados corresponden al soporte de nodos (PP / Bootstrap por MV / Bootstrap por MP). Nomenclatura de las terminales corresponden a la especie y su origen geográfico de la muestra: CR= Costa Rica, Pan= Panamá, ElSal= El Salvador, Nic= Nicaragua, Chis=Chiapas, Oax=Oaxaca, Mex=Edo. de México, Jal=Jalisco, Mich=Michoacán, Gro=Guerrero, Hgo=Hidalgo, Tamps=Tamaulipas, Ver=Veracruz, Tlax=Tlaxcala y Sin=Sinaloa. En la parte derecha se muestra las clasificaciones informales para las Gemas de Montaña y las Abejas. _____ 42

Figura 9. Árbol con estimación de tiempos de divergencia para *Lampornis* y grupos cercanamente relacionados (Gemas I y Abejas). _____ 46

Figura 10. Reconstrucción de áreas ancestrales (RAA) por medio de S-DIVA, con un número máximo de 4 áreas. Letras en mayúsculas con flechas muestra las posibles dispersiones (+) o extinciones (-). El signo de interrogación muestra reconstrucciones ambiguas con obtención de áreas alternativas para el nodo. _____ 48

Figura 11. Árbol de Máxima verosimilitud con las Esmeraldas (*H. leucotis* y *C. hemileucurus*) utilizando los dos genes (ND5 y Cyt-*b*). Valores de soporte obtenidas por medio de 1000 réplicas de bootstrap. Los valores de soporte no mostrados son < 60. _____75

Figura 12. Árbol de Inferencia Bayesiana (IB) con las Esmeraldas (*H. leucotis* y *C. hemileucurus*) utilizando los dos genes (ND5 y Cyt-*b*). Valores de soporte obtenidas en el análisis como probabilidades posteriores (PP). Los valores de soporte no mostrados son < 0.6. _____76

Figura 13. Árbol de Inferencia Bayesiana (IB) sin las Esmeraldas (*H. leucotis* y *C. hemileucurus*) utilizando ND5. Valores de soporte obtenidas en el análisis como probabilidades posteriores (PP). Los valores de soporte no mostrados son < 0.6. _____77

Figura 14. Árbol de Inferencia Bayesiana (IB) sin las Esmeraldas (*H. leucotis* y *C. hemileucurus*) utilizando Cyt-*b*. Valores de soporte obtenidas en el análisis como probabilidades posteriores (PP). Los valores de soporte no mostrados son < 0.6. _____78

Figura 15. Árbol de Máxima Verosimilitud (MV) sin las Esmeraldas (*H. leucotis* y *C. hemileucurus*) utilizando ND5. Valores de soporte obtenidas por medio de 1000 réplicas de bootstrap. Los valores de soporte no mostrados son < 60. _____79

Figura 16. Árbol de Máxima Verosimilitud (MV) sin las Esmeraldas (*H. leucotis* y *C. hemileucurus*) utilizando Cyt-*b*. Valores de soporte obtenidas por medio de 1000 réplicas de bootstrap. Los valores de soporte no mostrados son < 60. _____80

TABLAS

Tabla 1. Número de pares de bases para cada gen y genes concatenados (P.B.). Sitios variables y su porcentaje (S.V. y %S.V. respectivamente). Además se muestran los sitios informativos en parsimonia (S.I.) y los índices de consistencia y de retención (IC e IR). _____36

Tabla 2. Promedio de la distancia genética por Máxima verosimilitud (Debajo de la diagonal) y P-no corregida (Arriba de la diagonal) entre especies. Últimas dos columnas se presenta la distancia genética intraespecífica (DI). _____42

Tabla 3. Estimación de tiempos de divergencia (TMRCA) con sus intervalos de confianza (IC) y Reconstrucción de Áreas Ancestrales (RAA) por Statistical Dispersal-Vicariance Analysis (S-DIVA) para cada nodo de la filogenia. _____45

Tabla 4. Lista de individuos utilizados para los análisis filogenéticos. Nomenclatura corresponde al país y colección de origen: CR= Costa Rica, Pan= Panamá, ElSal= El Salvador, Nic= Nicaragua, Mex= México, MZFC= Museo de Zoología de la Facultad de Ciencias, UNAM, INECOL-LAB= Colección de tejidos del Laboratorio de Biología Evolutiva, Instituto de Ecología, A. C. Código en paréntesis muestra el número de catálogo de la muestra de tejido. Últimas columnas se muestran los N° de Acceso de GenBank para las secuencias. _____72

RESUMEN

El género *Lampornis* (6-9 especies) presenta una distribución que abarca desde el sur de los Estados Unidos hasta la parte occidental de Panamá, habitando principalmente bosques de montaña. En un trabajo previo con secuencias de ADNmt, se obtuvieron las relaciones filogenéticas dentro del género pero la monofilia y las relaciones entre especies dependieron de la exclusión de *L. hemileucus*. Además, una escasa representatividad en el grupo externo no permitió ligar la probable historia biogeográfica de este taxón con sus congéneres. En esta tesis utilicé sus secuencias de ADNmt aumentando, tanto a nivel intraespecífico como interespecífico, el tamaño de muestra con secuencias nuevas para probar la monofilia del género. Con los árboles generados en el análisis de IB, realicé un análisis estadístico de dispersión-vicarianza (S-DIVA) para reconstruir en RASP la distribución de las áreas ancestrales de los principales nodos. Utilizando BEAST estimé el tiempo del más reciente ancestro común (TMRCA) entre los distintos nodos identificados para comprender la probable historia biogeográfica del linaje. Se aprecia buen soporte nodal para las relaciones interespecíficas del género y con otros representantes del grupo de Gemas de Montaña, aún cuando la relación *Lamprolaima rhami* – *Eugenes fulgens* presentó valores de soporte bajos. No encontré diferencias notables en las relaciones interespecíficas del género en las topologías obtenidas utilizando máxima parsimonia (MP), máxima verosimilitud (MV) e inferencia Bayesiana (IB), y en general concuerdan con el estudio previo. Sin embargo, *L. hemileucus* se mantiene basal a las especies de *Lampornis*, y la monofilia del género se recupera. Se observó un efecto de atracción de ramas largas por representantes de las Esmeraldas, mismas que fueron descartadas como grupo externo en el análisis final donde solo incluí representantes del grupo de las Abejas. En la estimación de TMRCA el origen del género ocurrió en el Mioceno Superior, donde este nodo muestra un ancestro de distribución amplia de acuerdo a la reconstrucción de áreas ancestrales. Esto parece estar asociado con una conexión en el área de la Depresión de Nicaragua durante el Mioceno-Plioceno. Algunos eventos en la dinámica tectónica y las glaciaciones del Plioceno-Pleistoceno pueden haber intervenido en la divergencia genética intraespecífica. Por otro lado, la dinámica tectónica del Mioceno

pudo haber favorecido a la divergencia interespecífica. Sin duda, el uso de datos filogenéticos y espacio-temporal, además de una mayor aportación de muestras, contribuyeron a la obtención de una hipótesis mucho más robusta en las relaciones del género y, en consecuencia, de una aproximación más confiable en la historia biogeográfica. Esto nos ofrece un escenario de diversificación para las áreas de montaña de Mesoamérica y sur de Centroamérica, donde el aislamiento sigue siendo uno de los factores principales en la especiación, aún sin descartar la selección sexual, así como otros probables mecanismos que también pueden estar interviniendo.

ABSTRACT

The genus *Lampornis* (6-9 species) has a distribution that extends from the southern United States to western Panama, mainly inhabiting mountain forests. In a previous study of mtDNA sequences were obtained phylogenetic relationships within the genus but the monophyly and relationships among species depended on the exclusion of *L. hemileucus*. In addition, a low representation in the outgroup did not allow linking the likely biogeographic history of this taxon with their congeners. In this thesis, I used their mtDNA sequences and increase, both intraspecific and interspecific sample size with new sequences to test monophyly of the genus. With the trees generated by BI analysis, I conducted a Statistical Dispersal-Vicariance Analysis (S-DIVA) to reconstruct in RASP the ancestral ranges distribution on the main nodes. Using BEAST I estimated the time of most recent common ancestor (TMRCA) between the different nodes identified to understand the likely biogeographic history of the lineage. I appreciated good nodal support for interspecific relationships of the genus and other representatives of Mountain Gems group, although the relationship *Lamprolaima rhami* - *Eugenes fulgens* showed low support values. I did not find significant differences in the interspecific relationships of the genus in the topologies obtained using maximum parsimony (MP), maximum likelihood (ML) and Bayesian inference (BI), and generally agree with the previous study. However, *L. hemileucus* remains basal to the *Lampornis* species and the monophyly of the genus is recovered. There was an effect of long branch attraction of representatives of Emeralds, which were discarded as outgroup in the final analysis where I only included representatives of the Bees. In estimating of TMRCA, the origin of the genus occurred in the Miocene, where the ancestor node shows a wide distribution according to the ancestral ranges reconstruction. This seems to be associated with a connection in the area of the Depression of Nicaragua during the Miocene-Pliocene. Some events in the terrestrial dynamic and Pliocene-Pleistocene glaciations may have intervened in the intraspecific genetic divergence. On the other hand, the dynamic tectonic along Miocene may have favored the interspecific divergence. Undoubtedly, the use of phylogenetic and space-time data, also a greater contribution of samples, helped produce a more robust hypothesis of the genus relationships and, consequently, a more

reliable approach in the biogeographic history. This gives us a scenario of diversification for the mountain areas of Mesoamerica and southern Central America, where the isolation is still one of the main factors in speciation, without discarding sexual selection as well as other possible mechanisms that may be intervening.

Introducción

Los colibríes, pertenecientes a la familia Trochilidae (Apodiformes), son uno de los pocos grupos de aves que se diversificaron en el Continente Americano (Schuchmann, 1999). Se consideran un sistema biológico extraordinario ya que presentan características notables, las cuales son definidas para el uso específico de recursos, ambientes y además, de rasgos condicionados por presiones de selección social-sexual que son expresados tanto en plumaje, en vocalizaciones, etc. (Temeles et al., 2002; Parra, 2009; Ficken et al., 2002; Gonzalez et al., 2011). Sin duda, este grupo de aves se ha considerado como un excelente sistema biológico para aportar información relevante a distintas áreas de estudio.

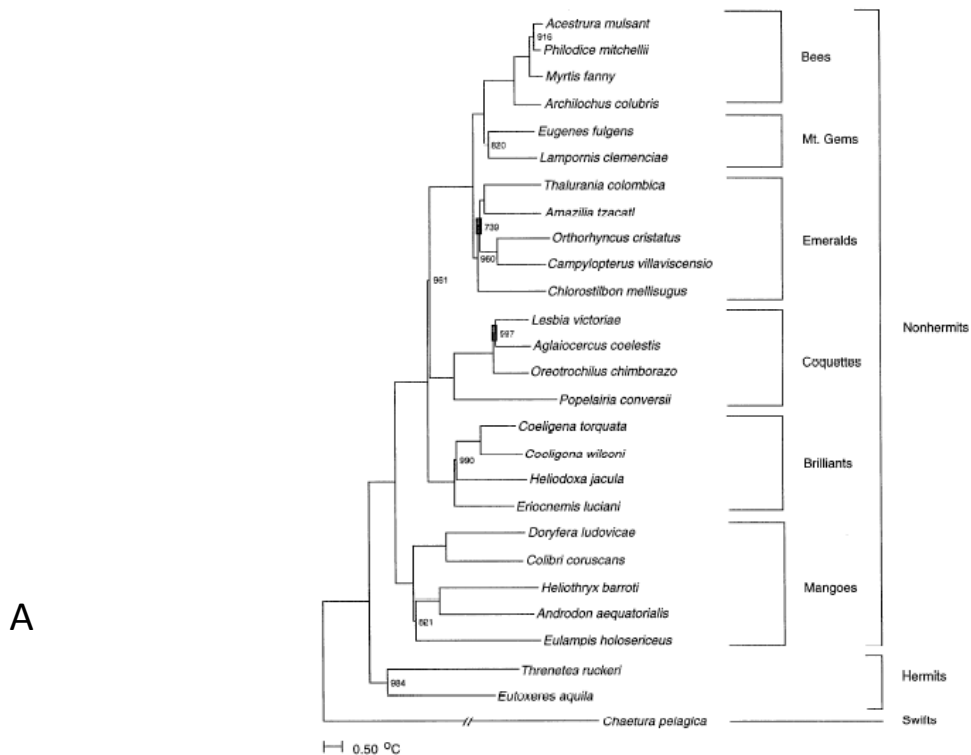
La diversidad de colibríes es de aproximadamente 350 especies siendo uno de los grupos de aves con una gran representatividad, sólo superado en número por la familia de los Tiránidos (Tyrannidae: ~370 especies). Además, la mayor diversidad de estas aves se encuentra ubicada en los trópicos (Schuchmann, 1999). Howell y Webb (1995) consideran que en el área Mesoamericana (México y norte de Centroamérica) existen aproximadamente 30 géneros (~ 65 especies), y para el sur de Centro América (Costa Rica y Panamá) esta representada la familia con ~56 especies (Stiles & Skutch, 1989; Ridgely & Gwynne, 1989).

Recientemente se han realizado distintos estudios filogenéticos en colibríes a un nivel taxonómico superior, tomando en consideración varios marcadores moleculares como caracteres para obtener las relaciones evolutivas dentro de la familia, así como entender los procesos biogeográficos de dispersión y colonización a lo largo del continente americano (Trochilidae: Bleiwess et al., 1997; Atschuler et al., 2004; McGuire et al., 2007).

En dichos estudios, se ha otorgado a distintos clados una clasificación informal; por ejemplo, Bleiwess et al. (1997) otorgaron distintos nombres a los clados conforme a los resultados obtenidos en los análisis, tomando en cuenta a miembros que poseían características morfológicas importantes, principalmente de plumaje. Encontró siete

distintos clados, los cuales fueron nombrados de la siguiente manera: “Ermitaños”, “Mangos”, “Coquetas”, “Brillantes”, “Esmeraldas”, “Abejas” y “Gemas de Montaña” (Fig. 1). Por otro lado, en el trabajo de Atschuler et al. (2004) y McGuire et al. (2007) encontraron dos grupos más: “Topacios” y “Patagona”, siendo basales para otros grupos sin tener una ubicación clara en la filogenia y representado, en el último caso, por una sola especie (*Patagona gigas*).

Las “Gemas de Montaña” son consideradas de origen reciente al igual que las “Abejas”, los cuales presentan una relación de grupo hermano. Varios miembros de las “Gemas” han sido incluidos en distintos estudios a nivel de familia. Para Bleiweiss et al. (1997) encuentran a *Eugenes fulgens* y *Lampornis clemenciae* integrados en el clado de las “Gemas de Montaña”, mientras que Atschuler et al. (2004) encuentran además a *Heliomaster longirostris* y *Panterpe insignis*, sin incluir a ninguna especie de *Lampornis*.



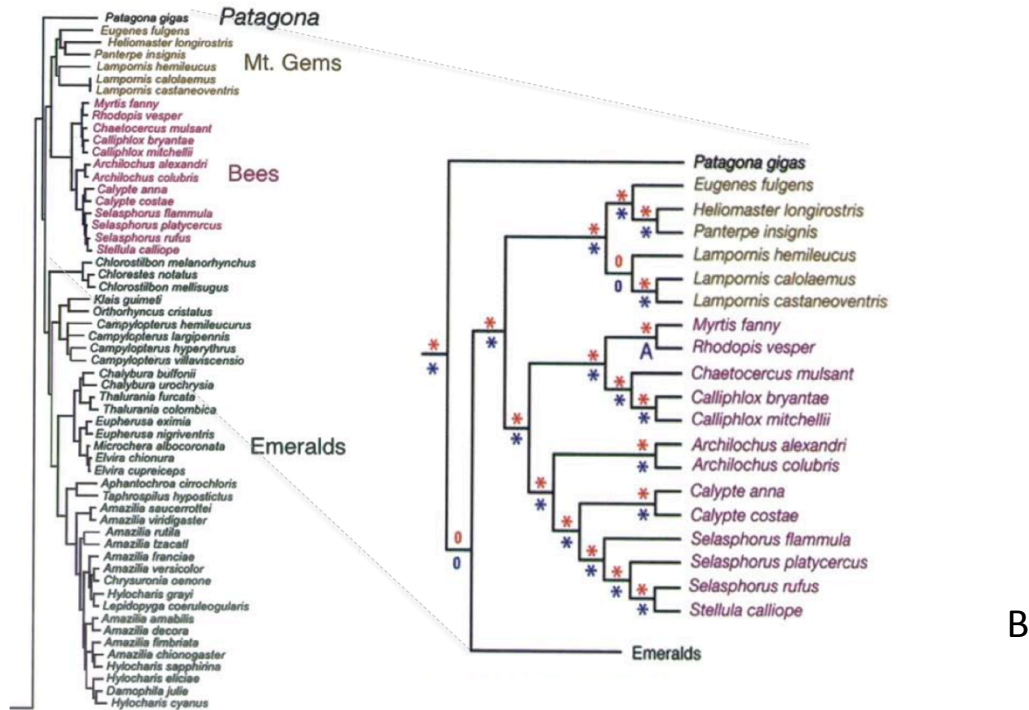


Figura 1. Relaciones evolutivas de Trochilidae con una clasificación informal compuesto por los principales linajes. A. Topología de las relaciones de los colibríes propuesta por Bleiweiss (1997). B. Topología de las relaciones de la familia con mayor aporte de especies (McGuire et al., 2007).

En el estudio más reciente para las relaciones intergenéricas de colibríes, McGuire et al. (2007) muestran la presencia de dos clados pertenecientes a Gemas de Montaña: el primero correspondiendo al grupo hermano de *Lampornis*, consistiendo en *Eugenes fulgens*, *Heliomaster longirostris* y *Panterpe insignis*; y un segundo clado donde se encuentran presentes tres especies de *Lampornis* con distribución centroamericana (*L. hemileucus*, *L. castaneiventris* y *L. calolaemus*). Sin embargo, como sucede en estos estudios a nivel supraespecífico, únicamente se integran algunos representantes de los principales linajes, sin tener de forma completa la filogenia del grupo.

El género *Lampornis* presenta una distribución que abarca desde el sur de Estados Unidos hasta la parte occidental de Panamá, presentando en algunas especies una distribución simpátrica (Fig. 2). Habitan principalmente bosques de montaña, ya sea en bosques de pino, pino-encino y especialmente, en bosque mesófilo de montaña (Howell & Webb, 1995; Schuchmann, 1999). Las principales características morfológicas del género son la presencia de un tamaño corporal relativamente grande, en contraste con

otros taxa; el pico recto y negro; cola bastante larga, amplia, cuadrada y ligeramente hendida, siendo de la misma longitud que las alas; el patrón de la cabeza muestra una raya blanquecina postocular, la parte auricular oscura y además los machos presentan gargantas iridiscentes con variación de coloración interespecífica y, en casos concretos, de forma intraespecífica (e.g. *L. amethystinus*, complejo *L. castaneiventris*), siendo una de las principales características de este grupo de colibríes. Este último rasgo es característico del género, ya que junto con otros caracteres se puede observar el nivel relativamente alto de dimorfismo sexual en comparación con otros colibríes (Howell & Webb, 1995).

Dentro del género se encuentran reconocidas 6 especies: *L. clemenciae* (Colibrí Garganta Azul), *L. amethystinus* (Colibrí Garganta Amatista), *L. viridipallens* (Colibrí Garganta Verde), *L. sybillae* (Colibrí Montañés Pechiverde), *L. hemileucus* (Colibrí Montañés Vientriblanco) y *L. castaneiventris* (Colibrí Montañés Coligrís) (Schuchmann, 1999). Aún cuando no se tiene claro la taxonomía en el complejo de *L. castaneiventris*, considerada una especie politípica (*L. castaneiventris calolaemus*, *L. castaneiventris pectoralis*, *L. castaneiventris cinereicauda*, *L. castaneiventris homogenes*; Schuchmann, 1999), la American Ornithologists Union (AOU) consideran a *L. calolaemus* (Colibrí Montañés Gorgimorado) como una especie distinta a *L. castaneiventris*. Sin embargo, otros autores (Clements, 2009; Dickinson, 2003) reconocen a *L. calolaemus* (*calolaema*) como especie politípica, tomando a las subespecies *L. calolaemus calolaemus*, *L. calolaemus pectoralis* y *L. calolaemus homogenes* como propias de éste; para *L. castaneiventris* se consideran únicamente las subespecies *L. castaneiventris castaneiventris* y *L. castaneiventris cinereicauda*. Para fines prácticos, la taxonomía seguida en este estudio será tomada a partir de la clasificación de Schuchmann (1999) por su simplicidad, como punto de referencia para las variantes taxonómicas escritas anteriormente y a los resultados provistos en este trabajo (Fig. 3).

Durante las últimas décadas, la mayoría de los estudios filogenéticos relacionados con aves se han enfocado en entender las relaciones, principalmente a nivel de especie o género (Bates & Zink, 1994; Burns & Naoki, 2004; Cadena et al., 2007; García-Moreno

& Fjeldså, 1999; Chaves et al., 2007; Chaves & Smith, 2011). Desafortunadamente la información recabada respecto a las relaciones intragenérico en colibríes sigue siendo pobre y así mismo, se encuentra respaldada en algunos casos por estudios de variaciones morfológicas, miológicas o de rasgos anatómicos y no por un mayor aporte de caracteres moleculares que puedan mostrar, de forma alternativa y robusta, la historia evolutiva interespecífica (Schuchmann, 1999; Parra et al., 2009).

Uno de los puntos a considerar son los distintos conflictos que presentan estudios de reconstrucción filogenética con marcadores moleculares en aves, ya que ha resultado en una pobre resolución de las interrelaciones filogenéticas causando la aparición de politomías o de valores bajos de soporte de ramas. Esto se debe fundamentalmente a la elección de marcadores no idóneos, en el uso limitado del número de pares de bases en las secuencias de un marcador o por la integración de un número reducido de muestras (individuos, subespecies). Esto último puede ser a nivel de especie (muestreo intraespecífico), y de muestras consideradas dentro del grupo externo (muestreo interespecífico), en el análisis filogenético (Humphries & Winker, 2010, Omland et al., 1999; Maddison & Knowles, 2006). El último caso expuesto anteriormente, permite conocer las posibles relaciones no resueltas que se ubican en las topologías de forma basal y además, de evitar la aparición de casos de atracción de ramas largas que comúnmente crea una falsa agrupación de taxa (Bergsten, 2005; Lehtonen, 2011).

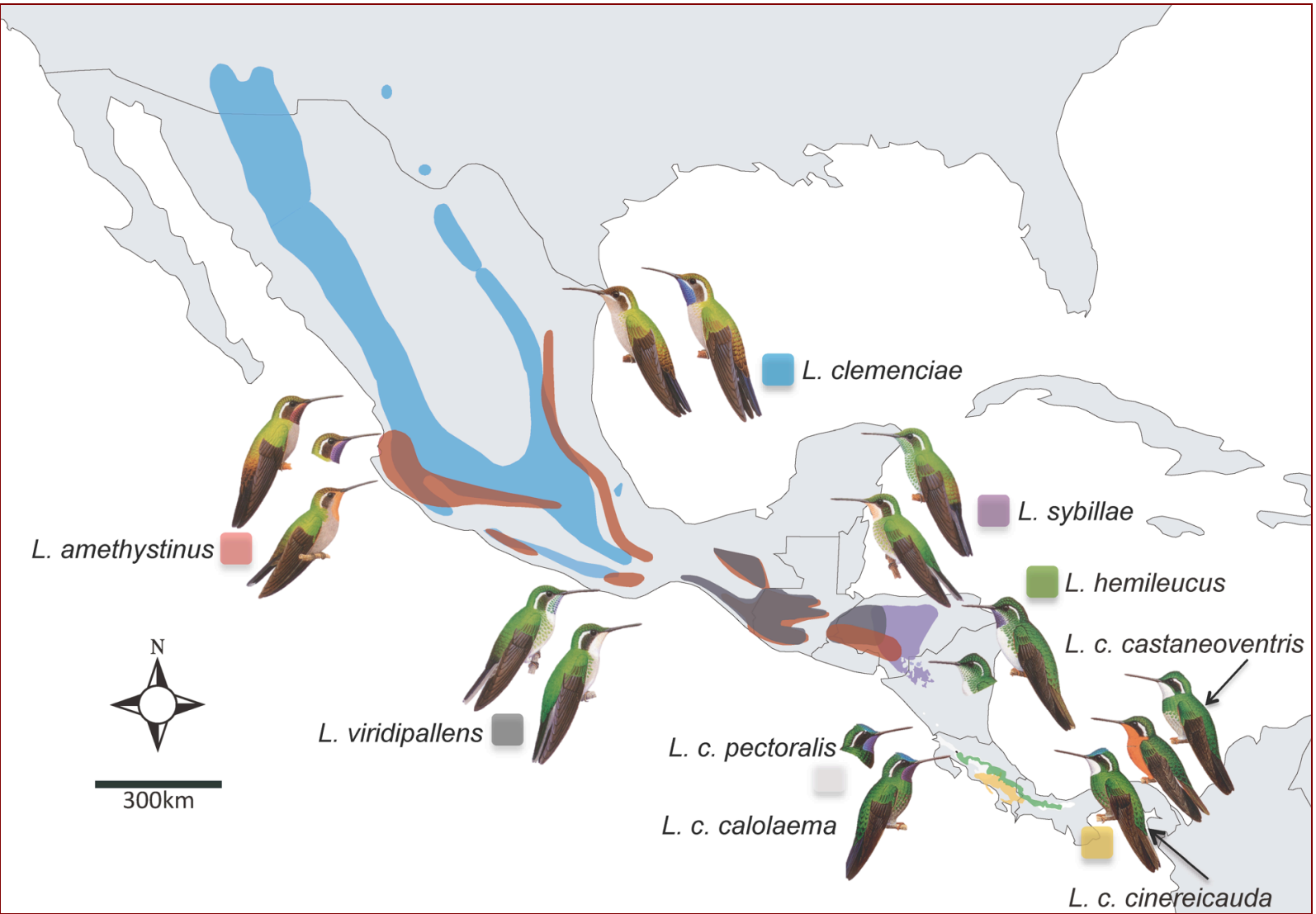


Figura 2. Mapa de la distribución del género *Lamprolaima*. Las distribuciones de las especies fueron tomadas de Ridgely et al. (2007). Se considera la distribución de *L. c. pectoralis* en simpatría con *L. c. calolaema*, en la parte sur de Nicaragua y nororiental de Costa Rica representado en blanco.

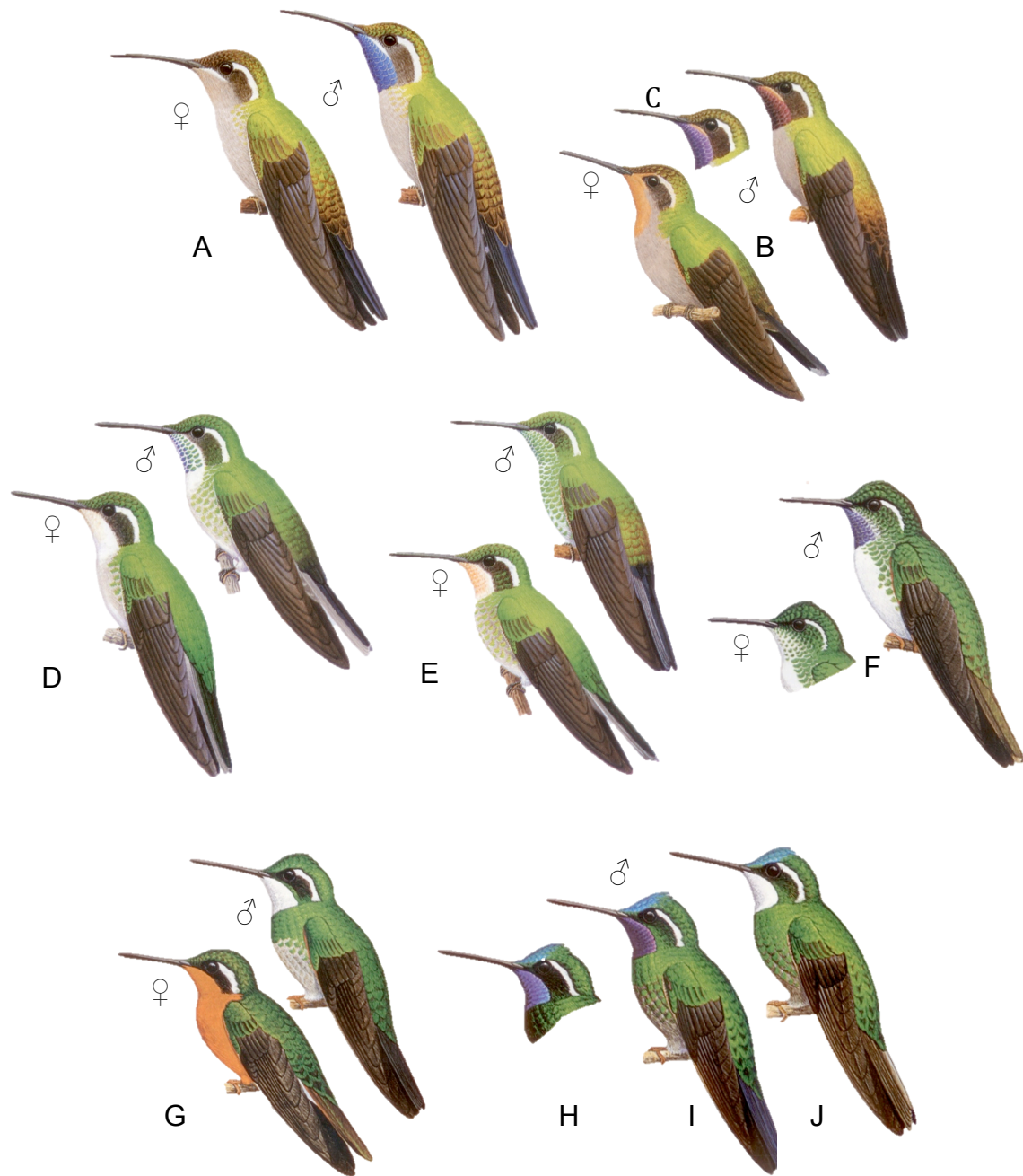


Figura 3. Especies del género *Lampornis*. A) *L. clemenciae*, B) *L. amethystinus*, C) ssp. *L. a. margaritae*, D) *L. viridipallens*, E) *L. sybillae*, F) *L. hemileucus*, G) *L. castaneoventris*, H) ssp. *L. castaneoventris pectoralis*, I) ssp. *L. castaneoventris calolaemus* y J) ssp. *L. castaneoventris cinereicauda*. Ilustraciones tomadas de Schuchmann (1999).

Filogenia molecular de *Lampornis* no resuelta

Se han propuesto varios estudios acerca de las interrelaciones evolutivas que existen dentro del género y su conexión con otros congéneres (grupo hermano). Sin embargo, no se ha logrado obtener una hipótesis sólida sobre las interrelaciones filogenéticas que presenta este taxa. García Moreno et al. (2006), en un estudio previo para el género (genes mitocondriales: ND5 y Cyt-*b*), plantea que el clado obtenido para *Lampornis* es monofilético. No obstante en el trabajo consideraron a *L. hemileucus* no perteneciente al clado de *Lampornis* y de esta manera reconocieron al género parafilético, esto debido a la gran distancia genética y su escaso muestreo de especies para grupo externo (Fig. 4B).

Además, su análisis con un marcador nuclear y un mitocondrial (AK1 y ND2, respectivamente), mostró a *L. hemileucus* como especie hermana de *Panterpe insignis*, aunque en el análisis previo, donde exponen con mayor detalle las relaciones dentro del género, estuvo ausente (Fig. 4A). De esta manera creen que este hecho, ligado con la falta de muestras para el grupo externo, probablemente tenga efecto en la exclusión de *L. hemileucus*, el cual proponen su ubicación en otro género (*Oreopyra*; Ridgway, 1911).

En un estudio posterior, McGuire et al. (2007) proponen nuevas hipótesis en las relaciones evolutivas de los colibríes. Hacen un contraste con los resultados obtenidos por García-Moreno et al. (2006) y descubren algunas inconsistencias, sugiriendo que el conflicto que presentan las topologías es debido a que el trabajo de McGuire et al. (2007) fueron introducidos únicamente tres representantes del género (*L. calolaeumus*, *L. castaneoventris* y *L. hemileucus*), arreglados dentro de un clado monofilético. De la misma manera, *P. insignis*, *Eugenes fulgens* y *Heliomaster longirostris* fueron incluidos en el análisis agrupándose como una unidad monofilética, contradiciendo el estudio de García Moreno et al. (2006) tanto por la ausencia de la unidad *L. hemileucus* - *P. insignis* en una ubicación basal a las Gemas y Abejas, como también por una mayor distancia genética entre *H. longirostris* y los demás taxa considerados “Gemas de Montaña”, el cual presenta mayor cercanía con las Abejas.

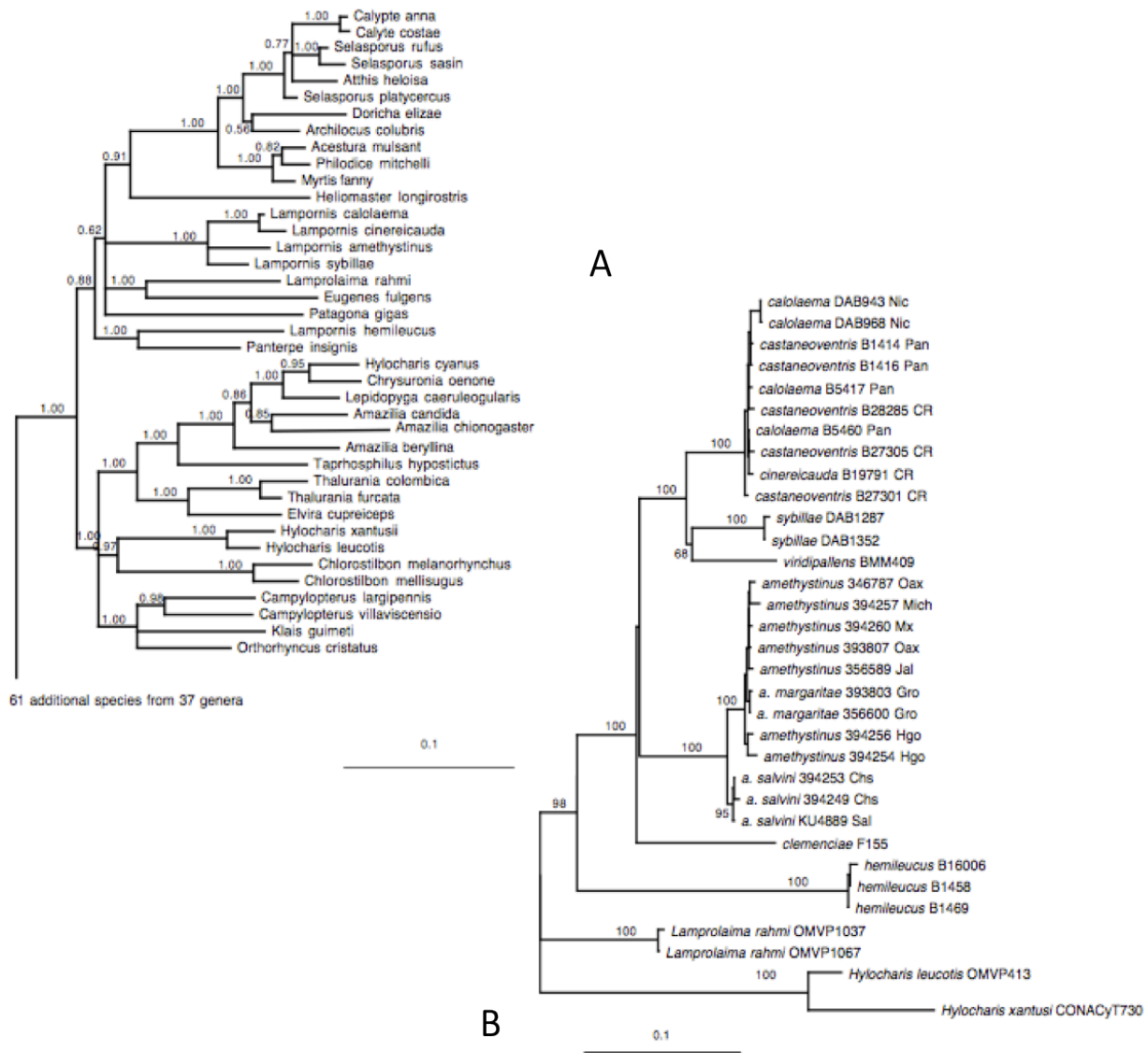


Figura 4. Árboles filogenéticos obtenidos en el trabajo de García-Moreno et al. (2006). A) Topología resultado de un análisis Bayesiano para 100 colibríes con un marcador mitocondrial (ND2) y uno nuclear (AK5). B) Filogenia del linaje *Lampornis* con tres representantes como grupo externo (*L. rahmi*, *H. leucotis* e *H. xantusii*) utilizando marcadores mitocondriales (ND5 y *Cyt-b*).

En un trabajo taxonómico posterior, McGuire et al. (2008) contrastan los resultados de la filogenia de la familia con la del género y atribuye esas diferencias por la inclusión de otros marcadores distintos a los usados por García-Moreno et al. (2006) (McGuire et al., 2007: ND2, ND4, Bfib y AK1; García-Moreno et al. 2006: ND2 y AK1 para 100 colibríes; *Cyt-b* y ND5 para *Lampornis*). Reconoce la poca resolución del género como una entidad monofilética, sugiriendo la necesidad de nuevos estudios como solución para esclarecer este conflicto.

Recientemente Cortes-Rodríguez et al. (2008) realizó un estudio filogeográfico de *L. amethystinus* y encontraron una notable divergencia de localidades, en donde el análisis separó las poblaciones del norte del Istmo de Tehuantepec con las poblaciones del sur. En este estudio se agregaron algunas especies de *Lampornis*, sin obtener con claridad las posibles relaciones que existen entre ellas y en consecuencia, existe incongruencia en los resultados con los trabajos descritos anteriormente. Sin embargo, hacen notorio la importancia del Istmo de Tehuantepec como barrera biogeográfica que provoca una disminución del flujo génico entre poblaciones del occidente con las del oriente del istmo, provocando el aislamiento geográfico. Este ejemplo, junto con otros donde involucran barreras biogeográficas, son fundamentales para entender los procesos de especiación en aves en bosques de montaña.

Historia Biogeográfica

Aunque actualmente se tiene una mejor resolución y conocimiento en diversos estudios filogenéticos sobre la familia, todavía no existe suficiente acercamiento a la biogeografía de los principales linajes, y por consiguiente, suficiente información acerca de los procesos de especiación local. En el caso de las “Gemas de montaña” y las “Abejas” son linajes que se distribuyen, en la mayoría de sus especies, en Centroamérica y Norteamérica, siendo los únicos grupos de colibríes que se expandieron y diversificaron en dicha área (Bleiweiss et al., 1997; McGuire et al., 2007).

En el caso de las “Gemas de Montaña” se considera un clado con distribución casi completamente Norte-Centroamericana (*Heliomaster longirostris* es el único representante que exhibe distribución Sudamericana), lo cual podría permitir comparar este trabajo con estudios realizados en el área de los Andes. En dichos trabajos (*Coeligena*: Parra et al., 2009; *Metallura*: García-Moreno et al., 1999; *Adelomya*: Chaves & Smith, 2011) se exploran las interrelaciones en los géneros y exponen la importancia de los bosques de montaña por medio de los principales mecanismos que originan la especiación en colibríes.

Un ejemplo claro es la importancia de las áreas de montaña como promotoras de altas tasas de diversificación a partir del Pleistoceno hasta el presente; esto debido a las

fluctuaciones climáticas que crearon las glaciaciones y que originó migraciones altitudinales, lo cual dio como resultado una fragmentación de hábitats (Weir, 2006). La comprensión de los patrones biogeográficos en aves ha sido uno de los puntos fundamentales para saber el efecto de distintos fenómenos paleoclimáticos y la aparición de barreras biogeográficas pos-glaciaciones, que modificaron los patrones de distribución y diversificación. No obstante, también se tiene que considerar la dinámica tectónica de México y Centroamérica previa a las fluctuaciones climáticas del Pleistoceno, desarrollados durante el Mioceno y Plioceno (Barrier et al., 1998; Castoe et al., 2009; Kirby et al., 2008).

En el trabajo molecular previo para el género, García-Moreno et al. (2006) sugieren el origen de *Lampornis* en Mesoamérica, comprendiendo el área más al norte de la distribución; además apuntan a que es improbable un origen del género en la distribución actual de *L. clemenciae*, ya que dicha distribución es la más alejada del área de Sudamérica. Sin embargo, la ubicación ambigua de *L. hemileucus* en la filogenia no les permite ligar la probable historia biogeográfica de este taxa con los demás representantes del género, lo cual carece de explicación en el entendimiento de los patrones de distribución actuales de las especies, tomando en consideración el supuesto origen en el Neártico.

Recientemente se ha iniciado el uso de nuevas metodologías para entender los procesos históricos que se han desarrollado a lo largo del tiempo y que han afectado, directa o indirectamente, la forma en que los linajes han evolucionado y como han modificado o mantenido sus patrones de distribución (Ronquist, 2001; Kodandaramaiah, 2010). A partir de esto se ha logrado desarrollar dichos métodos para establecer la probable evolución de áreas ancestrales, tomando en cuenta los datos moleculares y la distribución de los taxa existentes.

Ronquist (2001) propuso DIVA (Dispersal-Vicariance Analysis), uno de los métodos más comúnmente usados en los últimos años dentro de estudios de la biogeografía, por lo que ha sido una herramienta que ha permitido conocer las probables áreas de distribución ancestrales para linajes; todo esto por medio de una optimización a partir

de parsimonia, dando un costo mayor a las dispersiones y extinciones que a la vicarianza. Así varios estudios han usado la reconstrucción de áreas ancestrales sobre filogenias para inferir eventos de vicarianza y, en segundo plano, de dispersión utilizando este método.

Sin embargo, se han dado varias críticas sobre el uso de esta herramienta y el cuidado que se debe tener a las interpretaciones en los resultados arrojados por el programa (Kodandaramaiah, 2010). Uno de los errores frecuentemente observados es la dificultad para considerar la incertidumbre filogenética, ya que puede presentarse de dos maneras: a) la incertidumbre asociada a una estimación de estados ancestrales en un árbol dado, donde se evalúan sólo las reconstrucciones de cambio mínimo, incluso cuando las reconstrucciones alternativas podría ser casi tan probable; b) el error en la estimación filogenética, donde los estados ancestrales se reconstruyen a partir de un árbol único y se asume la filogenia sin error (Sanmartín et al., 2008; Nylander et al., 2008; Kodandaramaiah, 2010; Yu et al., 2010).

A partir de dichas críticas se han creado nuevas herramientas con el fin de evitar los problemas previamente descritos. Nylander et al. (2008) y Harris & Xiang (2009) propusieron alternativas utilizando un enfoque Bayesiano en DIVA (Bayes-DIVA), el cual maneja la incertidumbre filogenética y de optimización, dando un soporte estadístico para las reconstrucciones de áreas ancestrales. También se han creado otras metodologías que consideran un enfoque similar, considerando la Inferencia Bayesiana como método de análisis para la reconstrucción, pero discrepando en la propuesta anterior por un aporte de mayor peso a la dispersión que a los procesos de vicarianza (Olsson et al. 2006; Sanmartín et al., 2008).

Para estas dos alternativas a DIVA, fueron colocadas dentro del programa RASP v.1.1 (Reconstruct Ancestral State in Phylogenies), una continuación del programa S-DIVA v.1.9b (Yu et al., 2010), que efectúa el método propuesto por Nylander et al. (2008) y Harris & Xiang (2009), pero con la diferencia en que se integra el enfoque bayesiano presentado por Olsson et al. (2006) y Sanmartín et al. (2008). Estas herramientas de reconstrucción de estados ancestrales crean un acercamiento al probable área que

llegó a poseer el ancestro común más reciente, utilizando la información actual que se tiene con respecto a las distribuciones de especies existentes. El uso de estas reconstrucciones y la obtención de “Tiempos del Ancestro Común más Reciente” (TMRCA), podrían esclarecer con mayor detalle la evolución de las áreas de distribución y las especies, todo esto para dar robustez a la posible historia biogeográfica del género.

Objetivos:

- Obtener una hipótesis robusta sobre las interrelaciones evolutivas en el género *Lampornis* a partir de marcadores moleculares mitocondriales (Cyt-*b* y ND5).

Objetivos Particulares

- Incrementar el número de muestras de las especies al análisis filogenético que nos proporcione mayor resolución en las interrelaciones del género.
- Agregar nuevos taxa considerados “Gemas de montaña” por varios autores y seleccionar un mayor número de taxa para grupo externo, de acuerdo a su cercanía con el grupo antes mencionado.
- Aportar información adicional con respecto a la importancia de las áreas de montaña como centros de diversificación de las especies de colibríes.

Metodología

Muestreo taxonómico

Las muestras que fueron integradas al estudio se obtuvieron en campo mediante redes de niebla. A partir de la captura fueron recolectadas las dos plumas más externas de las rectoras para cada individuo. El uso de plumas para la extracción de ADN es un método que recientemente ha ido en incremento, tanto por la facilidad del manejo y transporte de muestras como además de ser un método escasamente invasivo, ya que la obtención de plumas reduce el tiempo de cautividad (Harvey et al. 2005). Por otro lado, se utilizaron tejidos de colecciones para tener de forma completa los representantes de Gemas y del grupo externo.

También se agregaron al análisis secuencias del estudio de García-Moreno et al. (2006) para las especies que integran el género, situadas en GenBank (Cyt-*b*: DQ196525-DQ196557, ND5: DQ196558-DQ196590), dando prioridad a las especies (o subespecies) que se ubican en el área de Centroamérica (*L. sybillae*, *L. castaneoventris*, *L. cinereicauda*, *L. calolaemus* y *L. hemileucus*). Con respecto al grupo externo se seleccionaran varias especies cercanamente emparentadas a *Lampornis* y “Gemas de Montaña” (e.g. “Abejas” y/o “Esmeraldas”), tomando en cuenta la última hipótesis filogenética de Trochilidae propuesta por McGuire et al. (2007). En total fueron integradas 60 muestras, las cuales 30 fueron obtenidas en laboratorio y las otras 30 provienen de GenBank (Tabla1; Apéndice).

Extracción de ADN

El protocolo de extracción se llevó a cabo por medio de desnaturalización por ebullición en una solución de 10% de Chelex, propuesto por Singer-Sam (1989), a partir de plumas de rectoras (Morin et al., 1994, Harvey et al. 2005). No obstante, para las muestras con las que se tuvieron dificultades para su amplificación se optó por llevar a cabo el protocolo de extracción en plumas del kit comercial para tejido y sangre (Qiagen, Inc.), siguiendo los pasos recomendados.

Secuenciación de ADNmt

Se realizó la Reacción de Cadena de la Polimerasa (PCR) usando los oligonucleótidos de aves para los marcadores moleculares Citocromo *b* (Cyt-*b*) y NADH deshidrogenasa subunidad 5 (ND5). Se ha visto que el uso de Cyt-*b* muestra variabilidad suficiente para resolver las relaciones interespecíficas (Edwards et al., 1991). El uso de estos genes se da especialmente por la eficiencia que tuvieron en el análisis previo presentado por García-Moreno et al. (2006) y su disponibilidad de secuencias en GenBank. Las reacciones de amplificación fueron realizadas a un volumen total de 18-25 μ l, bajo las siguientes condiciones: 0.9X buffer, 0.7 mM dNTP's, 0.04 U Taq, 2-4 mM MgCl₂, 0.4 μ g/ μ l facilitador BSA, 0.15-0.2 μ M para cada primer (forward and reverse). Para obtener el producto adecuado y evitar problemas de contaminación se realizaron las reacciones con control negativo y en ciertos casos, se uso control positivo para reacciones donde no amplificaron y de esta manera descartar variables que impidan resultados favorables.

Se utilizaron los siguientes oligonucleótidos para Cyt-*b*: L14678-H15149, L15087-H15563 y L15507-H15915; para ND5 se utilizaron los siguientes *primers*: L13589-H14149 y L14080-H14649 (Sorenson et al. 1999). Se emplearon las termocicladoras S1000 (BIO-RAD) y Veriti Dx 96-Well (Applied Biosystems), aplicando las siguientes condiciones de PCR para Cyt-*b*: una fase de desnaturalización inicial de 80°C por 5min; de 30 a 35 ciclos que consistieron en desnaturalización a 95°C por 1min, una fase de alineamiento a 50°C por 4min y sin extensión; por último una etapa de extensión final de 66°C por 10min. Para ND5 se emplearon las siguientes condiciones: una fase de desnaturalización inicial de 94°C por 3min; de 30 a 35 ciclos de desnaturalización a 94°C por 30seg, una fase de alineamiento a 47°C por 30min y una extensión de 72°C por 1min; por último una etapa de extensión final de 72°C por 10min.

Los productos fueron visualizados por medio de gel a 1% de agarosa, teñido de bromuro de etidio y posteriormente las muestras amplificadas se purificaron usando QiaQuick PCR Kit (Qiagen, Inc.). Por último, se realizó una PCR de secuenciación utilizando Big Dye Cycle Terminator Kit, con el programa establecido para el mismo

(desnaturalización inicial de 95°C por 2min; 35 ciclos con desnaturalización a 95°C por 20seg, alineación a 50°C por 30seg y extensión a 60°C por 4min). Todas las secuencias se obtuvieron a partir del secuenciador 310 Automated (Applied Biosystems) y posteriormente fueron editadas utilizando el programa Sequencher 4.10.1. (Gene Codes) En el caso de la obtención de secuencias a partir de dos o más *primers* o iniciadores de distintos fragmentos de un gen, se integraron al programa de forma conjunta realizando la edición completa de todo el gen para cada muestra.

Análisis Filogenéticos

Las secuencias fueron alineadas de forma manual con el programa Se-AL Editor v2.0a11 (Rambaut, 2002) a partir de las secuencias que se encontraban depositadas en GenBank. Se crearon alineamientos para cada gen por separado y un alineamiento más combinado. Se realizó una prueba de homogeneidad de partición con 1000 réplicas (Incongruence Length Difference Test; Farris et al., 1995) en PAUP* v.4.0b10 (Swofford, 2002), esto con el fin de determinar si la señal filogenética en las dos particiones (genes) son compatibles.

El punto fundamental de este trabajo es inferir las relaciones evolutivas a través de metodologías filogenéticas que tomen en cuenta el uso de caracteres moleculares con información evolutiva. Por consiguiente, se realizaron análisis filogenéticos por medio de Máxima Parsimonia (MP), Máxima Verosimilitud (MV) e Inferencia Bayesiana (IB), usando las secuencias de nucleótidos a partir de los dos marcadores de ADN mitocondrial (*Cyt-b* y ND5).

En el caso de MP se utilizó el programa PAUP* v.4.0b10 (Swofford, 2002) y se estableció el tipo de búsqueda heurística con un intercambio de ramas "Tree Bisection Reconnection" (TBR), adición de secuencia aleatoria, un número de réplicas de 10, retención de un número máximo de árboles a 1000 y se obtuvo una topología de inicio por medio de "Stepwise addition". Posteriormente se obtuvo el soporte de la señal de clados por medio de la prueba de Bootstrap a partir de 1000 réplicas (Felsenstein, 1985) y se obtuvo un árbol consenso de mayoría (50%) con soporte nodal a partir de las topologías obtenidas en el análisis.

Para los análisis probabilísticos (MV e IB) se obtuvo los modelos evolutivos con el programa jModelTest 0.1.1 (Posada & Crandall, 1998) para determinar los parámetros de mejor ajuste del modelo de evolución para cada marcador y para el análisis concatenado, utilizando el Criterio de Información de Akaike (AIC). Para el modelo evolutivo que mejor se ajusta para ND5 fue HKY+ Γ +I, mientras que para Cyt-*b* el modelo fue TPM3uf+ Γ +I. Para los dos genes concatenados se obtuvo el modelo GTR+ Γ +I como el de mejor ajuste. Sin embargo, para algunos análisis (MV y TMRCA) fue utilizado el modelo GTR (GTR+ Γ +I) para el uso de particiones, ya que se ha observado que el uso de este modelo tiene cierta ventaja sobre otros modelos más simples, otorgando ligeramente mejores puntuaciones de máxima verosimilitud, además de que es el modelo más común y general para análisis de datos en ADN (Brown & Lemmon, 2007, Stamatakis, 2006).

Obteniendo los modelos evolutivos con el paso anterior, se realizó la búsqueda a partir del análisis de MV, por medio de un algoritmo exhaustivo presente en el programa RaxML v 7.0.4 (Stamatakis, 2006), con un modelo evolutivo GTR con 4 categorías de 1000 réplicas de bootstrap no paramétrico y una posterior búsqueda del árbol de máxima verosimilitud con el modelo GTR (+ Γ +I), siendo este modelo el único presente en el programa por las propiedades antes mencionadas.

Por otra parte, se desarrolló el análisis de IB con MrBayes v.2.0 (Huelsenbeck & Ronquist, 2001) y se calculó las probabilidades usando la Cadena de Monte Carlo de Markov (MCMC). Se corrió el análisis a 20 millones de generaciones por medio de dos corridas independientes con cuatro cadenas. Los árboles fueron muestreados cada 1000 generaciones después de un *burn-in* inicial del 25%. Para el soporte de nodos en los clados se consiguieron las probabilidades posteriores (pp). Para observar el establecimiento de convergencia en la búsqueda de las mejores topologías por IB, se introdujo los archivos de las probabilidades para cada corrida, arrojados por MrBayes, en el programa Tracer v1.5, esto con el fin de observar la convergencia, es decir, si las cadenas tuvieron la habilidad de llegar a una región de alta probabilidades posteriores del espacio de parámetros.

Estimación del Tiempo del Ancestro Común más Reciente (TMRCA)

Para aproximarnos a los tiempos del ancestro común más reciente (TMRCA) de los nodos y tener un estimado de la filogenia, usamos el programa BEAST v. 1.5.4 (Drummond & Rambaut, 2007). Este programa usa el método Bayesiano de Cadena Markoviana (MCMC) y un muestreo de topologías, los cuales son pesados de acuerdo a sus probabilidades posteriores. Esto deriva de una incertidumbre filogenética que es tomada en cuenta para la estimación de tiempos de divergencia y otros parámetros, con un 95% de intervalo de confianza.

Para validar el supuesto del reloj molecular para el grupo de secuencias utilizadas, se realizó la prueba “Likelihood ratio test” (Felsenstein, 1981), donde permite rechazar o aceptar la hipótesis nula, la cual expone que el grupo de secuencias se comportan de acuerdo al supuesto del reloj molecular. Esto se estima mediante la comparación estadística de verosimilitudes, forzando o no el reloj a los datos; las verosimilitudes de ambos modelos fueron estimados en PAUP* v.4.0b10 (Swofford, 2002) y el cálculo para “Likelihood ratio test” fue elaborada en el programa jModelTest 0.1.1 (Posada & Crandall, 1998). La prueba indicó que para el grupo de datos no fue válido el supuesto de reloj molecular ($df=58$, $-2 \log \Delta=178.346$, $P<0.001$), lo cual indica una heterogeneidad de tasas entre linajes.

A partir de la matriz completa de los dos genes mitocondriales, se generó un archivo en BEAUTI v.1.5.4 (Drummond & Rambaut, 2007) con los parámetros deseados. Se utilizó un reloj relajado (Uncorrelated Lognormal; Drummond et al. 2006), considerando los resultados de “Likelihood ratio test”, lo cual permite que el intervalo de confianza en los tiempos de divergencia mida la varianza de la tasa de heterogeneidad entre las ramas. Los datos fueron particionados para cada gen donde fueron usados los modelos evolutivos propuestos por jModelTest 0.1.1 (Posada & Crandall, 1998) y los análisis fueron corridos a 50 millones de generaciones, con una frecuencia de muestreo cada 1000 generaciones. Se pudo observar a través de Tracer v1.5 el establecimiento de convergencia y los valores del tamaño efectivo de muestra (ESS) mayor a 200.

La tasa del porcentaje de divergencia que se considera en este estudio es la propuesta para el *Cyt-b* por Weir & Schluter (2008), con el 2.1% (0.0105 s/s//m: sustituciones/sitio/linaje/millón de años). Para conocer la variabilidad de las tasas entre los genes usados (*Cyt-b* y ND5), se realizó comparaciones por pares de las distancias genéticas sin corregir (*P*-distancia) para cada uno de los marcadores (Tilston & Klicka, 2010). Aún cuando presentan los dos genes una tasa muy similar ($r=0.93$), el análisis indicó que la tasa de ND5 evoluciona ligeramente más rápido que el *Cyt-b*; es decir, que para ND5 se obtuvo una tasa de divergencia del 2.25% (0.0112 s/s//m), donde esta cifra fue obtenida a partir de la pendiente de la línea de regresión (Fig. 5). De esta manera se pudieron integrar las tasas de forma independiente para cada gen dentro de BEAUTI. Por último, se realizó un resumen de los árboles con el software Treeannotator v1.5.4. La topología final, con los intervalos de confianza del 95% y los tiempos de divergencia fueron visualizados por medio del programa FIGTREE v1.3.1.

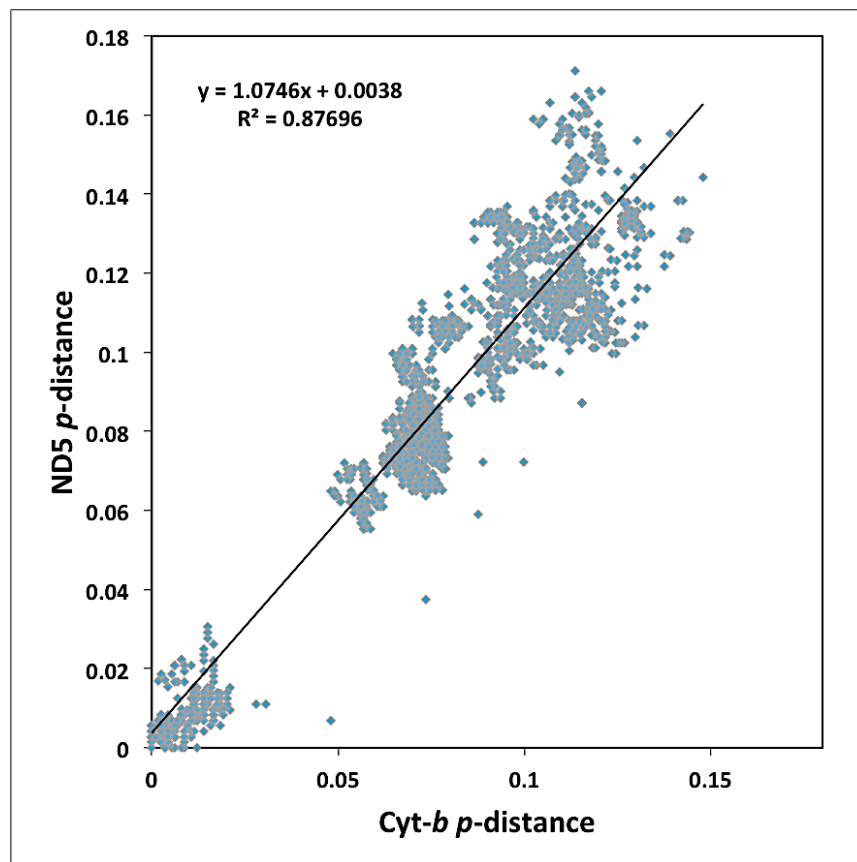


Figura 5. Relación entre las distancias sin corregir “*P*” para el *Cyt-b* y ND5 para la obtención de un aproximado de la tasa de sustitución de ND5 para la estimación de TMRCA.

Análisis Biogeográfico

El uso de las reconstrucciones de áreas ancestrales es un herramienta que ofrece un panorama de la probable historia biogeográfica que pudo haber afectado las distribuciones actuales de los taxa existentes, tomando en cuenta parámetros que puedan discriminar escenarios poco factibles en la evolución del intervalo geográfico para el taxón. Para obtener este acercamiento biogeográfico se corrió un análisis de reconstrucción de áreas ancestrales (RAA) por medio del programa RASP v.1.1 (Reconstruct Ancestral State in Phylogenies; Yu et al., 2011), el cual posee el método de S-DIVA y que mantiene cierta ventaja con la metodología de DIVA por considerar la incertidumbre filogenética en las reconstrucciones. Se introdujeron al programa el grupo de arboles arrojados por MrBayes v.2.0 (Huelsenbeck & Ronquist, 2001), para los cuales se obtuvo un resumen por medio de un árbol consenso, mismo que fue utilizado para la reconstrucción.

Para colocar las distribuciones de cada especie en el análisis, se consideraron las distintas áreas de montaña y barreras biogeográficas que han sido evaluadas por distintos autores por favorecer la divergencia genética en distintos taxa (Cortes-Rodríguez et al., 2008; Weir et al., 2008; Castoe et al., 2009; Daza et al., 2010). De esta manera, se tomo en cuenta cuatro áreas donde se presenta el género, así como su grupo hermano: A) Oeste del Istmo de Tehuantepec, B) Este del Istmo de Tehuantepec, C) Cordillera de Talamanca y D) Darién-Sudamérica (Fig. 6). En el caso de las barreras biogeográficas consideradas para la división de las áreas fueron, en todos los casos, zonas de tierras bajas (Istmo de Tehuantepec, Depresión de Nicaragua e Istmo de Panamá). Esta clasificación simple permite, de una manera general, obtener las distribuciones ancestrales y entender la evolución de las mismas, donde se encuentran involucradas las especies existentes.

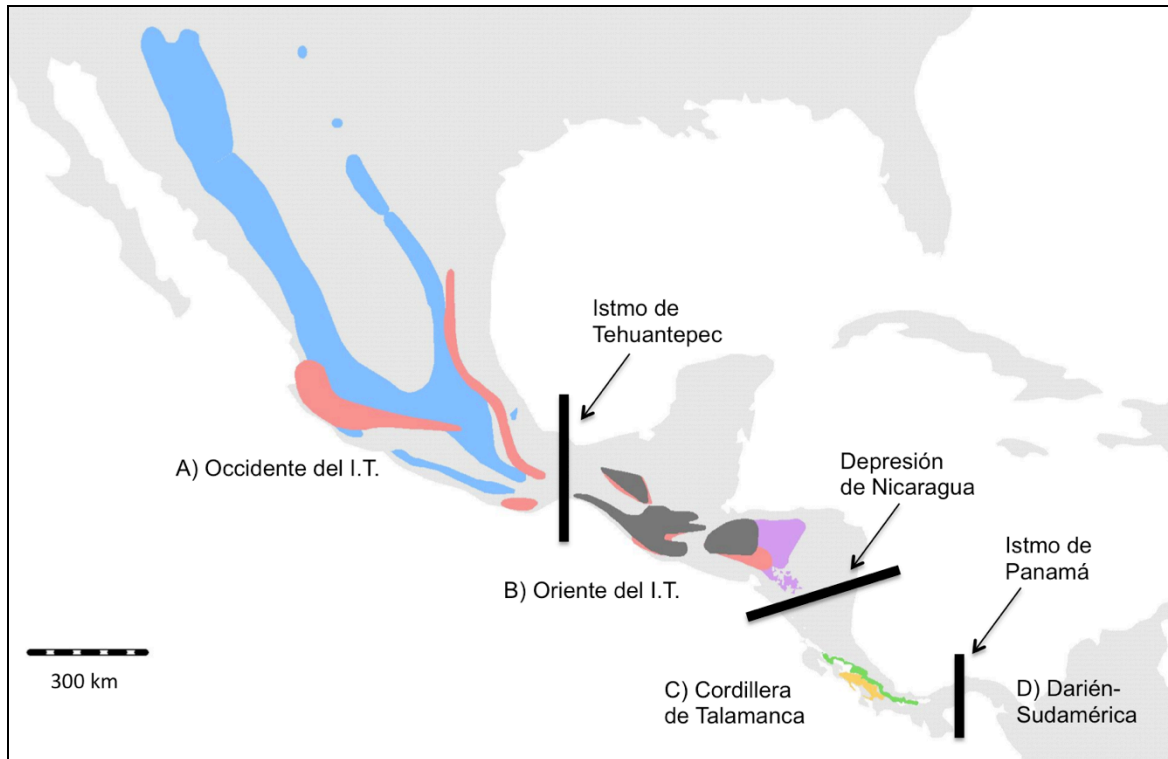


Figura 6. Clasificación de áreas introducidas en RASP, de acuerdo a las distribuciones de las especies de *Lampornis* y las Gemas de Montaña, además de las principales barreras biogeográficas de tierras bajas.

Se realizó el análisis con un número máximo de áreas de cuatro, que se restringió para cada reconstrucción siendo un punto fundamental para observar un probable escenario: un ancestro con distribución amplia (cuatro áreas), donde se toma en cuenta el potencial de dispersión que puede ser fundamental para conocer la biogeografía del género. Esto además se ve reflejado en algunos representantes cercanos a *Lampornis*, los cuales presentan distribuciones amplias en las mismas áreas consideradas para el análisis (*E. fulgens*, *H. longirostris* y *H. constantii*). Además se discriminaron los intervalos ancestrales inverosímiles, donde se excluyen las áreas disyuntas (e.g. AD, AC) a partir de la matriz de distribuciones en S-DIVA, favoreciendo los eventos de vicarianza que de dispersión por una mayor probabilidad del ancestro de poseer un área continua que pueda ser fracturada por barreras, más que por las capacidades de dispersión. Se corrió el análisis con los parámetros por default con cada topología obtenida por IB y se realizó un *burn-in* para todos los árboles del 10%, el cual dejó un total de 27,001 árboles considerados para el análisis de S-DIVA, mismos que fueron

utilizados para obtener un árbol consenso con los gráficos de las probabilidades de cada nodo.

Resultados

Inferencia Filogenética

Fueron secuenciados un total de 1,866 pares de bases, de las cuales 1,143 fueron para el citocromo *b* (Cyt-*b*), y 723 para NADH deshidrogenasa subunidad 5 (ND5). La variación de nucleótidos de cada gen fue mayor en el Cyt-*b*, debido probablemente por poseer una mayor cantidad de pares de bases en comparación con el ND5; esto se refleja en un mayor número de sitios informativos para Cyt-*b* (Tabla 1).

Las topologías provistas por los análisis con los mismos taxa y número de sitios, exhibieron conflicto entre los dos genes, esto observado a partir de la prueba de heterogeneidad de particiones (ILD test, $P=0.02$). Por lo tanto, se realizaron los análisis con los genes concatenados, pero obteniendo de forma independiente para cada gen la estimación de parámetros (particiones). Aunque los datos particionados fueron muy útiles para resolver los nodos más profundos, se observaron cambios en la topología en las relaciones fuera del género con cada gen de forma independiente (Figs. 13, 14, 15 y 16; Apéndice). Aún cuando se mostraron estos cambios, las relaciones en el género se mantuvieron estables, con algunas variaciones en los valores de soporte (Fig. 8).

Tabla 1. Número de pares de bases para cada gen y genes concatenados (P.B.). Sitios variables y su porcentaje (S.V. y %S.V. respectivamente). Además se muestran los sitios informativos en parsimonia (S.I.) y los índices de consistencia y de retención (IC e IR).

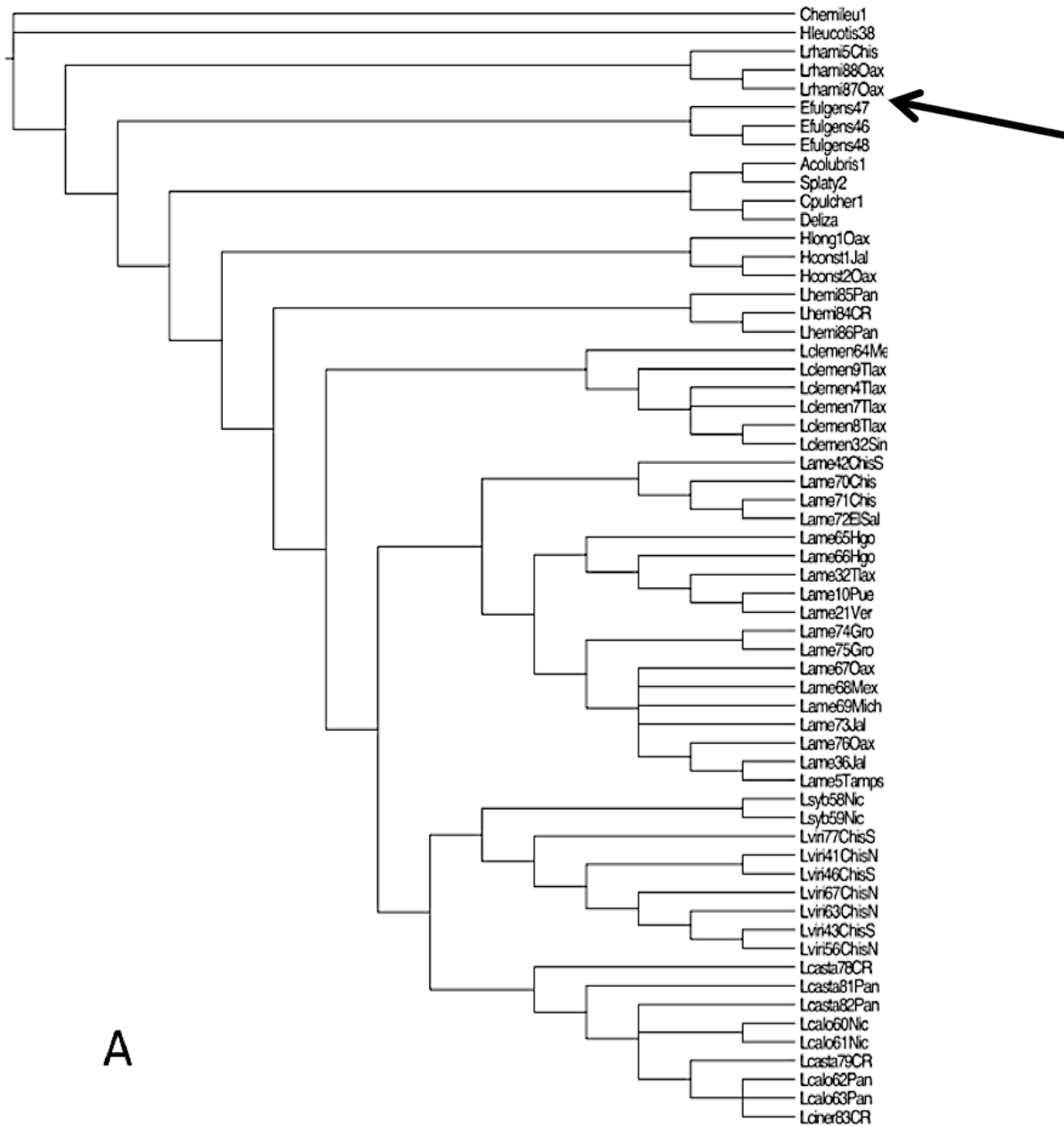
Gen	P.B.	S.V.	%S.V.	S.I.	IC / IR	Frecuencia de Bases				Modelo
						A	C	G	T	Evolutivo
Cyt-<i>b</i>	1143	447	23.9	344	0.46 / 0.81	0.281	0.352	0.126	0.238	TPM3uf+ Γ +I
ND5	723	294	15.7	230	0.45 / 0.84	0.305	0.342	0.121	0.230	HKY+ Γ +I
Concatenado	1866	741	39.7	574	0.45 / 0.82	0.291	0.348	0.124	0.235	GTR+ Γ +I

Se obtuvieron las topologías para cada enfoque filogenético (MP, MV e IB). Sin embargo, se pudo observar un efecto de Atracción de Ramas Largas (ARL) en los análisis realizados con las Esmeraldas como grupo externo (*H. leucotis* y *C. hemileucurus*). Esto fue visto por la aparición de representantes de Gemas (*H. leucotis* y *E. fulgens*) en una ubicación más basal en el análisis de MP (Fig. 7), además por un aparente relación de *H. longirostris* – *H. constantii* con las Abejas en los análisis probabilísticos y valores de soporte bajos en nodos particulares (Figs. 11 y 12, Apéndice). Por consiguiente, se reportan las topologías con marcadores concatenados para cada método, excluyendo a las Esmeraldas y enraizando con las Abejas. De la misma manera, se realiza la misma exclusión para los análisis efectuados para cada gen, empleando las metodologías probabilísticas (MV e IB) (Apéndice, Fig. 13-16).

El análisis de MP fue hecho con el fin de conocer el uso de esta metodología para tener como resultado los árboles más parsimoniosos y conocer otro enfoque distinto a los métodos probabilísticos. El análisis arrojó 36 árboles parsimoniosos, donde el árbol con menor número de pasos presentó 1579 en su longitud total (con las Esmeraldas= 1855 pasos). Para el caso del análisis de MV se obtuvo el árbol con -10,451.87 de optimización final de máxima verosimilitud (-11,673.4 con las Esmeraldas). Para la IB se realizó una búsqueda, misma que fue evaluada en Tracer v.1.5, donde se observaron valores superiores a 200 para Tamaño de Muestra Efectiva (ESS), mismo procedimiento hecho para los resultados de BEAST. De la misma forma se muestrearon para este enfoque 30,000 árboles, conformando el 95% de intervalo de confianza, los cuales fueron utilizados para obtener un consenso de mayoría (50%).

Se obtuvieron dos distintos clados considerados por la clasificación informal propuesta por Bleiwess et al. (1997) para los principales linajes de colibríes. El primer clado está conformado por el linaje de las Abejas (*A. colubris*, *S. platycercus*, *D. eliza* y *C. pulcher*); el segundo clado se encuentra presente el linaje de las Gemas de Montaña, el cual presenta dos subclados: 1) Gemas I, donde se presentan el grupo hermano de *Lampornis* (*H. longirostris*, *H. constantii*, *E. fulgens* y *L. rhami*) y 2) Gemas II, correspondiendo a los representantes de *Lampornis* (Fig. 8).

En el caso de las Abejas se obtuvo un grupo monofilético para las cuatro especies, agrupándose de la misma manera para los tres análisis. Estas relaciones fueron de la siguiente forma: *A. colubris* – *S. platycercus* y *D. eliza* – *C. pulcher*, con valores altos de Bootstrap y PP para este clado. Aunque mantiene buen soporte la relación de los cuatro representantes de las Abejas, el clado de *A. colubris* – *S. platycercus* presenta valores relativamente bajos (Fig. 8).



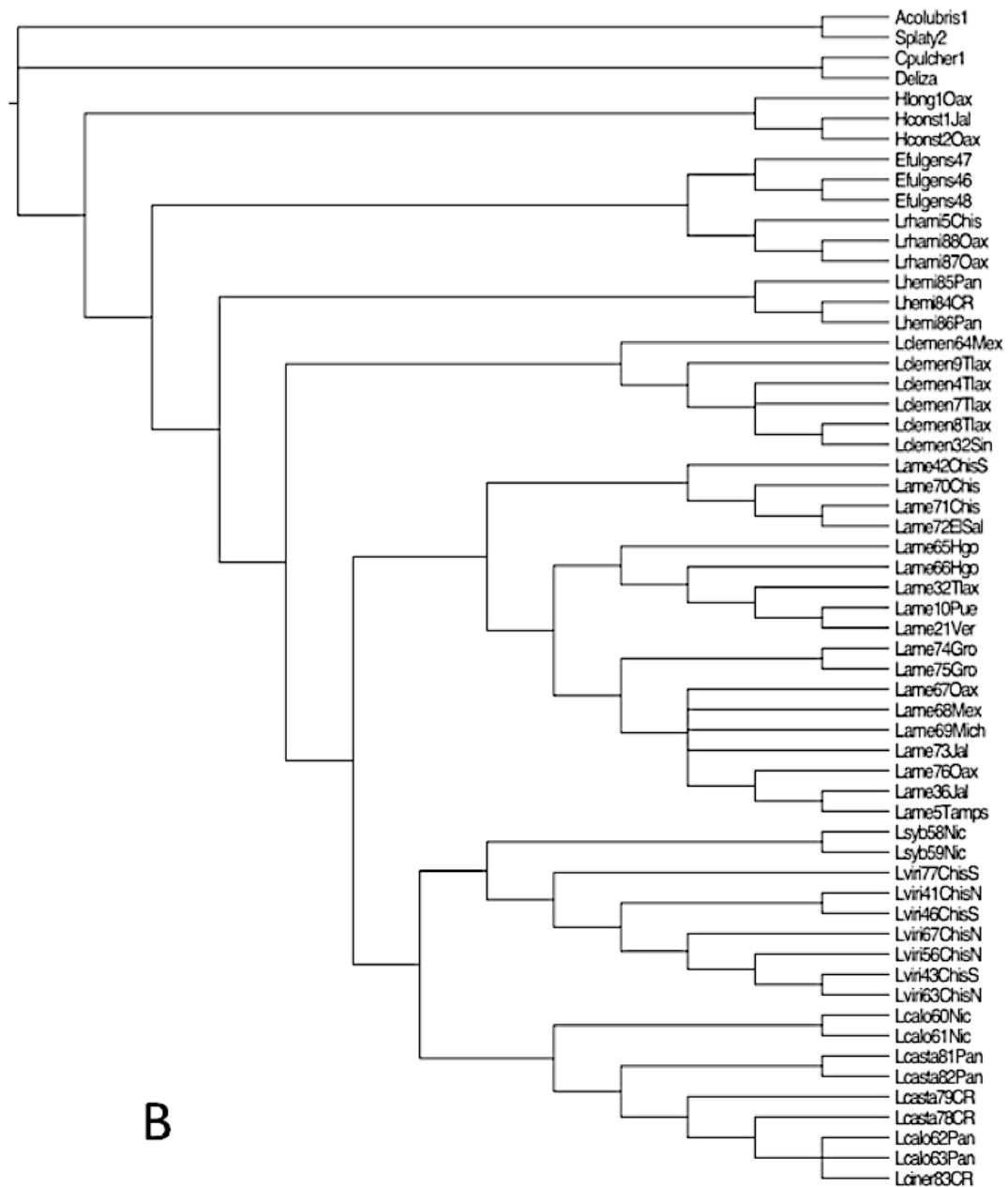


Figura 7. Efecto de la Atracción de Ramas Largas (ARL) en los análisis de MP, de los árboles de consenso de mayoría (50%). A) Filogenia de MP con las Esmeraldas (*C. hemileucurus* y *H. leucotis*). B) Filogenia con MP sin Esmeraldas.

Las relaciones evolutivas dentro de las Gemas de montaña no difieren notablemente entre cada enfoque filogenético. Sin embargo, dentro del clado “Gemas I” (Fig. 8), la ubicación de *H. constantii* – *H. longirostris* no es clara en los análisis probabilísticos con

las Esmeraldas como grupo externo, lo cual modifica su lugar como grupo hermano de las Abejas y se desconoce si dicha ambigüedad sea efecto de ARL. Dicha relación, para los análisis sin las Esmeraldas, presenta una ubicación basal a las “Gemas de Montaña” en los tres análisis, mostrando altos valores de Bootstrap y PP.

Para la relación del grupo hermano de *Lampornis*, comprendiendo a *L. rhami* - *E. fulgens*, presenta una inconsistencia para el análisis de MV en contraste con los otros enfoques, ya que dicha relación cambia por la posición de *L. rhami* basal a *E. fulgens* (Bootstrap: > 95) y este último siendo basal a *Lampornis* (< 60 Bootstrap). Para las dos topologías de la inferencia probabilística con las Esmeraldas presentan dicha relación de especies hermanas con estos dos taxa, no así sus soportes de nodo de cada enfoque son bajos (<60 Bootstrap; <0.6 PP). Aún cuando esta relación de especies hermanas se mantiene en las otras topologías (MP y IB), la única que presenta un soporte alto para la relación entre *L. rhami* - *E. fulgens* con *Lampornis* es la IB (>0.95 pp; Fig. 8).

Para el clado de las “Gemas II”, presentes los representantes de *Lampornis*, se hace notar la monofilia del género donde *L. hemileucus* no muestra alguna otra ubicación y se mantiene basal en las tres inferencias filogenéticas con los representantes del género, aun cuando es considerable la distancia genética de este taxa con los demás especies de *Lampornis* (promedio $D_{ML}=0.1207$, $D_P=0.1115$; Tabla 3). Esta relación se mantiene con valores de nodos altos que presenta este taxa con relación a sus congéneres, a excepción de MP que exhibe valores de Bootstrap bajos (< 60).

Para la relación de las especies de *Lampornis* restantes no presentan cambios significativos entre las metodologías. Mantiene una posición basal *L. clemenciae* con respecto a sus congéneres, con excepción de *L. hemileucus*. Esta relación mantiene valores altos de Bootstrap y PP (Fig. 8) lo cual mantiene confiabilidad su ubicación en la hipótesis sin mostrar variante alguna (promedio $D_{ML}=0.087$, $D_P=0.082$ de *L. clemenciae* con las especies del género; Tabla 2).

Para el caso de la relación entre *L. amethystinus* y los *Lampornis* del área norte y sur de Centroamérica (*L. viridipallens*, *L. sybillae*, complejo *L. castaneiventris*) muestra

valores de Bootstrap altos (>90) y de igual forma para las PP (>0.85). *L. amethystinus* mantiene una estructura intraespecífica de acuerdo al contraste genético entre este y oeste del Istmo de Tehuantepec, además de una aparente obtención de dos clados divididos por representantes de la Sierra Madre Oriental (SMOr) y Occidental (SMOcc). Sin embargo, la aparición de un representante del norte de la SMOr dentro del grupo hermano (*L. amethystinus* 5) mantiene incongruente dicha estructura geográfica intraespecífica.

El clado con los representantes del norte y sur de Centroamérica (*L. viridipallens*, *L. sybillae*, complejo *L. castaneoventris*) muestran buen soporte de Bootstrap y PP. La relación de *L. viridipallens* y *L. sybillae* se mantienen como especies hermanas en las tres metodologías, aunque su soporte nodal no llegan a ser tan altos (0.76 PP y 77, 71 Bootstrap de MV y MP respectivamente). En el caso del complejo de *L. castaneoventris* no presenta una estructura filogenética con respecto a las especies (o subespecies) reconocidas, mostrando esta relación como una politomía (promedio de distancia genética para el complejo *L. castaneoventris* $D_{ML} = 0.003$).

Tabla 2. Promedio de la distancia genética por Máxima verosimilitud (Debajo de la diagonal) y *P*-no corregida (Arriba de la diagonal) entre especies. Últimas dos columnas se presenta la distancia genética intraespecífica (DI).

Especie	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	DI	
																			ML	P
1 <i>L. clemenciae</i>	-	0.079	0.073	0.079	0.077	0.076	0.077	0.113	0.101	0.090	0.108	0.129	0.107	0.113	0.133	0.118	0.116	0.104	0.005	0.005
2 <i>L. viridipallens</i>	0.083	-	0.075	0.057	0.058	0.058	0.059	0.110	0.106	0.086	0.110	0.122	0.103	0.103	0.126	0.120	0.109	0.101	0.009	0.009
3 <i>L. amethystinus</i>	0.077	0.079	-	0.076	0.070	0.069	0.071	0.114	0.098	0.094	0.114	0.130	0.111	0.109	0.132	0.117	0.121	0.111	0.010	0.010
4 <i>L. sybillae</i>	0.083	0.059	0.080	-	0.054	0.060	0.062	0.110	0.109	0.088	0.115	0.129	0.109	0.108	0.136	0.126	0.115	0.104	0.002	0.002
5 <i>L. calolaema</i>	0.081	0.056	0.073	0.063	-	0.004	0.004	0.110	0.110	0.093	0.109	0.128	0.107	0.103	0.128	0.121	0.111	0.105	0.004	0.004
6 <i>L. castaneoventris</i>	0.080	0.061	0.073	0.062	0.004	-	0.002	0.110	0.110	0.108	0.129	0.092	0.106	0.102	0.127	0.121	0.110	0.103	0.003	0.003
7 <i>L. cinereicauda</i>	0.081	0.061	0.074	0.064	0.004	0.002	-	0.111	0.117	0.093	0.109	0.130	0.107	0.103	0.129	0.123	0.112	0.105	-	-
8 <i>L. hemileucus</i>	0.122	0.119	0.123	0.119	0.119	0.118	0.120	-	0.111	0.105	0.122	0.137	0.123	0.128	0.140	0.132	0.127	0.117	0.003	0.002
9 <i>E. fulgens</i>	0.109	0.115	0.106	0.118	0.119	0.119	0.121	0.122	-	0.085	0.105	0.122	0.109	0.108	0.126	0.104	0.112	0.104	0.006	0.005
10 <i>L. rhami</i>	0.097	0.092	0.101	0.095	0.099	0.099	0.100	0.113	0.091	-	0.103	0.118	0.093	0.097	0.115	0.108	0.103	0.092	0.011	0.011
11 <i>H. longirostris</i>	0.077	0.120	0.124	0.126	0.118	0.118	0.120	0.134	0.114	0.100	-	0.104	0.112	0.113	0.137	0.127	0.106	0.107	-	-
12 <i>H. constantii</i>	0.143	0.134	0.144	0.143	0.142	0.142	0.143	0.153	0.134	0.100	0.113	-	0.131	0.130	0.142	0.140	0.125	0.121	0.033	0.032
13 <i>A. colubris</i>	0.115	0.112	0.120	0.118	0.115	0.114	0.116	0.134	0.118	0.100	0.119	0.145	-	0.076	0.130	0.125	0.089	0.067	-	-
14 <i>C. pulcher</i>	0.123	0.111	0.118	0.117	0.141	0.110	0.111	0.141	0.117	0.104	0.143	0.143	0.081	-	0.130	0.124	0.068	0.067	-	-
15 <i>D. eliza</i>	0.126	0.087	0.133	0.125	0.111	0.120	0.122	0.140	0.123	0.112	0.138	0.138	0.095	0.072	-	0.082	0.133	0.126	-	-
16 <i>S. platycercus</i>	0.113	0.109	0.121	0.113	0.141	0.113	0.114	0.127	0.113	0.099	0.132	0.132	0.071	0.088	0.088	-	0.126	0.118	-	-
17 <i>C. hemileucurus</i>	0.148	0.140	0.147	0.152	0.142	0.141	0.143	0.157	0.140	0.127	0.160	0.160	0.144	0.149	0.149	0.138	-	0.120	-	-
18 <i>H. leucotis</i>	0.131	0.133	0.129	0.140	0.134	0.134	0.137	0.148	0.114	0.119	0.158	0.158	0.139	0.140	0.140	0.132	0.134	-	-	-

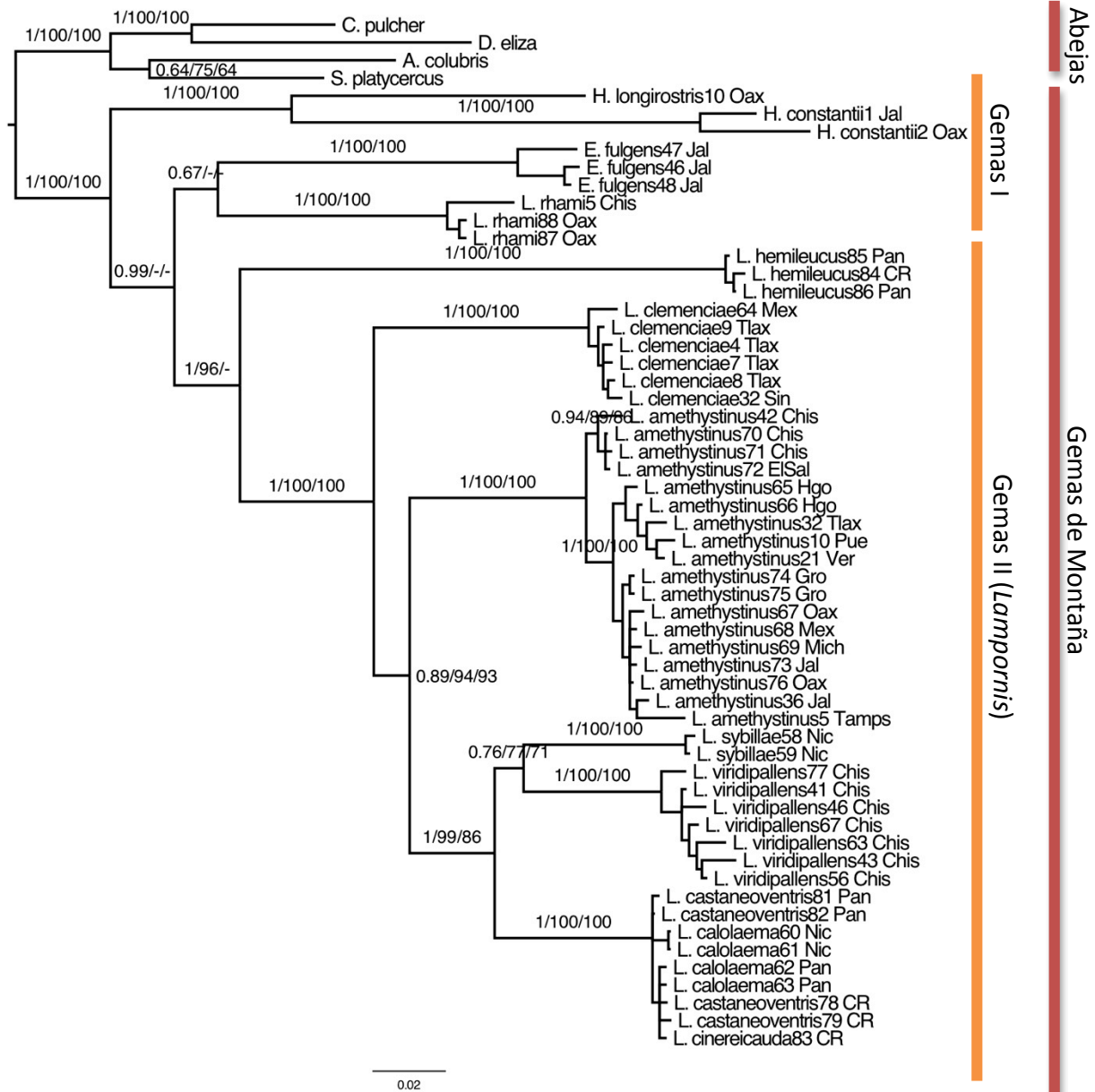


Figura 8. Inferencia Filogenética de *Lampornis* utilizando IB para los dos genes mitocondriales usados en el estudio (*Cyt-b* y *ND5*). Los valores mostrados corresponden al soporte de nodos (PP / Bootstrap por MV / Bootstrap por MP). Nomenclatura de las terminales corresponden a la especie y su origen geográfico de la muestra: CR=Costa Rica, Pan=Panamá, EISal=El Salvador, Nic=Nicaragua, Chis=Chiapas, Oax=Oaxaca, Mex=Edo. de México, Jal=Jalisco, Mich=Michoacán, Gro=Guerrero, Hgo=Hidalgo, Tamps=Tamaulipas, Ver=Veracruz, Tlax=Tlaxcala y Sin=Sinaloa. En la parte derecha se muestra las clasificaciones informales para las Gemas de Montaña y las Abejas.

Estimación de Tiempos de Divergencia

Para la estimación de los tiempos del ancestro común más reciente (TMRCA) se obtuvieron edades en nodos con PP mayores a 0.5. Para el nodo más profundo se obtuvo una edad de 10,3 Ma (95% de intervalo de confianza = 7,77 – 12,92) para la divergencia entre las Gemas de Montaña y las Abejas. Para el punto de divergencia del grupo de las Gemas de Montaña se calculó en 9,4 Ma (95% I.C. = 7,28 – 11,91) considerando al género *Heliomaster* dentro del grupo. Tomando estas estimaciones se ubica el origen de la diversificación de este linaje previo al cierre del Istmo de Panamá (~4 Ma; Kirby et al., 2008) que concuerda con las observaciones hechas en distintos estudios (Bleiweiss, 1998a, 1998b; García-Moreno et al., 2006).

La mayoría de los eventos de divergencia intragenérica se dieron durante la última etapa del Mioceno y en el transcurso del Plioceno (7 eventos), esto en contraste con un impacto en la diversidad de linajes a nivel intraespecífico en el Pleistoceno (e.g. *L. amethystinus*; Fig. 9). En el caso del género *Lampornis* se calculó su tiempo de divergencia el cual fue estimado en 7,03 Ma (5,24 – 8,95), tomando en cuenta a *L. hemileucus* como parte del género (Fig. 9).

Tabla 3. Estimación de tiempos de divergencia (TMRCA) con sus intervalos de confianza (IC) y Reconstrucción de Áreas Ancestrales (RAA) por Statistical Dispersal-Vicariance Analysis (S-DIVA) para cada nodo de la filogenia.

Nodo	TMRCA	RAA
	Millones de años (IC)	(S-DIVA)
Abejas - Gemas	10,329 (7,77 – 12,92)	A
Abejas	5,556 (3,47 – 7,73)	-
<i>H. longirostris</i> / <i>H. constantii</i> - Gemas	9,486 (7,28 – 11,91)	A
<i>H. longirostris</i> - <i>H. constantii</i>	5,992 (4,29 – 8,89)	A
<i>E. fulgens</i> / <i>L. rhami</i> - <i>Lampornis</i>	8,186 (6,21 – 10,3)	A
<i>E. fulgens</i> - <i>L. rhami</i>	6,509 (4,29 – 8,89)	A
<i>L. hemileucus</i> - <i>Lampornis</i>	7,038 (5,24 – 8,95)	ABC
<i>L. clemenciae</i> - <i>Lampornis</i>	5,138 (3,73 – 6,60)	AB(52%), A(47%)
<i>L. amethystinus</i> - <i>Lampornis</i>	4,647 (3,38 – 6,04)	B(42%), AB(35%), ABC(21%)
<i>L. viridipallens</i> / <i>L. sybillae</i> - <i>L. castaneoventris</i>	3,375 (2,30 – 4,54)	BC
<i>L. viridipallens</i> - <i>L. sybillae</i>	2,869 (1,83 – 3,93)	B
<i>L. amethystinus</i> Este. – <i>L. amethystinus</i> Oeste.	1,372 (0.86 – 1,97)	AB

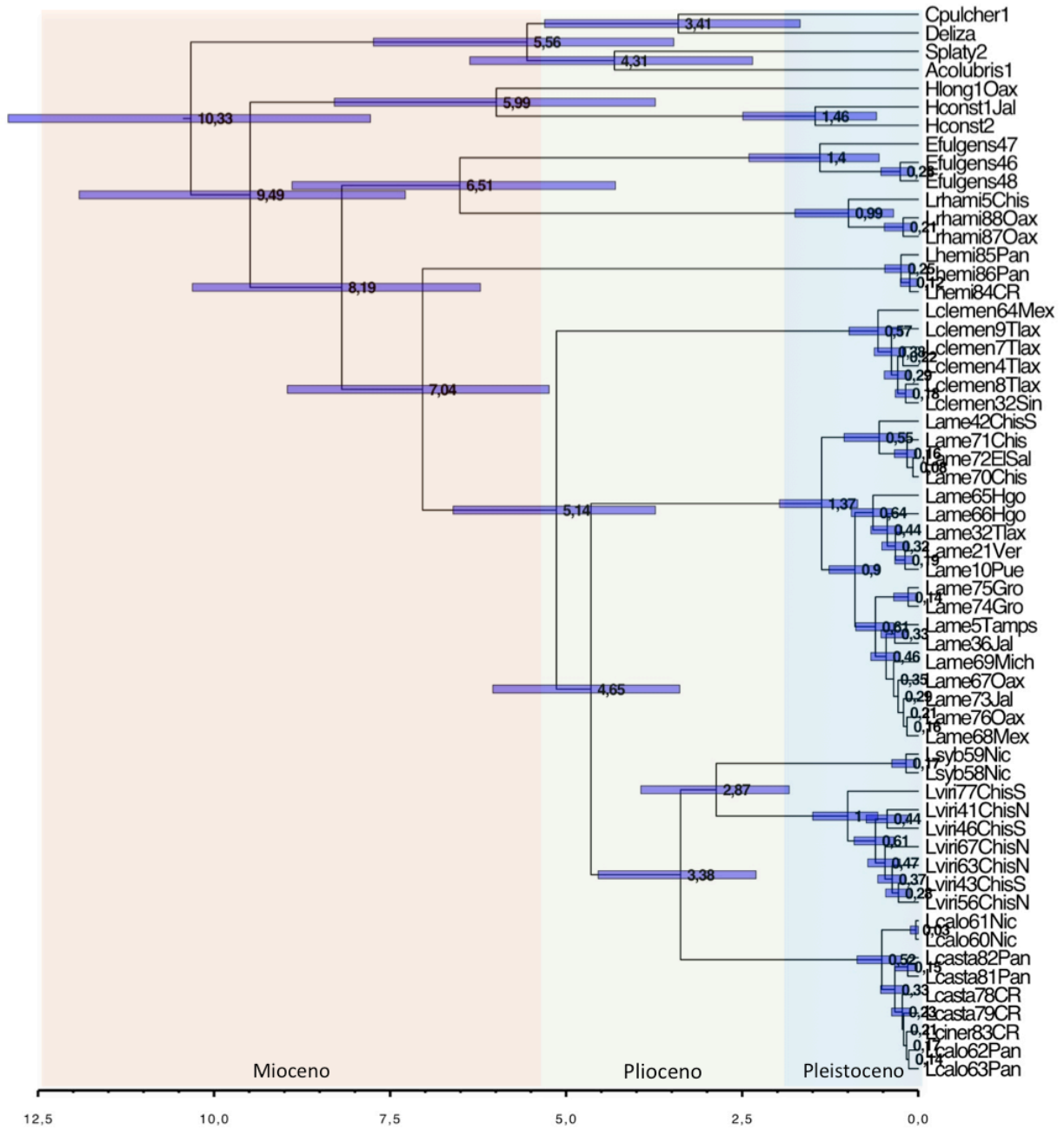


Figura 9. Árbol con estimación de tiempos de divergencia para *Lampornis* y grupos cercanamente relacionados (Gemas I y Abejas).

Reconstrucción de Áreas Ancestrales (RAA)

Se obtuvo una topología con las reconstrucciones de áreas ancestrales proporcionados por S-DIVA, el cual presenta cinco reconstrucciones óptimas donde el programa eligió una con un valor de S-DIVA (S-Diva Value: SV) de 4336.044. Mientras éste valor sea mayor en comparación con las otras reconstrucciones óptimas, es más grande la probabilidad de una reconstrucción (Yu et al., 2010). Para la reconstrucción del rango ancestral para las Gemas fue restringido al Occidente del Istmo de Tehuantepec (A). El área ancestral más reciente inferida para el género es del rango conformado por un ancestro con distribución amplia (ABC), abarcando el área este y oeste del Istmo de Tehuantepec, además de la Cordillera de Talamanca (Tabla 3 y Fig. 10). La reconstrucción para este nodo fue el único que varió notablemente para la filogenia por producto de la manipulación en el número máximo de áreas para el ancestro (Tabla 3).

Para los nodos más externos, pertenecientes a *Lampornis*, se estimó el área ancestral para la relación de *L. clemenciae* y los demás representantes del género, el cual mostró una probable extinción en el área del occidente del Istmo de Tehuantepec (B), aunque para la reconstrucción alternativa menos probable se mantiene dicha área presente (AB=53%). En el caso del nodo correspondiente a *L. amethystinus* y las especies centroamericanas se exhibe un rango ancestral para las dos reconstrucciones del área norte de Centroamérica como la más probable (B=42%), mostrando como segunda área alternativa los dos sitios adyacentes al Istmo de Tehuantepec (AB=35%).

Para el clado con las especies centroamericanas exhiben una nueva expansión de rango a la Cordillera de Talamanca (BC), por la presencia del complejo *L. castaneoventris* en esta región. El rango ancestral de *L. viridipallens* y *L. sybillae* mantiene la misma área (B), mostrando un evento de duplicación (especiación dentro de un área definida) en el este del Istmo de Tehuantepec.

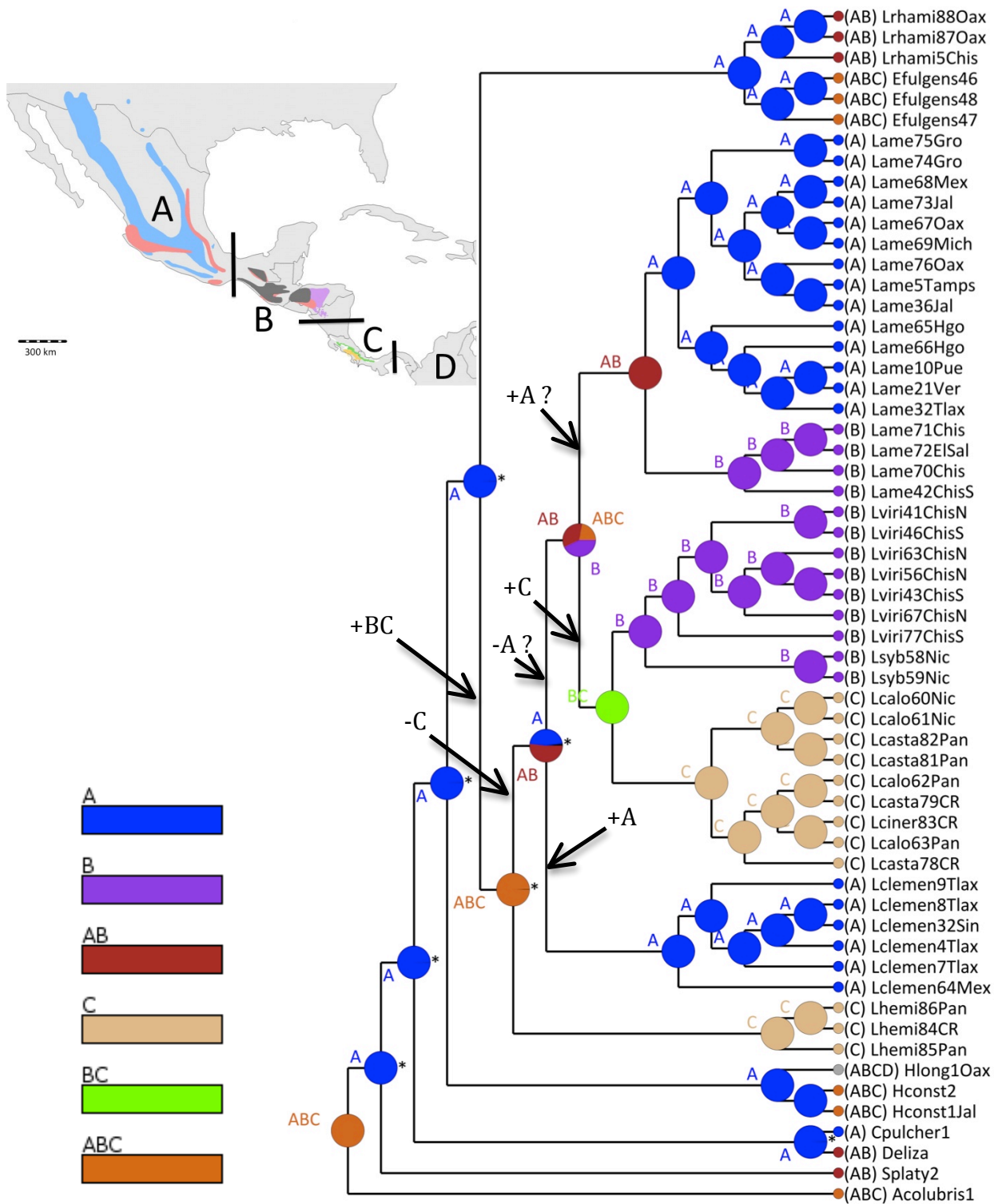


Figura 10. Reconstrucción de áreas ancestrales (RAA) por medio de S-DIVA, con un número máximo de 4 áreas. Letras en mayúsculas con flechas muestra las posibles dispersiones (+) o extinciones (-). El signo de interrogación muestra reconstrucciones ambiguas con obtención de áreas alternativas para el nodo.

Discusión

Relaciones del género

La estimación más robusta y correcta que se realiza para las filogenias de especies, aporta un mejor entendimiento en los procesos que pueden haber afectado la distribución espacial de las aves en México y Centroamérica. Este punto es crucial para obtener hipótesis filogenéticas mucho más confiables y lo más cercanamente congruentes entre sí, con la intención de tener claro las relaciones que sean producto de una hipótesis filogenética de especies, y no de genes (Vandamme, 2009), además de obtener soporte nodal alto para obtener confianza en las inferencias evolutivas.

La obtención de árboles extrayendo las ramas largas que se encuentran en el grupo externo es uno de los métodos comúnmente utilizados, el cual provee una aproximación acerca de la causa que exhibe la “Atracción de ramas largas” (ARL) en las inferencias filogenéticas y no resolver adecuadamente las relaciones de los taxa (Bergsten, 2005). De esta manera se logró identificar los taxa que eran afectados en su ubicación por este artefacto y así mantener a la filogenia sin las Esmeraldas (*C. hemileucurus* y *H. leucotis*) como la más apropiada para considerarla este cambio en todos los análisis, evitando cualquier conflicto a causa de este artefacto. Además hay que considerar el estudio de McGuire et al. (2007), donde muestra bajos valores de soporte en la relación de Abejas - Gemas de Montaña con las Esmeraldas lo cual se sospecharía de una relación no resuelta entre estos grupos (Fig. 1).

Las relaciones de las Gemas de Montaña en la filogenia (Gemas I) muestran cierta congruencia con el trabajo realizado por McGuire et al. (2007), el cual proponen a *E. fulgens*, *H. longirostris* y *Panterpe insignis* como grupo hermano de *Lampornis*. Dicha relación se mantiene dentro de nuestra hipótesis, a excepción de *P. insignis* la cual no tuvimos acceso a muestras. No obstante, para el caso de *H. longirostris* y *H. constantii* en la inferencia filogenética con las Esmeraldas (grupo externo), mostró una ubicación como grupo hermano de las Abejas. La causa de esta ubicación no queda clara y no es posible saber si fue producto de ARL o si existe mayor cercanía evolutiva del género *Heliomaster* con las Abejas.

En el primer caso, la ARL puede ser producto de la presencia de las Esmeraldas, aun cuando las mismas especies de *Heliomaster* poseen ramas largas que podrían estar influyendo en esta agrupación. Los valores de soporte se mantienen altos para las dos filogenias (con y sin Esmeraldas) y no se observa algún cambio en la topología de MP a causa de este efecto (Fig. 7), ya que se ha visto que dicha metodología es más susceptible a mostrar este artefacto (Bergsten, 2005).

Para el segundo caso, García-Moreno et al. (2006), en su análisis para 100 colibríes con un marcador mitocondrial (ND2) y uno nuclear (AK5), muestran a *H. longirostris* en una relación filogenética mucho más cercana con las Abejas que con las Gemas de Montaña. Las dos especies de *Heliomaster* presentan preferencias de hábitats no ligadas a las áreas de montaña, presentando distribución en altitudes bajas (0-1600 msnm), en hábitats relativamente secos y teniendo presencia, en una de las dos especies (*H. longirostris*), hasta Sudamérica (Howell & Webb, 1995; Schuchmann, 1999). Estas características promueven la idea de una relación poco factible con las Gemas de Montaña y una mayor probabilidad de cercanía con las Abejas, esto de acuerdo a lo encontrado por Graham et al. (2009). Aún cuando se ha tratado de entender esta relación, el uso de muestras de las especies restantes del género (*H. furcifer* y *H. squamosus*) para estudios posteriores podría proveer, con mayor detalle, información a nivel sistemático y biogeográfico de este linaje y su relación con las Gemas de Montaña y las Abejas (McGuire et al., 2007). Aún con esta ambigüedad en la ubicación del género *Heliomaster*, en nuestros análisis sin las Esmeraldas se mantiene con valores altos de soporte nodal considerando esta ubicación confiable para nuestra inferencia filogenética (Fig. 8).

Para las relaciones del grupo más cercano a *Lampornis* (Gemas I), conformado por *E. fulgens* y *L. rhami*, se mantienen como especies hermanas pero con bajos valores de soporte para esta relación (<0.70 PP y <60 Bootstrap en MP); esto debido a una probable posición alternativa de *L. rhami* basal a *E. fulgens* que se observa en la topología de MV. Sin embargo, para la hipótesis con 100 colibríes de García-Moreno et al. (2006), encuentran la misma relación de especies hermanas con un alto valor de soporte, pero sin resolver la relación con *Lampornis* (Fig. 4A).

En el caso del efecto de atracción de ramas largas (ARL) se observó una ubicación más cercana con las Esmeraldas en el árbol de MP y valores bajos de Bootstrap/PP en ciertos nodos (Fig. 7). Este artefacto es notorio en MP por su mayor sensibilidad que los mismos métodos probabilísticos, aunque estos métodos no queden ajenos por completo a esta fuente de error (Bergsten, 2005) que podría resultar de una ubicación ambigua y valores altos de soporte. Aun cuando esta correlación (estabilidad y soporte) no es de todo cierta (Lehtonen, 2011) y los valores de soporte entre *E. fulgens* y *L. rhami* son bajos, se podría considerar esta relación de especies hermanas confiable con los datos presentados en el trabajo y corroborando con el trabajo de García-Moreno et al. (2006).

Para el clado de las Gemas II, conformado por *Lampornis*, mantiene su monofilia a pesar de la discusión y propuesta de García-Moreno et al. (2006) donde consideran a *L. hemileucus* no perteneciente al linaje del género, ya que exhiben una gran distancia genética y una posible ubicación basal por poseer rama larga. Este segundo punto fue probado en nuestro estudio a partir de la introducción de un mayor muestreo interespecífico (grupo externo), que proveería de una mayor oportunidad para que *L. hemileucus* se agrupara con taxa no cercanamente relacionados a *Lampornis*, y así confirmar o rechazar dicha propuesta. Esto no fue observado en nuestros análisis, ya que *L. hemileucus* se mantuvo basal al género y fue bien soportada con excepción de MP, aún presentando la misma ubicación (Fig. 8). A pesar de que el estudio previo del género proponen una relación cercana con *P. insignis* (García-Moreno et al., 2006), McGuire et al (2007) no encuentran dicha relación con los cuatro genes usados, ubicando a *P. insignis* en el grupo hermano de *Lampornis* (Gemas I). No obstante, se mantiene positiva la propuesta de incluir a *P. insignis* dentro de futuros estudios con los marcadores moleculares de este trabajo o distintos a los ya utilizados, con el fin de corroborar o rechazar su ubicación en las distintas hipótesis publicadas.

La topología que corresponde a las especies del género se mantienen en la misma disposición que los resultados mostrados por García-Moreno et al. (2006), presentando a *L. clemenciae* basal a las demás especies. Aún cuando varios autores planteaban una probable relación de especie hermana con *L. amethystinus* (Schuchmann, 1999,

García-Moreno et al., 2006), en este estudio obtuvimos valores de soporte muy altos que rechazan la idea de esta relación (Fig. 8). Esto podría ser a causa de un mayor muestreo intraespecífico para *L. clemenciae*, donde el estudio anterior se utilizó únicamente un individuo y para este trabajo se aportaron seis individuos más en los análisis filogenéticos. Esta consecuencia se ha visto reflejada en otros trabajos (Omland et al., 1999; Humphries & Winker, 2010; Alström et al., 2011).

Para *L. amethystinus* se mantiene como grupo hermano de las especies Centroamericanas, con soporte nodal alto (>0.85 PP; >90 Bootstrap). Para los 18 individuos integrados en los análisis de esta especie, se puede mostrar la divergencia genética existente entre las poblaciones del oriente con el occidente del Istmo de Tehuantepec. Esta separación genética fue vista también en el estudio previo del género (García-Moreno et al., 2006), además del trabajo de filogeografía de esta especie (Cortes-Rodríguez et al., 2008). Sin embargo, el aumento de muestras de distintos puntos geográficos, además del uso de mayor número de pares de bases en los análisis lograron exhibir en la topología probables haplotipos de poblaciones de la Sierra Madre Oriental (SMO) y la Occidental (SMOcc), incluso un pequeño clado donde se presentan dos individuos de Guerrero pertenecientes a la subespecie *L. a. margaritae*.

Aún cuando en los tres análisis se presenta esta aparente estructura geográfica, la aparición de un individuo de Tamaulipas dentro del haplotipo de la SMOcc, además de no poseer con un mayor número de muestras a nivel intrapoblacional ni la adición de otros marcadores que nos ofrezcan mayor resolución (ADN nuclear, microsatélites), deja en claro que no poseemos con la información necesaria para analizar dicha divergencia genética y debe de examinarse a un nivel filogeográfico de manera más detallada. A pesar de esto, este posible arreglo geográfico podría mostrar el potencial del ADN mitocondrial en esclarecer relaciones infraespecíficas con el uso del número máximo de pares de bases para cada gen y un mayor muestreo intraespecífico (Humphries & Winker, 2010).

La relación de *L. sybillae* y *L. viridipallens* se presenta como especies hermanas, mostrando un soporte de nodo relativamente alto (>0.75 PP; >70 Bootstrap). Esta relación se mantiene presente en las tres topologías de cada inferencia filogenética y además, estas dos especies mantienen relación cercana con las especies del complejo *L. castaneoventris* (*L. calolaemus*, *L. cinereicauda* y *L. castaneoventris*). Las relaciones de este complejo de especies (o subespecies) no presentan buena resolución, ya que la divergencia de este linaje se muestra probablemente como una politomía “dura” (Maddison, 1989), ya sea a causa de una “clasificación del linaje incompleta” (Incomplete Lineage Sorting; Maddison, 2004) o de una introgresión; estos dos casos se dan en un tiempo muy reciente (~0.5 Ma; Fig. 9). Sin embargo, la aparición en algunos árboles de cierta divergencia entre dos individuos de *L. calolaemus* con las especies (subespecies) restantes (Figs. 7, 11 y 12), podría sugerir una probable diferenciación genética entre poblaciones aisladas que se ubican en la parte norte de la distribución del complejo, donde se encuentra distribuida la ssp. *pectoralis* en el área volcánica de Nicaragua (cerca de Managua). Esta relación también lo observan García-Moreno et al. (2006) con los marcadores nucleares. No obstante, un estudio filogeográfico más detallado para este complejo de especies es necesario para comprender la evolución de este complejo, ya que carecemos de suficiente información que pueda darnos de forma clara las relaciones de estas especies o subespecies, similar a lo observado con *L. amethystinus*.

Acercamiento a la Historia Biogeográfica

La obtención de esta nueva inferencia para *Lampornis* nos da una oportunidad de adquirir información más detallada y robusta sobre las relaciones, además de un acercamiento a la historia biogeográfica a partir de un mayor muestreo taxonómico (intraespecífico e interespecífico), el uso de herramientas de reconstrucción de áreas ancestrales, además de la estimación de tiempos de divergencia. La adición de mayor número de muestras para el grupo externo provee de mayor resolución e información en la relación cercana de especies consideradas Gemas de Montaña con *Lampornis*. Se exhiben tres especies en posición basal al clado de *Lampornis* (*H. longirostris*, *E.*

fulgens y *L. rhami*) lo cual dio como resultado la obtención de RAA para las Gemas de Montaña en el área del oeste de Istmo de Tehuantepec.

Se ha planteado en varios estudios las hipótesis acerca de la colonización de los colibríes en áreas de montaña a partir de un ancestro de tierras bajas o, alternativamente, de un proceso de especiación en áreas de montaña y una subsecuente colonización hacia altitudes bajas (Bates and Zink, 1994; García-Moreno et al., 1999; McGuire et al., 2007; Parra et al., 2009). La presencia de las dos especies de *Heliomaster* en ubicación basal a las Gemas de Montaña podría indicar de un probable ancestro de tierras bajas que colonizó áreas de montaña produciendo una posterior diversificación dando origen al linaje de Gemas de Montaña. No obstante, se necesita corroborar la posición de *Heliomaster* por su posición ambigua en nuestra filogenia y conocer de forma más confiable la relación entre las Gemas de Montaña y las Abejas, para poder relacionar las hipótesis anteriormente descritas a nuestra inferencia y reconocer su probable origen altitudinal del linaje.

Se ha observado en distintos grupos de aves patrones de diversificación en dirección norte a sur dentro del área Mesoamericana (Dacosta & Klicka, 2008; Weir et al., 2008; Pérez-Emán, 2005; Miller et al., 2007; Navarro-Sigüenza et al., 2008). García-Moreno et al. (2006) y Weir et al. (2008) observan que dicho patrón se observa también en *Lampornis*, sin considerar a *L. hemileucus* como precursor de esta diversificación. No obstante, para esta nueva inferencia en las relaciones de *Lampornis* se provee otro patrón de diversificación, considerando a *L. hemileucus* dentro del género. Aún cuando existe un patrón similar en la dirección de diversificación norte-sur, tomando en cuenta la distribución de *L. clemenciae* en la región norte, se considero improbable como área de origen del género, planteando la posibilidad de un origen centroamericano (García-Moreno et al., 2006).

En esta nueva hipótesis de las relaciones del género mostramos este probable origen, ligando la información que *L. hemileucus* podría ofrecer en la filogenia y la biogeografía. Sin embargo, la aparición de *L. clemenciae* en el límite norte de la distribución del género, en contraste con la distribución de *L. hemileucus* en el límite sur, exhibe cierta

ambigüedad en el probable evento que propició que *L. clemenciae* presente una distribución alejada del área cercana a la divergencia con *L. hemileucus*. Sin embargo, para la RAA de los nodos más profundos, las Gemas de Montaña mantienen un origen en el área occidental del Istmo de Tehuantepec (A), mismo que se mantiene en la divergencia de *L. hemileucus* - *Lampornis* de un ancestro con distribución amplia (ABC) mostrando una expansión al área norte y sur de Centroamérica (+BC; Fig. 10).

Para la divergencia entre *L. hemileucus* y las especies restantes del género muestra un probable ancestro de distribución amplia (ABC), dentro de la reconstrucción de 4 áreas (Número máximo de áreas). La barrera más próxima que interviene en esta divergencia es la Depresión de Nicaragua, la cual se ha propuesto una posible conexión peninsular entre Honduras con la zona de Costa Rica durante el Mioceno (Kirby & MacFadden, 2005; Kirby et al., 2008) y una posterior expansión marina que existió varias veces durante el Plioceno y que separó las regiones del norte y sur de la barrera (Iturralde-Vinent, 2006). Esta divergencia mostró, para nuestra estimación de TMRCA, una fecha de ~7 Ma. (Fig. 9) que corresponde a la parte final del Mioceno y que mantiene congruencia con la situación geológica propuesta por Kirby & MacFadden (2005) y Kirby et al. (2008), además de trabajos con especies de áreas de montaña que se distribuyen en la misma área (Castoe et al., 2009; Daza et al., 2010).

Por otra parte, el Istmo de Tehuantepec es una región de tierras bajas que separa las áreas de montaña del sur de México (Sierra Madre del Sur y Sierra Madre Oriental) de las áreas de Chiapas, Guatemala y tierras altas de Chortis. Esta zona es reconocida por el efecto de barrera biogeográfica que influye a distintos grupos biológicos, distribuidos en mayores altitudes (Cortes-Rodríguez et al., 2006; León-Paniagua, et al., 2007; Weir, 2009; González et al., 2011). Se propone que el origen y dinámica de esta área se debió a un corredor de montaña producto del arco volcánico chiapaneco, que permaneció en el área del Istmo. Posteriormente fue destruido debido a una extrema actividad tectónica de la placa de Cocos, lo cual produjo una reducción en la elevación y subsecuentes inundaciones marinas durante la parte final del Mioceno e inicio del Plioceno (Barrier et al., 1998; Manea & Manea, 2006).

Este modelo geológico presenta congruencia con la divergencia entre *L. clemenciae* y sus congéneres, donde esta especie se mantiene distribuida en el área occidental del Istmo de Tehuantepec (A; Fig. 2). Para la RAA de esta divergencia muestra el escenario más probable, aunque con diferencia mínima (54%), el cual plantea la probable aparición de una misma área ancestral involucrando los dos lados del Istmo (AB; Fig. 10 y Tabla 3), exhibiendo una posterior especiación alopátrica producto de la pérdida del corredor ancestral. El TMRCA para este nodo es de ~5,1 Ma que muestra una aproximación temporal a las fechas del evento tectónico que dio origen al Istmo de Tehuantepec. Este patrón se observa también en el trabajo de Weir et al. (2008) con una estimación de TMRCA de ~5.7 Ma para *Clorospingus ophtalmicus*.

Por otro lado, Castoe et al. (2009) reconoce que el área que comprende las regiones de montaña de Chiapas - Guatemala y del bloque de Chortis, ha presentado una dinámica terrestre que transformó la estructura fisiográfica, produciendo inferencias históricas complejas. En el caso de su modelo de estudio (serpientes con restricción en áreas de montaña), muestra que esta región contribuyó a la divergencia de linajes con diferentes requerimientos de hábitats sobre un largo periodo. Su estimación temporal para un escenario de diversificación fue en el Plioceno-Pleistoceno (4,1-5 Ma) para sus tres linajes de serpientes.

Para el nodo de *L. amethystinus* y las especies Centroamericanas (*L. viridipallens*, *L. sybillae* y el complejo *L. castaneoventris*) muestra, para el análisis de S-DIVA, un área ancestral que corresponde a la región oriental del Istmo de Tehuantepec (B; Fig. 10), donde presenta un probable evento de extinción en el área occidental del Istmo (-A), aunque para el estado ancestral alternativo mantiene las dos áreas de cada lado del Istmo (AB). Este nodo presenta una estimación de TMRCA cercano al propuesto por Castoe et al. (2009) para el área reconstruida en este nodo (~4.6 Ma *L. amethystinus* - *Lampornis*).

Manea & Manea (2006) describen que los eventos generados por la dinámica orogénica del Istmo no solamente afectó la creación de éste, si no además de recientes formaciones geológicas del Plioceno en áreas de montaña de Chiapas (Frente

Volcánico Moderno de Chiapas). Esto pudo haber intervenido en la aparición de *L. viridipallens* y *L. amethystinus* en esta área con distribución simpátrica en tiempo más reciente. En el caso del nodo para las especies consideradas parapátricas, *L. viridipallens* y *L. sybillae*, presentan una divergencia profunda, misma que fue observada por García-Moreno et al. (2006) por presencia de ramas largas que separan a las especies. El TMRCA que fue estimado para este nodo fue de ~2,8 Ma, en el cual se plantea la probable influencia del Valle de Sula y de Comayagua para una especiación alopátrica (o parapátrica), con la presencia en la parte oriental del valle de *L. sybillae* y occidental de *L. viridipallens* (Monroe, 1963; 1968).

Marshall (2007) considera que la provincia fisiográfica de las tierras altas de Chortis presenta una subprovincia en la parte occidental de honduras, que exhibe interrupciones en relieve causados por distintos valles de piso plano originados desde finales del Mioceno hasta el Pleistoceno. Este evento podría haber dado comienzo a una probable reducción en el flujo génico entre poblaciones de estas dos especies y un posterior aislamiento, lo cual se ajusta con la estimación de tiempo de divergencia para este linaje en el Plioceno superior (Fig. 9, Tabla 3). Esta barrera no fue considerada en la RAA ya que, a nivel de género, las barreras utilizadas para delimitar áreas proporcionan información de forma más simple y general al considerarlas dentro del análisis. Sin embargo, con los datos de tiempos de divergencia mostramos una probable intervención en la divergencia de estas especies por parte de esta barrera, aún cuando desconocemos el proceso real de especiación (Parapátrica o Alopátrica) que podría haber llevado a cabo por la gran cercanía en las distribuciones de estas dos especies.

Para el caso del nodo que representa la relación de *L. viridipallens*/*L. sybillae* con el complejo *L. castaneiventris*, presenta una RAA de las regiones norte y sur de la Depresión de Nicaragua (BC), lo cual considera una probable conexión entre estas dos áreas en un periodo reciente (TMRCA = ~3,3 Ma). Castoe et al. (2009) encuentran un patrón similar, observando que dos de los tres linajes de serpientes se diversificaron en el Mioceno, mientras que el tercero divergió en el Plioceno medio, siendo esta barrera la promotora de estos escenarios. El final del levantamiento de la Cordillera de

Talamanca en ~3.5 Ma (MacMillan et al., 2004), así como la formación del Istmo de Panamá y la posterior conexión continental entre Centroamérica y Sudamérica, con el estimado más reciente de ~4 Ma (Kirby et al., 2008), puede mostrarnos la probable reintroducción de especies de *Lampornis* en esta área en tiempo reciente. No obstante, no poseemos con la información suficiente para entender la probable conexión física que se mantuvo entre estas dos áreas durante el Plioceno y probablemente la aparición de este complejo en las cordillera que abarcan Nicaragua, Costa Rica y Panamá sea por una dispersión a través de la barrera.

La presencia de poblaciones de *L. c. pectorallis* en el área más al norte de su distribución (Frente Volcánico de Nicaragua) (Ridgely et al., 2007, García-Moreno et al., 2006), podría indicar un probable aislamiento reciente de poblaciones del complejo de especies *L. castaneiventris* en esta zona. Sin embargo, para nuestro estudio únicamente tenemos presente dos individuos de esta área, en donde algunas topologías presentan cierta divergencia con respecto a los demás conespecíficos (Fig. 7, 11 y 12). Una probable causa de esta diferenciación genética es por las oscilaciones climáticas que se dieron en el Pleistoceno, ya que han afectado las distribuciones de las especies además de las tasas de especiación en linajes de aves de áreas de montaña (Weir, 2006).

Esto también se ve reflejado en la divergencia de *L. amethystinus* en poblaciones del occidente, en contraste con las del oriente del Istmo de Tehuantepec, lo cual plantea una historia de conexión de bosques de montaña en periodos glaciares y un posterior incremento en la temperatura, creando aislamiento en estas áreas (Fig. 9). Sin duda se observa que la diferenciación genética se ha dado a un nivel intraespecífico en los últimos 2 Ma., principalmente para el caso de *L. amethystinus* y el complejo de especies *L. castaneiventris* (Fig. 9), debido probablemente a las fluctuaciones climáticas del Pleistoceno.

Implicaciones Taxonómicas

García-Moreno et al. (2006) proponen a *L. hemileucus* sea retirado de *Lampornis* y colocado en el género *Oreopyra* (Ridgway, 1911). En nuestros resultados observamos y corroboramos la posición de esta especie en la parte más basal en el clado del género, manteniendo la monofilia del grupo a pesar de la adición de un mayor número de especies, representando el grupo externo. Aún cuando observamos que esta especie se presenta como un linaje independiente a los demás congéneres, la exclusión del género debe ser rechazada y considerar al género como un grupo natural, incluyendo a esta especie de distribución Centroamericana.

En el caso del complejo *L. castaneoventris*, es necesario considerar un estudio filogeográfico profundo para entender el proceso de especiación que se lleva a cabo en este grupo de aves con variantes morfológicas notorias; lo cual permitiría saber el papel del aislamiento geográfico *versus* selección sexual en la creación de nuevas especies (subespecies), en un periodo reciente. Sin embargo, tenemos indicios de una probable divergencia genética de poblaciones en la parte de sur de Nicaragua (Frente Volcánico de Nicaragua) correspondiendo a la subespecie *L. c. pectoralis* debido a un aislamiento reciente. Esta probable divergencia puede ser consistente con lo propuesto por Clements et al. (2009), Dickinson (2003) y AOU (2009) al considerar *L. calolaemus* como especie distinta a *L. castaneoventris* y además tomar a *L. calolaemus calolaemus*, *L. calolaemus pectoralis* y *L. calolaemus homogenes* como subespecies. Para corroborar esta propuesta taxonómica es necesario un estudio filogeográfico para este complejo.

Por último, es necesario tomar en cuenta la probable relación que existe entre *Sternoclyta*, *Hylonympha* y *Eugenes* (Renner & Schuchmann, 2004) para futuros estudios filogenéticos con marcadores moleculares, que puedan proveer de una interesante conexión entre las especies centroamericanas y sudamericanas en la historia de las Gemas de Montaña. De la misma manera, considerar a las especies restantes de *Heliomaster* con distribución sudamericana para mostrar las relaciones dentro de este género. En estos dos casos se requieren de nuevas inferencias

evolutivas para conocer las probables implicaciones taxonómicas que se originen de ellas.

Conclusiones

Se mantiene estable las relaciones de *Lampornis* en las distintas inferencias filogenéticas sin algún cambio notable en la topologías, lo cual presenta al género como un grupo monofilético, incluyendo a *L. hemileucus*. Con nuestra nueva inferencia en el género se sugiere descartar la propuesta hecha por García-Moreno et al. (2006) de excluir a *L. hemileucus* como miembro de *Lampornis* y considerarlo en el género *Oreopyra* (Ridgway et al., 1911); esto debido al aumento en el muestreo interespecífico en los análisis, lo cual produjo el mantenimiento de la monofilia del género en los tres análisis filogenéticos y con buen soporte. Esto además provee de un mayor conocimiento en la biogeografía histórica del linaje al ligar este taxa con los demás representantes del género, además de la adición de otras especies consideradas Gemas de Montaña, lo cual provee una inferencia más confiable.

La relación entre *L. clemenciae* y *L. amethystinus* como especies hermanas no se muestra en nuestros resultados y conserva niveles altos de soporte para los nodos donde interviene cada una de las dos especies mostrando una posición basal de *L. clemenciae* y una posterior divergencia de *L. amethystinus* y las especies Centroamericanas; esto en contraste con lo propuesto por García-Moreno et al. (2006) y la consideración de Schuchmann (1999) que mantienen como posible la relación de especies hermanas. Esto puede atribuirse a un mayor muestreo intraespecífico generado para estas especies, lo cual contribuye a una inferencia filogenética con mayor confiabilidad (Humphries & Winker, 2010).

La aparición de la atracción de ramas largas (ARL) en los análisis de máxima parsimonia (MP) se debe a la susceptibilidad de este método en contraste con los otros enfoques filogenéticos. Aún cuando mantenemos estabilidad en las relaciones del género, para las Gemas I no existe suficiente resolución para entender la ubicación de las especies de *Heliomaster* en este grupo, no obstante consideramos la exclusión del grupo de las Esmeraldas (*H. leucotis* y *C. hemileucus*) para evitar el probable artefacto de ARL que afecta las ubicaciones de las Gemas I.

La direccionalidad en la diversificación del género se mantiene de norte a sur, mostrado por la RAA, lo cual mantiene un origen del linaje de las Gemas de Montaña en la parte norte de Mesoamérica y un probable ancestro con distribución amplia (ABC) para el género, promoviendo la idea de un probable evento de vicarianza en la divergencia de *L. hemileucus* por la Depresión de Nicaragua y subsecuente divergencia de *L. clemenciae* y los *Lampornis* restantes por el Istmo de Tehuantepec.

A pesar del uso de la información geológica y de TMRCA *a posteriori* con los resultados obtenidos en S-DIVA, es notable el ajuste de las RAA y los TMRCA con la información geológica y paleoclimática del Neógeno hasta el Cuaternario (Barrier et al., 1998; MacMillan et al., 2004; Manea & Manea, 2006; Marshall, 2007; Kirby, et al., 2008) y de otros estudios con modelos biológicos de áreas de montaña que obtuvieron resultados similares en TMRCA para varios eventos tectónicos que dieron origen a las barreras biogeográficas (Castoe et al., 2009; Daza et al., 2010; Weir et al., 2008).

La aparición de varios eventos de divergencia durante el Mioceno superior y parte del Plioceno muestra la importancia de la dinámica tectónica en el área de Mesoamérica y sur de Centroamérica en los procesos de diversificación de los linajes de colibríes a nivel interespecífico. En el caso de la divergencia intraespecífica se mantiene durante la parte final del Plioceno y en el Pleistoceno, por la probable influencia de las oscilaciones climáticas que se desarrollaron en este periodo y el efecto en el cambio de distribuciones altitudinales y conexiones entre áreas de montaña separadas previamente (Weir, 2006; 2009).

La conjunción de información filogenética con datos espacio-temporal de los linajes existentes puede permitir una aproximación de la situación histórica que pudo haber afectado las distribuciones actuales en los colibríes. Las barreras biogeográficas, como tierras bajas para el caso de áreas de montaña, han promovido la diferenciación genética en aves (Weir, 2009), lo cual se hace notorio en este estudio. Esto podría resultar de la fragmentación en la distribución de especies en dos o más poblaciones por un evento de vicarianza, lo cual podría evitar o reducir el flujo génico e iniciar la diferenciación en lados opuestos de la barrera. Así, la reconstrucción de áreas

ancestrales (RAA), además de datos temporales de divergencia (TMRCA), son herramientas efectivas para comprender los eventos que intervinieron en los patrones espaciales actuales.

Literatura citada

- American Ornithologists Union. 2009. Check-list of North American Birds, 7th ed. Washington DC. En: <http://www.aou.org/checklist/north/index.php>
- Altshuler, D. L., R. Dudley & J. A. McGuire. 2004. Resolution of a paradox: Hummingbird flight at high elevation does not come without a cost. PNAS. 101(51): 17731–17736.
- Alström, P., Fregin, S., Norman, J.A. Ericson, P.G.P., Christidis, L. & Olsson, U. 2011. Multilocus analysis of a taxonomically densely sampled dataset reveal extensive non-monophyly in the avian family Locustellidae. Mol. Phylogenet. Evol. 58: 513–526
- Barrier, E., Velasquillo, L., Chavez, M. & Gaulon, R. 1998. Neotectonic evolution of the Isthmus of Tehuantepec (Southeastern Mexico). Tectonophysics. 287: 77-96
- Bates, J.M. & Zink, R.M. 1994. Evolution into the Andes: molecular evidence for species relationships in the genus *Leptopogon*. Auk 111: 507–515.
- Bergsten, J. (2005): A review of long-branch attraction. Cladistics 21(2): 163-193.
- Bleiweiss, R., Kirsch, J.A.W. & Matheus, J.C., 1997. DNA hybridization evidence for the principal lineages of hummingbirds (Aves: Trochilidae). Mol. Phylogenet. Evol. 14: 325–343.
- Bleiweiss, R. 1998a. Tempo and mode of hummingbird evolution. Bio. J. Linn. Soc . 65: 63-76.
- Bleiweiss, R. 1998b. Origin of hummingbird faunas. Bio. J. Linn. Soc. 65: 77-97.
- Burns, K.J. & Naoki, K. 2004. Molecular phylogenetics and biogeography of Neotropical tanagers in the genus *Tangara*. Mol. Phylogenet. Evol. 32: 838–854.

- 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). *Mol. Phylogenet. Evol.* 44: 993–1016.
- Castoe, T.A., Daza, J.M., Smith, E.N., Sasa, M.M. 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.
- Cortes-Rodríguez, B. E. Hernández-Baños, A. G. Navarro-Sigüenza, A. T. Peterson & J. García-Moreno. 2008. Phylogeography and population genetics of the Amethyst-throated Hummingbird (*Lampornis amethystinus*). *Mol. Phylogenet. Evol.* 48: 1-11
- Chaves, J.A., Pollinger, J.P., Smith, T.B. & LeBuhn, G. 2007. The role of geography and ecology in shaping the phylogeography of the speckled hummingbird (*Adelomyia melanogenys*) in Ecuador. *Mol. Phylogenet. Evol.* 43: 795–807.
- Clements, J. F., Schulenberg, T. S., Iliff, M. J., Sullivan, B.L. & Wood, C. L. 2010. The Clements checklist of birds of the world: Version 6.5. Downloaded from <http://www.birds.cornell.edu/clementschecklist/Clements%206.5.xls/view>.
- Dacosta, J.M. & Klicka, J. 2008. The Great American Interchange in birds: a phylogenetic perspective with the genus *Trogon*. *Molecular Ecology.* 17(5): 1328-1343.
- Daza, J.M. Castoe, T.A. & Parkinson C.L. 2010. Using regional comparative phylogeographic data from snake lineages to infer historical processes in Middle America. 33(2): 343-354.
- Dickinson, E.C. (ed.), 2003. The Howard and Moore Complete Checklist of the Birds of the World. 3rd ed. Christopher Helm, London. 1-1039.

- 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 Biol* 4(5): 699-710
- Edwards, S. V., P. Arctander, & A. C. Wilson. 1991. Mitochondrial resolution of a deep branch in the genealogical tree for perching birds. *Proceedings of the Royal Society of London* 243: 99-107.
- Farris, J.S., Källersjö, M., Kluge, A.G., Bult, C. 1995. Constructing a significance test for incongruence. *Syst. Biol.* 44: 570-572.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39:783-791.
- García-Moreno, J. & J. Fjeldså. 1999. Re-evaluation of species limits in the genus *Atlapetes* based on mtDNA sequence data. *Ibis* 141: 199–207.
- García-Moreno, J., Cortés, N., García-Deras, G. M. & Hernández-Baños, B. E. 2005. Local origin and diversification among *Lampornis* hummingbirds: A Mesoamerican taxon. *Mol. Phylogenet. Evol.* 38: 488-498.
- Howell, S. N. G., and S. Webb. 1995. A guide to the birds of Mexico and northern Central America. Oxford Univ. Press, Oxford, U.K.
- Humphries, E. M. & K. Winker. 2010. Working through polytomies: Auklets revisited. *Mol. Phylogenet. Evol.* 54: 88-96.
- Huelsenbeck, J.P. & Ronquist, F. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* 17: 754–755.
- Iturralde-Vinent, M.A. 2006. Meso-Cenozoic Caribbean Paleogeography: Implications for the Historical Biogeography of the Region. *International Geology Review.* 48: 791–827.

- Kirby M.X., Jones D.S., MacFadden B.J. 2008. Lower Miocene Stratigraphy along the Panama Canal and Its Bearing on the Central American Peninsula. PLoS ONE 3(7): e2791.
- Lehtonen, S. 2011. Can sensitivity analysis help to detect long-branch attraction?, Mol. Phylogenet. Evol., doi: [10.1016/j.ympev.2011.08.007](https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.08.007).
- León-Paniagua, L., Navarro-Sigüenza, A.G., Hernández-Baños, B.E. & Morales, J.C. 2007. Diversification of the arboreal mice of the genus *Habromys* (Rodentia: Cricetidae: Neotominae) in the Mesoamerican highlands. Mol. Phylogenet. Evol. 54: 653-664.
- MacMillan, I., Gans, P.B. & Alvarado, G. 2004. Middle Miocene to present plate tectonic history of the southern Central American Volcanic Arc. Tectonophysics 392: 325– 348
- Maddison, W. 1989. Reconstructing character evolution on polytomous cladograms. Cladistics, 5: 365–377.
- Maddison, W.P. & Knowles, L.L. 2006. Inferring Phylogeny Despite Incomplete Lineage Sorting. Syst. Biol. 55(1): 21–30.
- Manea, V.C. & Manea, M., 2006. The origin of modern Chiapanecan volcanic arc in southern Mexico inferred from thermal models. En: Rose, William I., Bluth, Gregg J.S., Carr, Michael J., Ewert, John W., Patino, Lina C., Vallance, James W. (Eds.), ch2: "Volcanic Hazards in Central America. GSA Special Paper, (412): 27–38.
- Marshall, J.S., 2007, Geomorphology and Physiographic Provinces of Central America; en: Bundschuh, J. and Alvarado, G., (Eds.). *Central America: Geology, Resources, and Hazards*, Taylor and Francis, London, pp. 75-122.
- McGuire J.A., Witt C.C., Altshuler D.L., Remsen J.V. Jr. 2007. Phylogenetic systematics and biogeography of hummingbirds: Bayesian and maximum-

likelihood analyses of partitioned data and selection of an appropriate partitioning strategy. *Syst. Biol.* 56: 837–856.

- McGuire, J.A., Witt, C.C., Remsen, J.V.J., Dudley, R., Altshuler, D., 2009. A higher-level taxonomy for hummingbirds. *J. Ornithol.* 150: 155–165.
- McKay, B. D. & R. M. Zink. 2010. The causes of mitochondrial DNA gene tree paraphyly in birds. *Mol. Phylogenet. Evol.* 54: 647-650.
- Miller, M.J., Bermingham, E. & Ricklefs, R.E., 2007. Historical biogeography of the New World solitaires (*Myadestes*). *Auk* 124: 868–885.
- Monroe, B.L., 1963. A revision of the *Lampornis viridipallens* complex (Aves: Trochilidae). *Occasional Papers of the Museum of Zoology*, Vol. 27. Louisiana State University, Baton Rouge, Louisiana, pp. 1–10.
- Monroe, B.L., 1968. A distributional survey of the birds of Honduras. *Ornithological monographs AOU*. 7: 186-193, pp. 458.
- Morin, P. A., Messeir, J., Woodruff, D.S. 1994. DNA extraction, amplification and direct sequencing from Hornbill feathers. *J. Sci. Soc. Thailand* 20: 31-41
- 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. *Mol. Phylogenet. Evol.* 47: 21-35.
- Olsson, U., Alström, P., Gelang, M., Ericsson, P.G. & Sundberg, P. 2006. Phylogeography of Indonesian and Sino-Himalayan bush warblers (*Cettia*, Aves). *Mol. Phylogenet. Evol.*, 41: 556–561.
- Omland, K. E., S. M. Lanyon & S. J. Fritz. 1999. A molecular phylogeny of the New World Orioles (*Icterus*): The importance of dense taxon sampling. *Mol. Phylogenet. Evol.* 12(2): 224–239

- Parra, J.L., J.V. Remsen Jr., M. Alvarez-Rebolledo & J. A. McGuire. 2009. Molecular phylogenetics of the hummingbird genus *Coeligena*. *Mol. Phylogenet. Evol.* 53: 425-434.
- Posada D. 2008. jModelTest: Phylogenetic Model Averaging. *Molecular Biology and Evolution* 25: 1253-1256.
- Price, T. 2007. *Speciation in Birds*. Roberts & Co. Publishers, CO, USA. 92-95, pp. 480.
- Rambaut, A. 2002. Se-AL Sequence Alignment Editor, v. 2.0a11. Department of Zoology, University of Oxford, Oxford.
- Rambaut A. & Drummond A.J. 2007. Tracer v1.4, Available from <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>
- Renner, S. & Schuchmann, K.L. 2004. Biogeography, geographical variation and taxonomy of the hummingbird genera *Eugenes* Gould, 1854, *Sternoclyta* Gould, 1858, and *Hylonympha* Gould, 1873 (Aves: Trochilidae). *Ornithol. Arz.* 43: 103-114.
- Ridgely, R. S., Allnutt, T. F., Brooks, T., McNicol, D. K., Mehlman, D. W., Young, B. E. & Zook, J. R. 2007. Digital distribution maps of the birds of the western hemisphere, version 3.0. NatureServe, Arlington, Virginia, USA.
- Ridgway, R., 1911. *The birds of North and Middle America*. U.S. Natl. Mus. Bull. 50: 367–377.
- Ronquist, F. 2001. DIVA version 1.2. Computer program for MacOS and Win32. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University. Available at <http://www.ebc.uu.se/systzoo/research/diva/diva.html>.
- Schuchmann, K.L. 1999. Family Trochilidae (Hummingbirds). En: Del Hoyo, E., Elliot, A. & Sargatal, J. (Eds.), *Handbook of the birds of the World*, Lynx Editions, Barcelona, Vol. 5. 608-611

- Salvin. O. 1891. Descriptions of new species of Upupae and Trochili in the collection of the British Museum The Annals and Magazine of Natural History. 6(7): 374-378.
- Sanmartín, I., Mark, P.V.D. & Ronquist, F. 2008. Inferring dispersal: a Bayesian approach to phylogeny-based island biogeography, with special reference to the Canary Islands. *Journal of Biogeography*, 35: 428–449.
- Singer-Sam, J.R., Tanguay, L., Riggs, A. D. 1989. Use of chelex to improve PCR signals from small number of cells. *Amplification Forum for PCR Users*. 3: 11
- Stamatakis, A. 2006. RAxML-VI-HPC: Maximum Likelihood-based Phylogenetic Analyses with Thousands of Taxa and Mixed Models, *Bioinformatics* 22(21): 2688–2690.
- Temeles, E. J., Linhart, Y. B., Masonjones, M. & Masonjones, H. D. 2002. The role of flower width in hummingbird bill length–flower length relationships. *Biotropica*, 34(1): 68-80.
- Tilston S.B. & Klicka, J. 2010. The profound influence of the Late Pliocene Panamanian uplift on the exchange, diversification, and distribution of New World birds. *Ecography* 33: 333-342
- Vandamme, A.M. 2009. Basic concepts of molecular evolution. En: *The Phylogenetic Handbook: A Practical Approach to Phylogenetic Analysis and Hypothesis Testing*. Cambridge University Press. 2da edición. Pp. 751. 3-28
- Weir, J.T., 2006. Divergent timing and patterns of species accumulation in lowland and highland neotropical birds. *Evolution* 60: 842–855.
- Weir, J.T. 2009. Implications of genetic differentiation in neotropical montane forest birds. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 96: 410–433.
- Wetmore, A. 1968. The birds of the Republic of Panama, Part 2. Washington, D.C. Smithsonian Institution, Vol. 150 pp. 247-378

- Yu Y., Harris A.J., & He X.J. 2010. S-DIVA (Statistical Dispersal-Vicariance Analysis): A tool for inferring biogeographic histories. *Mol. Phylogenet. Evol.* 56(2): 848-850
- Yu Y., Harris A.J. & He X.J. 2011. RASP (Reconstruct Ancestral State in Phylogenies) 1.1. Available at <http://mnh.scu.edu.cn/soft/blog/RASP>

Apéndice

Tabla 4. Lista de individuos utilizados para los análisis filogenéticos. Nomenclatura corresponde al país y colección de origen: CR= Costa Rica, Pan= Panamá, EISal= El Salvador, Nic= Nicaragua, Mex= México, MZFC= Museo de Zoología de la Facultad de Ciencias, UNAM, INECOL-LAB= Colección de tejidos del Laboratorio de Biología Evolutiva, Instituto de Ecología, A. C. Código en paréntesis muestra el número de catálogo de la muestra de tejido. Últimas columnas se muestran los N° de Acceso de GenBank para las secuencias

N°	Especie	Código	Colección	País	Localidad	Cyt-b	ND5
1	<i>L. clemenciae</i>	Lcl4	INECOL-LBE	Mex	P.N. La Malinche, Tlaxcala	-	-
2	<i>L. clemenciae</i>	Lcl7	INECOL-LBE	Mex	P.N. La Malinche, Tlaxcala	-	-
3	<i>L. clemenciae</i>	Lcl8	INECOL-LBE	Mex	P.N. La Malinche, Tlaxcala	-	-
4	<i>L. clemenciae</i>	Lcl9	INECOL-LBE	Mex	P.N. La Malinche, Tlaxcala	-	-
5	<i>L. clemenciae</i>	Lcl32	INECOL-LBE	Mex	El Palmito, Sinaloa	-	-
6	<i>L. clemenciae</i>	Lcl64	-	Mex	Ocuilan, Estado de México	DQ196531	DQ196564
7	<i>L. amethystinus</i>	Lame66	-	Mex	Tlanchinol, Hidalgo	DQ196533	DQ196566
8	<i>L. amethystinus</i>	Lame65	-	Mex	Tlanchinol, Hidalgo	DQ196532	DQ196565
9	<i>L. amethystinus</i>	Lame73	-	Mex	Sierra de Manantlan, Jalisco	DQ196540	DQ196573
10	<i>L. amethystinus</i>	Lame69	-	Mex	Cerro Tancitaro, Michoacan	DQ196536	DQ196569
11	<i>L. amethystinus</i>	Lame68	-	Mex	Ocuilan, Estado de México	DQ196535	DQ196568
12	<i>L. amethystinus</i>	Lame74	-	Mex	Sierra de Atoyac, Guerrero	DQ196541	DQ196574
13	<i>L. amethystinus</i>	Lame75	-	Mex	Sierra de Atoyac, Guerrero,	DQ196542	DQ196575
14	<i>L. amethystinus</i>	Lame67	-	Mex	Cerro Zempoaltepetl, Oaxaca,	DQ196534	DQ196567
15	<i>L. amethystinus</i>	Lame76	-	Mex	Cerro Zempoaltepetl, Oaxaca,	DQ196543	DQ196576
16	<i>L. amethystinus</i>	Lame71	-	Mex	San Cristobal de las Casas,	DQ196538	DQ196571
17	<i>L. amethystinus</i>	Lame70	-	Mex	San Cristobal de las Casas,	DQ196537	DQ196570
18	<i>L. amethystinus</i>	Lame72	-	Mex	Pital, El Salvador	DQ196539	DQ196572
19	<i>L. amethystinus</i>	Lame42	INECOL-LBE	Mex	Rancho Nuevo, Chiapas	-	-
20	<i>L. amethystinus</i>	Lame32	INECOL-LBE	Mex	P.N. La Malinche, Tlaxcala	-	-
21	<i>L. amethystinus</i>	Lame10	INECOL-LBE	Mex	La Galera, Puebla	-	-
22	<i>L. amethystinus</i>	Lame21	INECOL-LBE	Mex	El Riscal, Veracruz	-	-

23	<i>L. amethystinus</i>	Lame36	INECOL-LBE	Mex	Nevado de Colima, Jalisco	-	-
24	<i>L. amethystinus</i>	Lame5	INECOL-LBE	Mex	Alta Cima, Tamaulipas	-	-
25	<i>L. hemileucus</i>	Lhem84	-	CR	Heredia	DQ196551	DQ196584
26	<i>L. hemileucus</i>	Lhem85	-	Pan	Chiriqui	DQ196553	DQ196586
27	<i>L. hemileucus</i>	Lhem86	-	Pan	Chiriqui	DQ196552	DQ196585
28	<i>L. sybillae</i>	L. syb58	-	Nic	Matagalpa	DQ196525	DQ196558
29	<i>L. sybillae</i>	L. syb59	-	Nic	Matagalpa	DQ196526	DQ196559
30	<i>L. calolaemus</i>	Lcalo60	-	Nic	Managua	DQ196527	DQ196560
31	<i>L. calolaemus</i>	Lcalo61	-	Nic	Managua	DQ196528	DQ196561
32	<i>L. calolaemus</i>	Lcalo62	-	Pan	Chiriqui	DQ196529	DQ196562
33	<i>L. calolaemus</i>	Lcalo63	-	Pan	Chiriqui	DQ196530	DQ196563
34	<i>L. castaneoventris</i>	Lcasta78	-	CR	San José	DQ196545	DQ196578
35	<i>L. castaneoventris</i>	Lcasta79	-	CR	San José	DQ196546	DQ196579
36	<i>L. castaneoventris</i>	Lcasta81	-	Pan	Chiriqui	DQ196548	DQ196581
37	<i>L. castaneoventris</i>	Lcasta82	-	Pan	Chiriqui	DQ196549	DQ196582
38	<i>L. cinereicauda</i>	Lciner83	-	CR	Cartago	DQ196550	DQ196583
39	<i>L. viridipallens</i>	Lviri77	-	Mex	Volcán Tacaná	DQ196544	DQ196577
40	<i>L. viridipallens</i>	Lviri41	INECOL-LBE	Mex	R. B. El Triunfo, Chiapas	-	-
41	<i>L. viridipallens</i>	Lviri43	INECOL-LBE	Mex	Volcán Tacaná, Chiquihuite	-	-
42	<i>L. viridipallens</i>	Lviri46	INECOL-LBE	Mex	Volcán Tacaná, Rio Mata	-	-
43	<i>L. viridipallens</i>	Lviri56	INECOL-LBE	Mex	Montebello, Chiapas	-	-
44	<i>L. viridipallens</i>	Lviri63	INECOL-LBE	Mex	Jitotol, Chiapas	-	-
45	<i>L. viridipallens</i>	Lviri67	INECOL-LBE	Mex	R. B. El Triunfo, Chiapas	-	-
46	<i>Lamprolaima rhami</i>	Lrhami87	-	Mex	Martín Caballero, Oaxaca	DQ196554	DQ196587
47	<i>Lamprolaima rhami</i>	Lrhami88	-	Mex	Martín Caballero, Oaxaca	DQ196555	DQ196588
48	<i>Lamprolaima rhami</i>	Lrhami5	INECOL-LBE	Mex	Rancho Nuevo, Chiapas	-	-
49	<i>Eugenes fulgens</i>	Efulgens46	INECOL-LBE	Mex	P.N. La Malinche, Tlaxcala	-	-
50	<i>Eugenes fulgens</i>	Efulgens47	INECOL-LBE	Mex	P.N. La Malinche, Tlaxcala	-	-
51	<i>Eugenes fulgens</i>	Efulgens48	INECOL-LBE	Mex	P.N. La Malinche, Tlaxcala	-	-
52	<i>Heliomaster longirostris</i>	Hlong1	INECOL-LBE	Mex	Cerro del Baúl, Oaxaca	-	-

53	<i>Heliomaster constantii</i>	Hconst1	INECOL-LBE	Mex	Playa Chalacatepec, Jalisco	-	-
54	<i>Heliomaster constantii</i>	Hconst2 (OMPV-750)	MZFC	Mex	Cerro Piedra Larga, Oaxaca	-	-
55	<i>Archilochus colubris</i>	Acolubris1	INECOL-LBE	Mex	Cerro Baúl, Oaxaca	-	-
56	<i>Calothorax pulcher</i>	Cpulcher (PUE-135)	INECOL-LBE	Mex	Tehuacán, Puebla	-	-
57	<i>Doricha eliza</i>	Deliza (VER-134)	INECOL-LBE	Mex	Xalapa, Veracruz	-	-
58	<i>Selasphorus platycercus</i>	Splatycercus (BMM-559)	MZFC	Mex	Eloxochitlán, Hidalgo	-	-
59	<i>Campylopterus hemileucurus</i>	Chemi1	INECOL-LBE	Mex	-	-	-
60	<i>Hylocharis leucotis</i>	Hleucotis38	INECOL-LBE	Mex	PNM, Tlaxcala	-	-

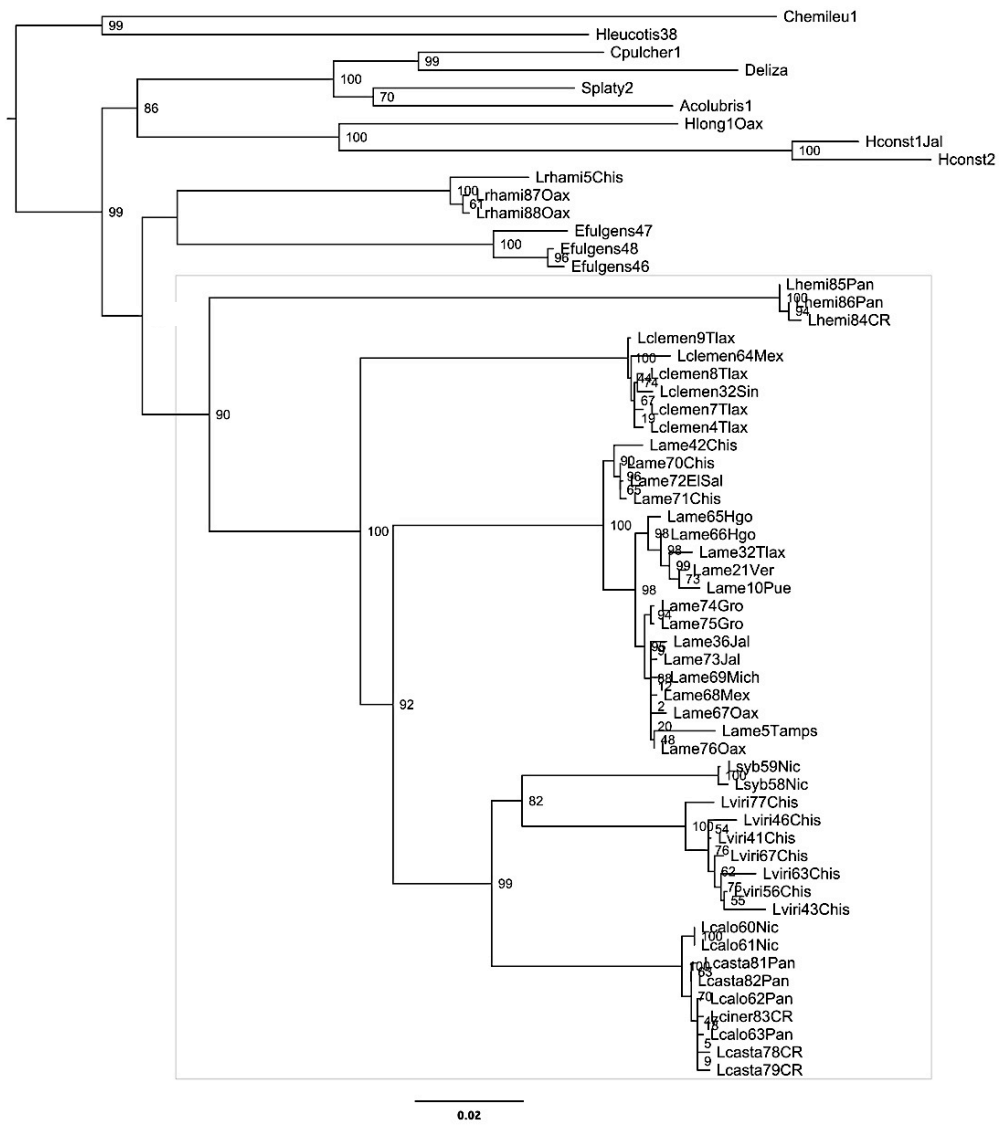


Figura 11. Árbol de Máxima verosimilitud con las Esmeraldas (*H. leucotis* y *C. hemileucurus*) utilizando los dos genes (ND5 y Cyt-*b*). Valores de soporte obtenidas por medio de 1000 réplicas de bootstrap. Los valores de soporte no mostrados son < 60.

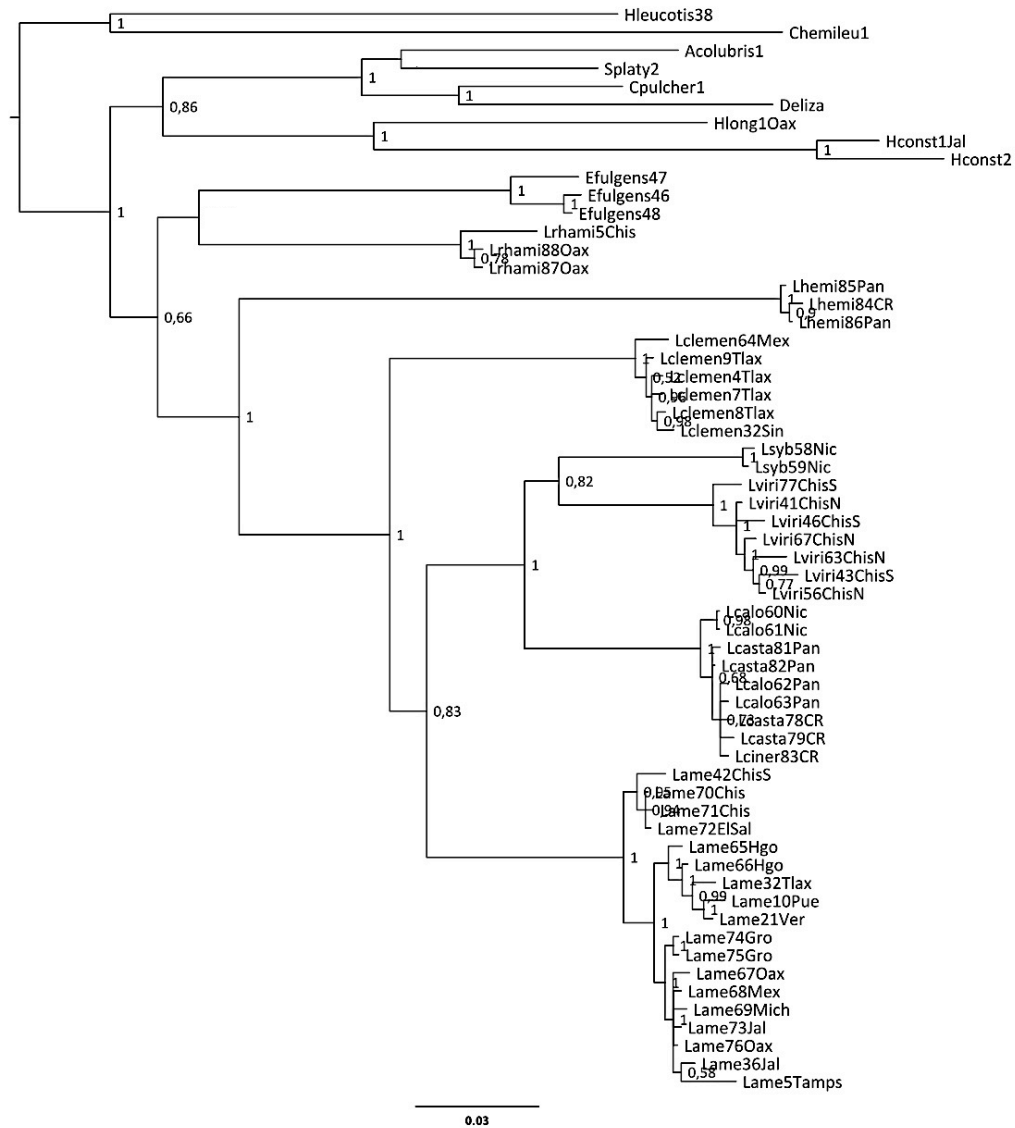


Figura 12. Árbol de Inferencia Bayesiana (IB) con las Esmeraldas (*H. leucotis* y *C. hemileucus*) utilizando los dos genes (ND5 y *Cyt-b*). Valores de soporte obtenidas en el análisis como probabilidades posteriores (PP). Los valores de soporte no mostrados son < 0.6.

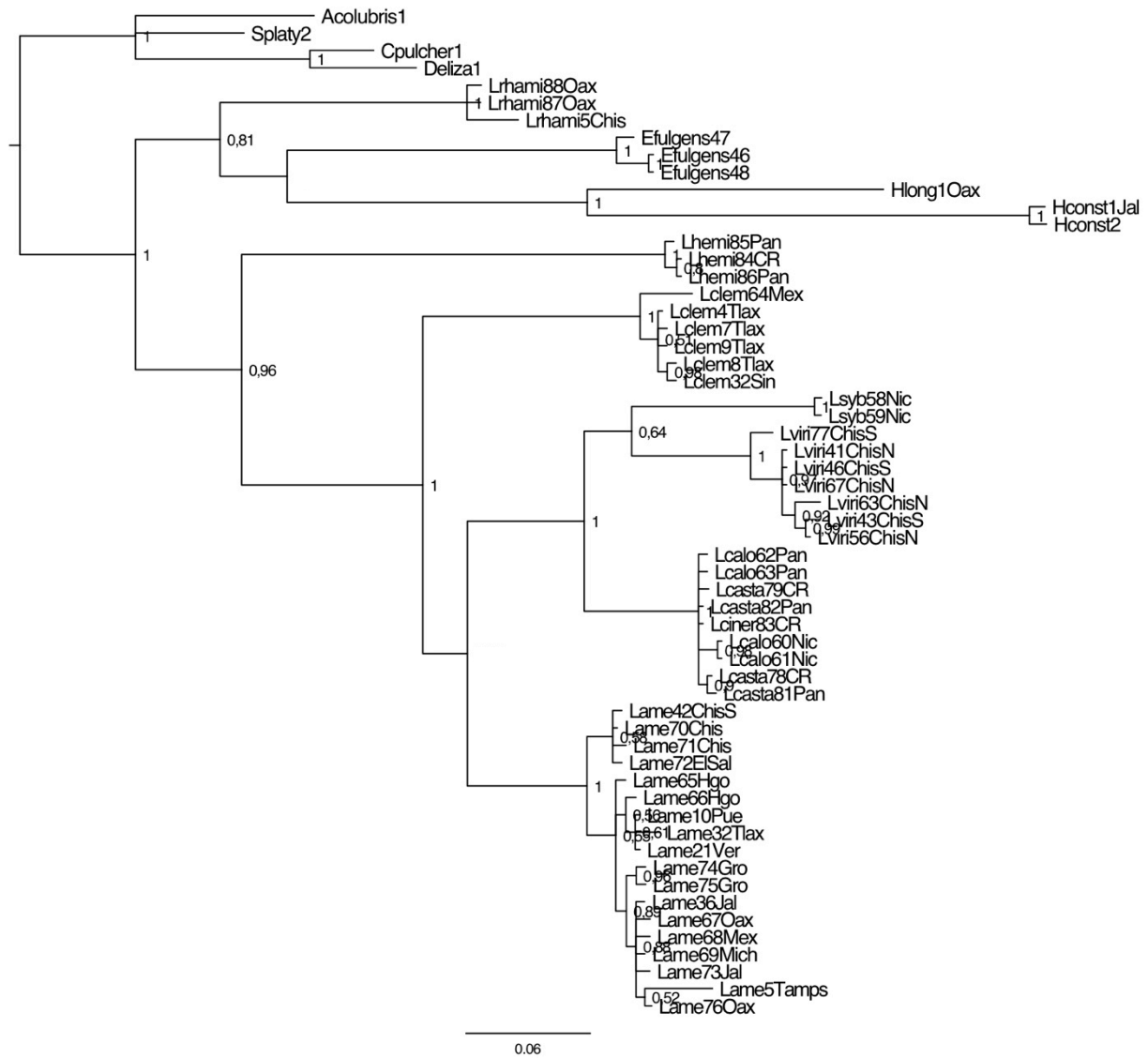


Figura 13. Árbol de Inferencia Bayesiana (IB) sin las Esmeraldas (*H. leucotis* y *C. hemileucurus*) utilizando ND5. Valores de soporte obtenidas en el análisis como probabilidades posteriores (PP). Los valores de soporte no mostrados son < 0.6 .

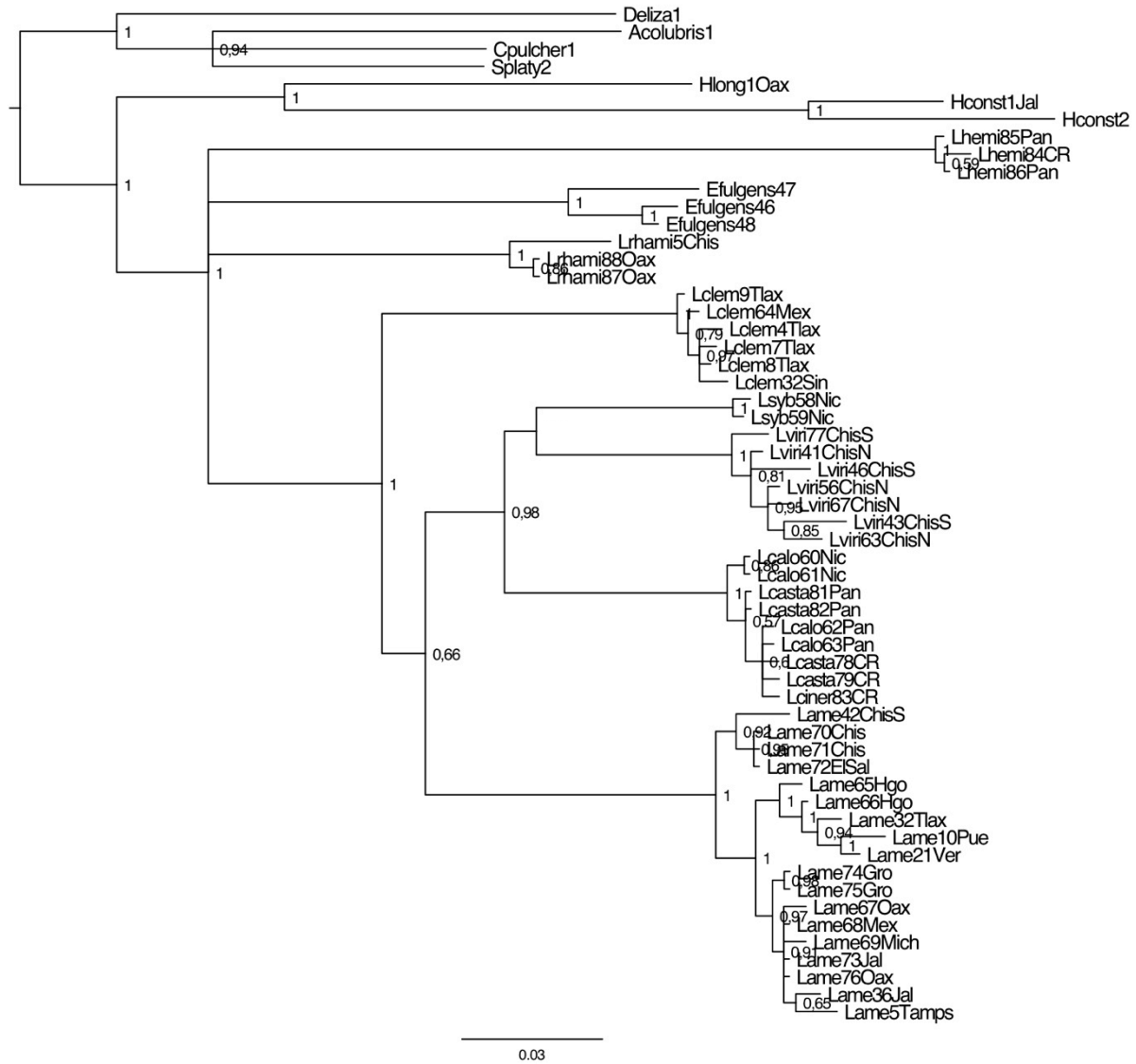


Figura 14. Árbol de Inferencia Bayesiana (IB) sin las Esmeraldas (*H. leucotis* y *C. hemileucurus*) utilizando Cyt-*b*. Valores de soporte obtenidas en el análisis como probabilidades posteriores (PP). Los valores de soporte no mostrados son < 0.6.

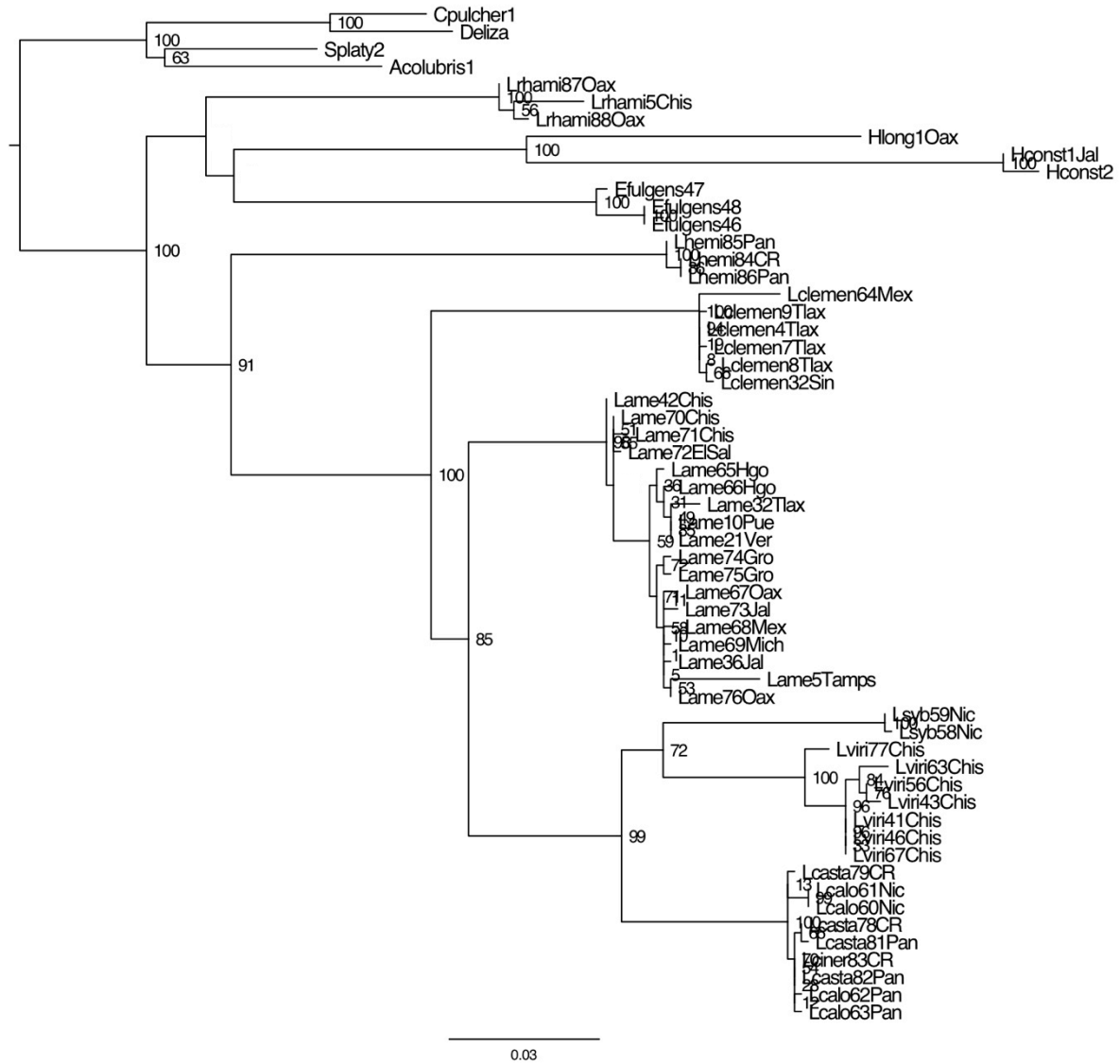


Figura 15. Árbol de Máxima Verosimilitud (IB) sin las Esmeraldas (*H. leucotis* y *C. hemileucurus*) utilizando ND5. Valores de soporte obtenidas por medio de 1000 réplicas de bootstrap. Los valores de soporte no mostrados son < 60.

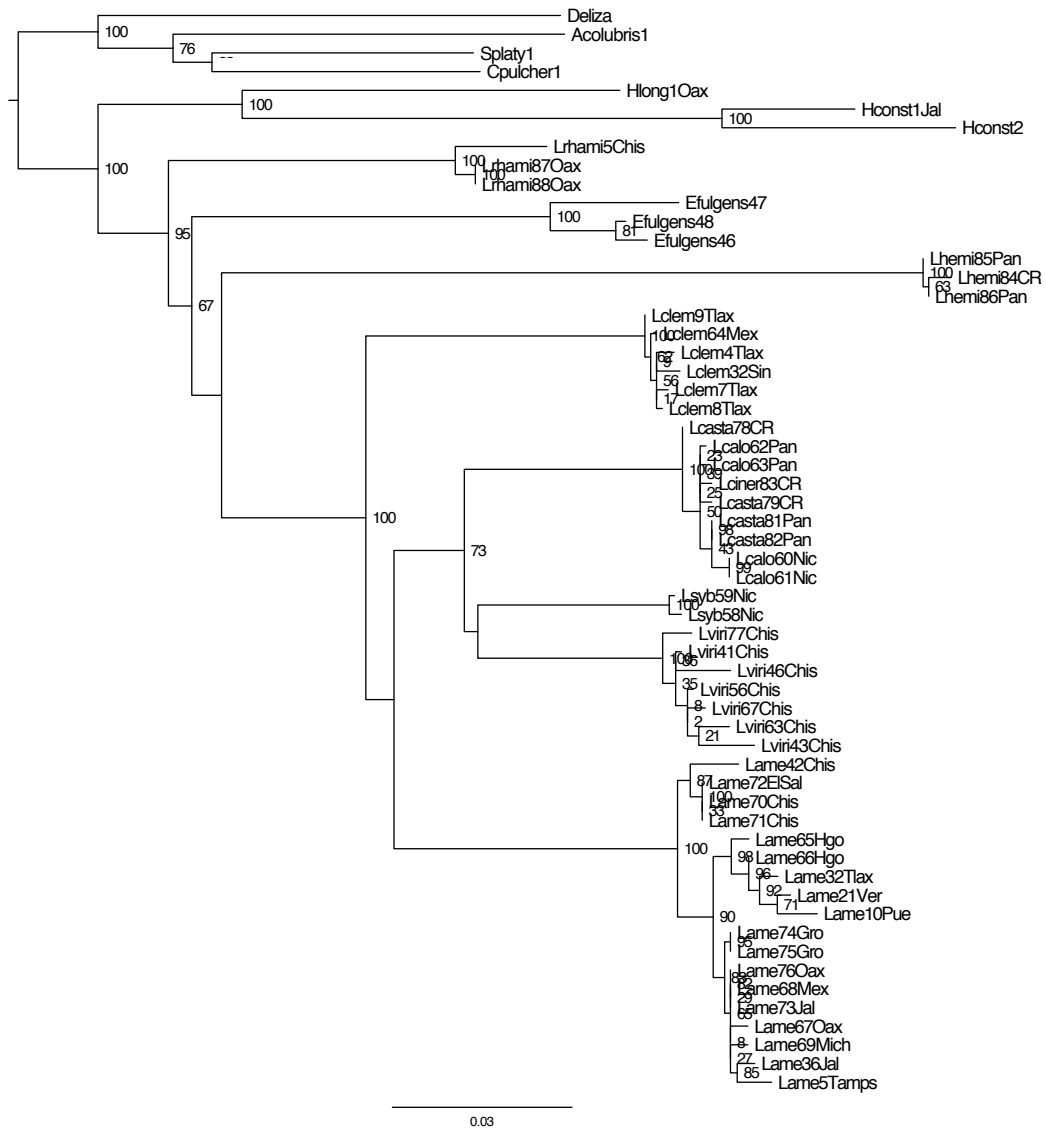


Figura 16. Árbol de Máxima Verosimilitud (MV) sin las Esmeraldas (*H. leucotis* y *C. hemileucurus*) utilizando Cyt-*b*. Valores de soporte obtenidos por medio de 1000 réplicas de bootstrap. Los valores de soporte no mostrados son < 60.