



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS

SISTEMÁTICA

**DIVERGENCIA GENÉTICA Y MORFOLÓGICA DEL CUCO ARDILLA (*PIAYA CAYANA*) EN
MÉXICO**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

BIÓL. HÉCTOR CAYETANO ROSAS

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: Dr. Luis Antonio Sánchez González
Facultad de Ciencias, UNAM

COMITÉ TUTOR: Dr. Octavio Rojas Soto
Instituto de Ecología, INECOL
Dr. Adolfo Gerardo Navarro Sigüenza
Facultad de Ciencias, UNAM

CIUDAD DE MÉXICO

FEBRERO, 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS

SISTEMÁTICA

**DIVERGENCIA GENÉTICA Y MORFOLÓGICA DEL CUCO ARDILLA (*PIAYA CAYANA*) EN
MÉXICO**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

BIÓL. HÉCTOR CAYETANO ROSAS

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: Dr. Luis Antonio Sánchez González
Facultad de Ciencias, UNAM

COMITÉ TUTOR: Dr. Octavio Rojas Soto
Instituto de Ecología, INECOL
Dr. Adolfo Gerardo Navarro Sigüenza
Facultad de Ciencias, UNAM

CIUDAD DE MÉXICO

FEBRERO, 2018

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

OFICIO FCIE/DEP/027/2018

ASUNTO: Oficio de Jurado

Lic. Ivonne Ramirez Wence
Directora 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 7 de agosto de 2017 se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS en el campo de conocimiento de Sistemática del (la) alumno(a) CAYETANO ROSAS HÉCTOR con número de cuenta 409020500 con la tesis titulada "Divergencia genética y morfológica del Cuco ardilla (*Playa cayana*) en México", realizada bajo la dirección del (la) DR. LUIS ANTONIO SÁNCHEZ GONZÁLEZ:

Presidente: DRA. ELLA GLORIA VÁZQUEZ DOMÍNGUEZ
Vocal: DR. ERICK ALEJANDRO GARCÍA TREJO
Secretario: DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA
Suplente: DR. ALEJANDRO ZALDIVAR RIVERÓN
Suplente: DR. OCTAVIO RAFAEL ROJAS SOTO

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 16 de enero de 2018



DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA
COORDINADOR DEL PROGRAMA



AGNS/VMVA/ASR/grf*

AGRADECIMIENTOS

Al Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt) por la beca otorgada (número 330550). A los proyectos Conacyt 152060, Conacyt 631408, PAPIIT UNAM IN 217212, 215515 y IA 202813 por el apoyo económico recibido.

A los miembros de mi comité tutor Dr. Luis Antonio Sánchez González, Dr. Octavio Rojas Soto y Dr. Adolfo Gerardo Navarro Sigüenza por su guía y dirección de este proyecto.

AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

A los miembros del jurado Dra. Ella Gloria Vázquez Domínguez, Dr. Erick Alejandro García Trejo y Dr. Alejandro Zaldívar Riverón por sus recomendaciones y correcciones al manuscrito.

Al personal del Museo de Zoología 'Alfonso L. Herrera'.

Al Biodiversity Institute de la Universidad de Kansas, la Academy of Natural Sciences of Philadelphia y a la Colección Nacional de Aves del Instituto de Biología de la UNAM por los tejidos y ejemplares facilitados.



ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
Taxón de estudio	5
OBJETIVOS	11
MATERIALES Y MÉTODOS	12
Obtención de muestras	12
Procedimientos de Laboratorio.....	12
Análisis filogenéticos	13
Estimación de tiempos de divergencia	14
Análisis de genética de poblaciones.....	18
Análisis morfológicos.....	20
Análisis de similitud de nicho ecológico.....	22
RESULTADOS	25
Análisis filogenéticos	26
Reloj molecular y tiempos de divergencia	26
Análisis de genética de poblaciones.....	28
Similitud de nicho ecológico	40
DISCUSIÓN	43
CONCLUSIONES	51
LITERATURA CITADA	52
Anexo 1. Lista de muestras y localidades usadas en los análisis filogenéticos.	68

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Modelos de sustitución y particiones.....	14
Cuadro 2. Matriz de diferenciación	31
Cuadro 3. Parámetros de genética de poblaciones.	32
Cuadro 4. Valores de media y desviación estándar (SD) para las variables morfométricas ..	35
Cuadro 5. Variables con diferencias significativas entre machos y hembras.....	35
Cuadro 6. Matriz de correlación entre las variables morfométricas.	38
Cuadro 7. Eigenvectores para los tres primeros componentes principales.....	40

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución de <i>Piaya cayana</i> en el Neotrópico.....	6
Figura 2. Distribución potencial de las formas de <i>Piaya cayana</i> en México y Centroamérica.	8
Figura 3. Comparación entre <i>Piaya cayana thermophila</i> y <i>Piaya cayana mexicana</i>	9
Figura 4. Distribución de las muestras utilizadas en los análisis genéticos.	25
Figura 5. Filogenia mitocondrial y tiempos de divergencia estimados	27
Figura 6. Red de haplotipos para las secuencias concatenadas	29
Figura 7. Redes de haplotipos para el gen ND2 y Cytb	30
Figura 8. Distribuciones mismatch para las diferentes poblaciones.....	34
Figura 9. Comparación individual de cada variable morfológica.	37
Figura 10. Gráfica matricial para las variables morfométricas	38
Figura 11. Análisis de componentes principales de las variables morfométricas.....	39
Figura 12. Comparación de los nichos ecológicos de los grupos <i>mexicana</i> y <i>thermophila</i> ...	41
Figura 13. Círculo de correlación entre las variables utilizadas para construir el espacio ecológico.....	42

RESUMEN

El cuco ardilla (*Piaya cayana*; Cuculiformes: Cuculidae) es una especie politípica de amplia distribución en el Neotrópico con 14 subespecies reconocidas en la actualidad. Dos formas parapátridas actualmente reconocidas como subespecies se distribuyen en México. Una de estas subespecies, *P. c. mexicana*, habita en los bosques secos del oeste de México, mientras que la otra, *P. c. thermophila*, habita en bosques lluviosos desde el este de México hasta Panamá. Estas subespecies presentan una marcada diferenciación fenotípica por lo que su estatus taxonómico ha sido motivo de debate durante largo tiempo. En el presente trabajo se utilizaron análisis filogenéticos y de genética de poblaciones basados en marcadores moleculares, así como análisis morfológicos y de similitud de nicho, para describir las relaciones evolutivas y patrones de diferenciación genética, morfológica y ecológica de *P. cayana* en México, sugerir los escenarios biogeográficos responsables de dicha diferenciación y confirmar el estatus taxonómico de los taxones involucrados. Con base en secuencias de DNA mitocondrial (ND2, 1041 pb; CytB, 622 pb) se encontró una alta diferenciación entre las subespecies *P. c. mexicana* y *P. c. thermophila*, además, estos linajes forman un grupo diferenciado de las poblaciones de Sudamérica. Los tiempos de divergencia estimados sugieren que la separación, entre *P. c. mexicana* y *P. c. thermophila* ocurrió en el Pleistoceno inferior hace aproximadamente 1.24 Ma (1.79–0.78 Ma, 95% HPD). Análisis morfométricos entre las dos subespecies en México indican que el tamaño de las manchas de la cola y la longitud de cola de *P. c. mexicana* es significativamente mayor que en *P. c. thermophila*, mientras que los individuos de este último presenta picos más anchos y largos. Por otro lado, las pruebas de similitud de nicho muestran que los nichos entre ambos grupos no son idénticos, pero sí similares. Los datos sugieren que las clasificaciones actuales no reflejan las relaciones evolutivas ni el grado de divergencia entre las poblaciones de *P. cayana*. Considerando las distintas líneas de evidencia, se sugiere que el estatus taxonómico de *P. c. mexicana* y *P. c. thermophila* debe elevarse a nivel de especie para cada una.

ABSTRACT

The Squirrel cuckoo (*Piaya cayana*; Cuculiformes: Cuculidae) is a polytypic species widely distributed in the Neotropics with 14 recognized subspecies. Two parapatric forms, currently recognized as subspecies are distributed in Mexico. Subspecies *P. c. mexicana* is found in the dry tropical forests of western Mexico while subspecies *P. c. thermophila* inhabits in humid forests from eastern Mexico to Panama. These subspecies have a pronounced phenotypic differentiation, therefore it's taxonomic status has been debated for a long time. Based on molecular markers, I used phylogenetics and population genetics analysis, morphological analysis and environmental niche overlap to describe the evolutionary relationships and genetic, morphological and ecological differentiation patterns of *P. cayana* in Mexico, in addition, I suggest biogeographic scenarios and confirm the taxonomic status of these subspecies. Based on ND2 (1041 bp) and CytB (622 bp) genes, I detected high genetic differentiation between *P. c. mexicana* y *P. c. thermophila* subspecies, moreover, these lineages grouped in a well-differentiated clade regarding South American populations. Divergence time estimates suggested that the split between *P. c. mexicana* and *P. c. thermophila* occurred in the Early Pleistocene about 1.24 Mya (1.79–0.78 Mya, 95% HPD). Morphometric analyses between subspecies in Mexico indicate that tail length and tail spots are significantly longer in *P. c. mexicana* than *P. c. thermophila*, while *P. c. thermophila* have longer and wider bill. On the other hand, environmental niche overlap analysis show that niches of both subspecies are not identical, but similar to each other. Results suggest that the current taxonomic scheme neither reflect the evolutionary relationships nor divergence between populations of *P. cayana*. Based in overall evidence, I suggest that subspecies *P. c. mexicana* and *P. c. thermophila* should be recognized as two different species.

INTRODUCCIÓN

Uno de los principales objetivos de la biología evolutiva es esclarecer los procesos que han dado forma a la gran diversidad biológica del planeta (Futuyma 2005). En este sentido, diversas disciplinas como la paleontología, la biología del desarrollo, la morfología, la ecología y la genética han proporcionado información valiosa a través enfoques particulares, permitiendo generar explicaciones integrales basadas en diferentes líneas de evidencia (Reeder *et al.* 2015; Hlusko *et al.* 2016). En particular, en las últimas décadas, el uso de caracteres moleculares ha proporcionado una poderosa herramienta para esclarecer relaciones evolutivas en poblaciones naturales, e inferir sobre los procesos históricos y ecológicos que dan lugar a la distribución de la diversidad genética de las especies.

La variación fenotípica basada en datos morfológicos, conductuales, de coloración y/o vocales es generalmente la primera línea de evidencia (y a veces la única) para establecer patrones de diferenciación entre las poblaciones de una especie, y hasta la llegada de los marcadores moleculares fue la base de la taxonomía y formulación de hipótesis de las relaciones evolutivas entre los organismos (Paterlini 2007; Gill 2014). Sin embargo, el uso de marcadores moleculares para dilucidar la historia evolutiva de los organismos trajo consigo resultados variados. En algunos casos los patrones de diferenciación genética se corresponden con los patrones de diferenciación fenotípica y/o con barreras geográficas evidentes, como en sistemas montañosos, en los que la diferenciación es atribuida al aislamiento geográfico de las poblaciones (Navarro-Sigüenza *et al.* 2008; Barrera-Guzmán *et al.* 2012; Ortiz-Ramírez *et al.* 2016). No obstante, otros casos han revelado que la diferenciación genética no siempre se corresponde con los patrones de diferenciación establecidos con base a la distribución geográfica o variación fenotípica (Ottvall *et al.* 2002; Cortés-Rodríguez *et al.* 2008), enfatizando la necesidad de reevaluar la posición taxonómica y la clasificación de diversos grupos (Fritz *et al.* 2007; Puebla *et al.* 2008; McCormack 2008; Arbeláez-Cortes y Navarro-Sigüenza 2013). En algunos casos los datos moleculares han revelado la existencia de especies crípticas, linajes con una marcada diferenciación genética, pero con muy poca o ninguna diferenciación morfológica aparente (Sullivan *et al.* 2000; Navarro-Sigüenza, *et al.* 2013; Adams *et al.* 2014).

Aunado a los análisis morfológicos y moleculares, el modelado de nicho ecológico (MNE), puede ser usado para dilucidar el papel que los cambios en las condiciones ambientales pueden haber tenido sobre la diversidad genética observada (Arbeláez-Cortés *et al.* 2014; Lozano-Jaramillo *et al.* 2014). Los modelos de nicho ecológico han recibido una creciente atención debido a sus capacidades predictivas y aplicaciones en los campos de la biodiversidad (Rojas-Soto *et al.* 2003; Ríos y Navarro-Sigüenza 2012) y conservación (Peterson y Vieglais 2001; Prieto-Torres *et al.* 2016). La idea general de los MNE es generar un modelo de las condiciones macroclimáticas que caracterizan al nicho ecológico de la unidad a modelar basado en la correlación entre la información de la presencia (o ausencia) de la especie, con coberturas ambientales digitales (Peterson 2006). El resultado de este modelo puede ser proyectado en un mapa para generar un modelo de la distribución de la entidad, en el que cada celda tiene un valor que representa la idoneidad ambiental relativa para la entidad dada (Peterson y Soberón, 2012).

A través de la medición del traslape de nicho ecológico, es decir el grado de similitud del nicho de las entidades comparadas (Warren *et al.* 2008; Broennimann *et al.* 2012), en los modelos de nicho ecológico pueden ser puestos a prueba diferentes escenarios de especiación y evolución de nichos ambientales (Graham *et al.* 2004; Knouft *et al.* 2006; Ortega-Andrade *et al.* 2015). Cuando se presuponen eventos de diferenciación geográfica, es posible evaluar si dos o más entidades (p. e. poblaciones de una especie, especies dentro de un género) han evolucionado manteniendo los mismos requerimientos ambientales (conservadurismo de nicho) o por el contrario, se han generado diferentes requerimientos (divergencia de nicho) (Warren *et al.* 2008; Pyron y Burbrink 2009; McCormack *et al.* 2010; Broennimann *et al.* 2012).

El uso combinado de diferentes líneas de evidencia ha sido de gran ayuda para evaluar los patrones de diferenciación fenotípica, genética y ecológica en especies de amplia distribución en el Neotrópico (Ortega-Andrade *et al.* 2015; Lozano-Jaramillo *et al.* 2014), especialmente aquellas que presentan distribuciones aparentemente continuas. Para estas especies, inferir los procesos que han moldeado patrones de diferenciación puede ser complicado debido a que la aparente continuidad de su distribución puede dificultar el distinguir entre escenarios de diferenciación *in situ* (posiblemente causados por la adaptación a diferentes condiciones ambientales) y escenarios donde el contacto secundario, producto de reconexiones de

hábitat, enmascara procesos de diferenciación causados por eventos de aislamiento geográfico (Wuester *et al.* 2005; Gehara *et al.* 2014; Harvey y Brumfield 2015; Carmi *et al.* 2016).

En este sentido, el uso conjunto de distintas líneas de evidencia ha revelado distintos patrones de diferenciación en el caso de la fauna de las tierras bajas tropicales de México; es decir, especies cuya distribución se encuentra principalmente en hábitats tropicales a elevaciones de entre 0-1200 metros sobre el nivel del mar aproximadamente (Mercer *et al.* 2008). Uno de estos patrones está relacionado con el papel que el Istmo de Tehuantepec (IT) ha jugado en los patrones de diferenciación de diversas especies de tierras bajas de México y Centroamérica. Diferenciación genética y morfológica entre poblaciones separadas por el IT ha sido reportada en anfibios (Mulcahy *et al.* 2006; Rovito *et al.* 2012), reptiles (Wuester *et al.* 2005), mamíferos (Guevara-Chumacero *et al.* 2010) y aves (Howell y Webb 1995; Vázquez-Miranda *et al.* 2009; González *et al.* 2011; Arbeláez-Cortes y Navarro-Sigüenza 2013). Estudios utilizando comparaciones de modelos de nicho ambiental han reportado una significativa diferenciación del nicho ambiental entre especies hermanas separadas por el IT (Warren *et al.* 2008). Dos patrones de diferenciación principales han sido asociados con el IT: un patrón disruptivo, en el que las poblaciones al oeste del istmo en la vertiente del Golfo y del Pacífico están ampliamente relacionadas entre sí y a su vez están diferenciadas de las poblaciones al este de dicha barrera; y un patrón en el que el IT separa a las poblaciones de las selvas bajas del oeste de aquellas poblaciones que habitan en el Golfo de México, Península de Yucatán y/o Centroamérica (Ornelas *et al.* 2013).

Taxón de estudio

El cuco ardilla (*Piaya cayana*) es un complejo ampliamente distribuido en el Neotrópico cuya área de distribución se extiende de manera casi continua desde el noroeste de México hasta el norte de Argentina (Fig. 1), ocupando un gran número de hábitats que incluyen desde bosques húmedos, semihúmedos y deciduos, hasta crecimientos secundarios, plantaciones, manglares, bosques de galería e incluso árboles dispersos en campo abierto (Howell y Webb 1995; Payne 1997; Payne 2005). Es de hábitos arbóreos, se le observa generalmente saltando rápidamente entre las ramas y prefiriendo el planeo al vuelo sostenido para trasladarse de un árbol a otro. Es un cuco relativamente grande que mide entre 40 y 50 cm

de longitud, de los cuales más de la mitad pueden ser representados por la longitud de su cola. La coloración de las partes superiores es color canela rojizo, la cabeza, garganta y parte superior del pecho también de color rojizo. Las partes inferiores son de color gris desde la parte inferior del pecho hasta las cobertoras inferiores de la cola, ésta última muy larga y



Figura 1. Distribución de *Piaya cayana* en el Neotrópico. Tomado de NatureServe 2007.

→
graduada, con plumas de color rojizo por arriba con la punta blanca y una banda subterminal negra, por debajo la coloración es variable llegando a ser de color canela rojizo hasta negro, siempre con puntas blancas (Howell y Webb 1995; Payne 2005). Los ojos son rojos y están rodeados por piel desnuda de color rojo en las poblaciones al este de los Andes y de color amarillo verdoso en las poblaciones al oeste de los Andes; en algunos individuos de estas poblaciones el color de esta piel puede tornarse color azul claro. No se reconoce dimorfismo sexual en la coloración del plumaje.

Esta es una especie politípica, con 14 subespecies actualmente reconocidas, las cuales han sido descritas con base en diferencias en tamaño corporal, coloración del plumaje y color del anillo ocular (Sharpe 1900; Ridgway 1916; Peters 1940). Dos de estas subespecies se distribuyen en el trópico mexicano: la subespecie *P. c. mexicana* es endémica de México, habitando en las tierras bajas de la Vertiente del Pacífico, desde el sur de Sonora hasta la Cuenca del Balsas y el Istmo de Tehuantepec. Por otro lado, la subespecie *P. c. thermophila* se distribuye en la Vertiente del Golfo de México, desde el sur de Tamaulipas hacia el este a la Península de Yucatán hasta Panamá (Fig. 2). Las dos subespecies presentan una marcada diferenciación fenotípica: *P. c. mexicana* presenta en general una coloración canela más clara, mayor longitud de la cola y la cara inferior de la misma color rufo, mientras que *P. c. thermophila* presenta una coloración más oscura, con la cara inferior de la cola color negro (Peters 1940; Howell y Webb 1995; Payne 2005) (Fig. 3).

A pesar de que las dos formas que habitan en México aparentemente mantienen contacto en una pequeña zona de la Vertiente del Pacífico en el Istmo de Tehuantepec (Binford 1989), los casos de intergradación apenas se conocen, esto sumado a la diferenciación en el plumaje ha puesto en duda el estatus subespecífico de estas dos formas. El estatus taxonómico de las subespecies de *P. cayana* ha sido motivo de debate durante largo tiempo. Aunque algunas subespecies fueron originalmente consideradas como especies separadas, como *P. c. mexicana* denominada *P. mexicana* originalmente (Sharpe 1900), estas fueron posteriormente agrupadas dentro del complejo *P. cayana* (Stone 1908). Ridgway (1916) basado en sus observaciones sobre ejemplares de museo, cuestionó el agrupamiento de las subespecies *P. c. thermophila* y *P. c. mexicana* argumentando que: "...es imposible que sean conespecíficas.... ya que ambas se encuentran juntas en Oaxaca.....y no hay mínimas señales de intergradación". Más de 70 años después, Binford reportó algunos ejemplares

que podrían representar individuos intermedios entre las dos subespecies en las localidades de Tehuantepec y Tapanatepec, en el estado de Oaxaca; sin embargo, la descripción y el criterio para considerarlos como intermedios no está claro (Binford 1989).

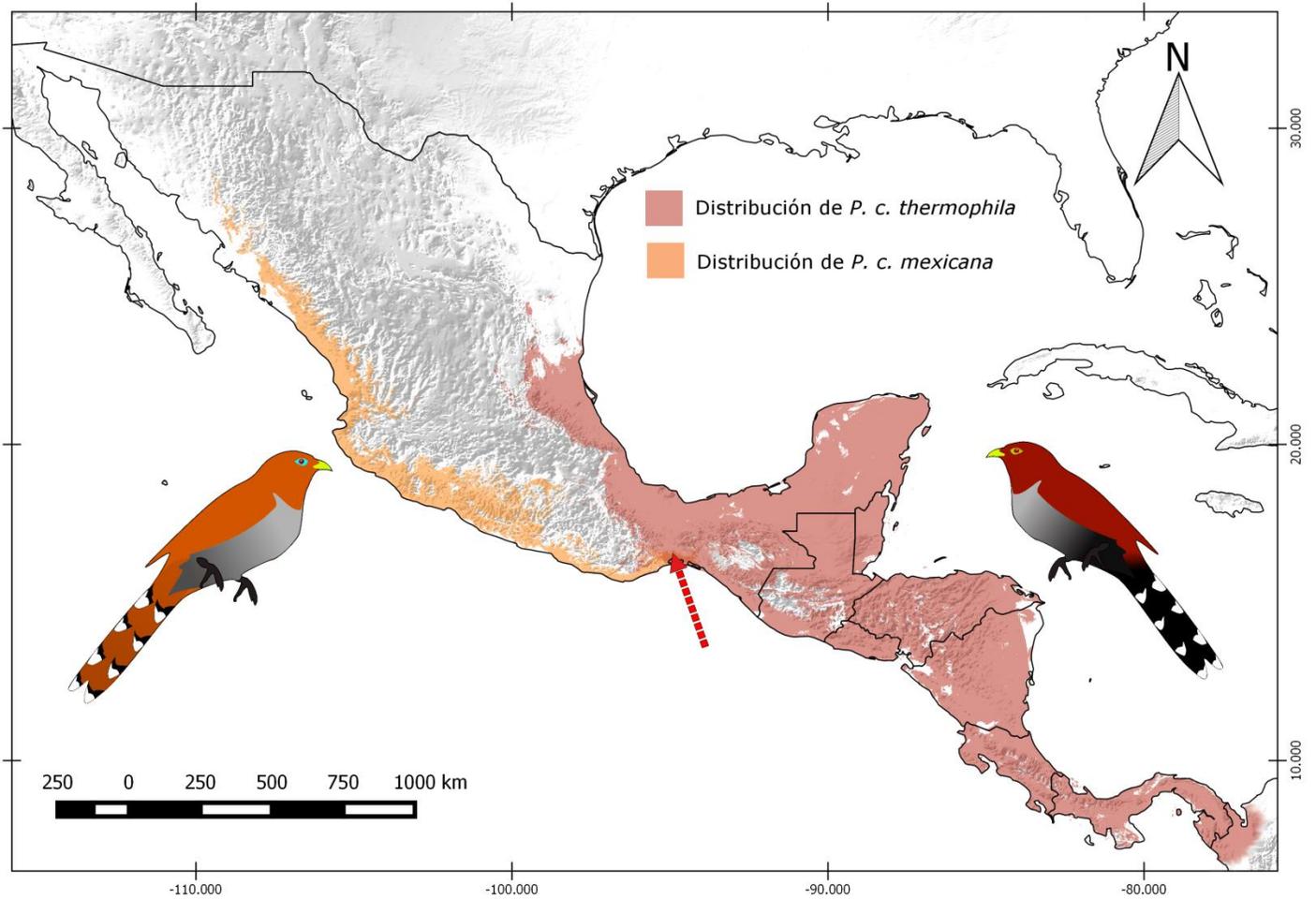


Figura 2. Distribución potencial de las formas de *Piaya cayana* en México y Centroamérica. La flecha señala la zona de intergradación reportada por Binford (1989). Las zonas grises denotan elevaciones por encima de los 900 m sobre el nivel del mar.



Figura 3. Comparación entre *Piaya cayana thermophila* (izquierda) y *Piaya cayana mexicana* (derecha), nótese la diferencia entre el tamaño y patrón de coloración de la cola, así como la coloración más oscura de *P. c. thermophila*.

Binford (1989) señaló que el cambio fenotípico abrupto y la rareza de la intergradación, sugieren que estas dos formas representan especies separadas. Navarro-Sigüenza y Peterson (2004), retomando las observaciones de Binford y la marcada diferenciación fenotípica, también consideraron que las poblaciones de *P. cayana* en México representan dos especies diferentes bajo su clasificación basada en una combinación de los conceptos filogenético y evolutivo de especie. Actualmente la American Ornithologists' Union (AOU 1998) aún considera a *P. cayana* como una sola especie de amplia distribución, mientras que del Hoyo *et al.* (2017) y Gill y Donsker (2017), basados en las diferencias fenotípicas y la distribución, consideran a la subespecie *P. c. mexicana* como una especie diferente, separando al complejo en las especies *Piaya cayana* y *Piaya mexicana*.

El debate taxonómico de este complejo no ha sido abordado desde la perspectiva genética, la única referencia a nivel molecular es el estudio de filogeografía comparada de Smith *et al.* (2014), enfocado en describir los patrones de diferenciación genética en especies de amplia distribución en el Neotrópico, el cual a partir de secuencias del gen mitocondrial citocromo B de muestras de Sudamérica y Centroamérica, sugiere que el complejo *P. cayana* está constituido por al menos cuatro linajes distintos. Sin embargo, el estudio no hace sugerencias taxonómicas relacionadas con los patrones de diferenciación, además de que solo cuenta con dos muestras de México, específicamente del estado de Campeche (grupo *thermophila*), careciendo totalmente de muestras del oeste de México, por lo que los patrones de diferenciación genética de esta especie en territorio mexicano permanecen desconocidos.

Bajo un enfoque integrativo, en el presente trabajo se utilizaron análisis filogenéticos, filogeográficos, así como análisis morfológicos y de similitud de nicho, para describir las relaciones evolutivas y los patrones de diferenciación genética, morfológica y ecológica de *P. cayana* en México, para así arrojar luz sobre el estatus taxonómico de esta especie y sugerir los probables escenarios biogeográficos responsables de dicha diferenciación.

OBJETIVOS

Objetivo general

Analizar los patrones de diferenciación genética, morfológica y ecológica entre las poblaciones de *Piaya cayana* en México.

Objetivos particulares

- Estimar la diversidad genética y reconstruir las relaciones genealógicas entre las distintas poblaciones con base en caracteres moleculares.
- Evaluar la variación fenotípica de las poblaciones con base en caracteres morfométricos.
- Evaluar la diferenciación ecológica de las poblaciones utilizando modelos de nicho ecológico.
- Proponer posibles escenarios biogeográficos de diversificación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de muestras

Se utilizaron ejemplares colectados en distintas localidades del área de distribución de las dos formas en México, a partir del trabajo de campo realizado desde 2013 a 2015, así como ejemplares y muestras de tejido depositadas en la colección de aves del Museo de Zoología de la Facultad de Ciencias (MZFC), y otras producto de préstamos de las colecciones del Biodiversity Institute de la Universidad de Kansas y de la Academy of Natural Sciences of Philadelphia. También se utilizaron secuencias depositadas en GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>).

Procedimientos de Laboratorio

Para la extracción y purificación del DNA genómico total se utilizó el kit DNeasy de Quiagen (Quiagen, Valencia, California), siguiendo los protocolos establecidos por el fabricante. Posteriormente se realizó la amplificación y secuenciación de un total de 1 663 pares de bases (pb) de DNA mitocondrial que corresponden a las 1 041 pb del gen completo de NADH deshidrogenasa subunidad II (ND2) y a un fragmento de 622 pb del gen citocromo B (Cytb). Estos genes han mostrado ser ampliamente informativos debido a sus altas tasas de mutación, especialmente en la tercera posición de codón, por lo que han sido ampliamente usados en filogenia de aves (Johnson y Sorenson 1998; Omland *et al.* 1999; Boonseub *et al.* 2009). Debido al tamaño del gen ND2, su amplificación se realizó en dos partes empleando primers internos; los primers L5215 (Hackett 1996) y H5766 (Sorenson 1999) se usaron para la parte inicial, mientras que L5758 (Johnson y Sorenson 1998), 487L (Sánchez-González y Moyle 2011) y H6313 (Johnson y Sorenson 1998) fueron utilizados para la parte final. Por otro lado los primers L14996 y H15646 (Sorenson 1999) se emplearon en la amplificación del fragmento de Cytb.

Para la amplificación de ambos genes mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), se utilizó un protocolo touchdown (Korbie y Mattick 2008) que consistió de una desnaturalización inicial a 94°C por dos y medio minutos, seguido de 5 ciclos de: 95°C por medio minuto, 57°C por medio minuto y 72°C por un minuto; 5 ciclos de: 95°C por medio minuto, 55°C por medio minuto y 72°C por un minuto; 15 ciclos de: 95°C por medio minuto, 51°C por medio minuto y 72°C por un minuto; 20 ciclos de: 95°C por medio minuto, 57°C por

medio minuto y 72°C por un minuto, con una extensión final de 72°C por siete minutos utilizando un termociclador GeneAmp PCR System9700 (Applied Biosystems). Los productos de PCR fueron visualizados en geles de agarosa al 1% para confirmar la amplificación, el tamaño del fragmento y la posible presencia de bandas de amplificación no específicas, las cuales pueden ser causadas por múltiples factores como el uso de temperaturas muy bajas y/o tiempos demasiado largos en el protocolo de amplificación, contaminación, concentraciones erróneas de los reactivos y/o falta de especificidad de los primers. Los productos de PCR fueron enviados al High-Throughput Genomics Unit de la Universidad de Washington, Seattle, EUA (<http://www.htseq.org/index.html>) para su purificación y secuenciación.

Los cromatogramas de las secuencias obtenidas fueron revisados, editados y ensamblados a ojo utilizando Geneious v7.0 (<http://www.geneious.com/>), empleando como referencia secuencias de *P. cayana* depositadas en GenBank. Debido a la falta de secuencias completas publicadas de ND2 para esta especie, se utilizó la secuencia de *Coccyzus erythrophthalmus* (No. acceso: AY274062) como modelo, siendo esta la secuencia del taxón filogenéticamente más cercano con la que se contaba de acuerdo con la filogenia de los cuculiformes de Sorenson y Payne (2005). Asimismo, el alineamiento se realizó en Geneious mediante el algoritmo MUSCLE (Edgar 2004). En caso de encontrar sitios heterocigotos (picos dobles en el mismo sitio), estos fueron etiquetados con los códigos de ambigüedad correspondientes establecidos por la IUPAC (Cornish-Bowden 1985).

Análisis filogenéticos

Para determinar las relaciones filogenéticas, se analizaron las secuencias concatenadas de los genes ND2 y Cytb mediante el método de máxima verosimilitud (*maximum likelihood*: ML) en el software RAXML v7.0.3 (Stamatakis 2006) y mediante inferencia bayesiana (*bayesian inference*: BI) con el software MrBayes v3.2.2 (Ronquist y Huelsenbeck 2003). Los modelos de sustitución y esquemas de partición más adecuados para los datos, se determinaron empleando el software PartitionFinder v1.1.1 (Lanfear *et al.* 2012), utilizando el criterio de información bayesiano (BIC), el cual ha demostrado mayor precisión sobre otros criterios de selección de modelos (Luo *et al.* 2010). Debido a que los diversos software filogenéticos implementan una variedad diferente de modelos de sustitución para su funcionamiento (por

ejemplo RAXML solo trabaja con el modelo GTR), este análisis se realizó tres veces, para determinar los modelos y esquemas de partición más adecuados para trabajar en RAXML, MrBayes y en BEAST v1.8 (Drummond *et al.* 2012), el cual fue empleado posteriormente en la estimación de tiempos de divergencia. Los modelos y esquemas de partición usados en cada software se muestran en el cuadro 1.

En el análisis de máxima verosimilitud, el soporte de cada nodo fue evaluado mediante 1×10^4 réplicas de bootstrap no paramétrico. El análisis bayesiano se corrió con cuatro cadenas durante 10×10^6 generaciones, con una temperatura de 0.2, y un muestreo cada 1000 generaciones. Después de verificar la convergencia y la estacionalidad de las cadenas con el software Tracer v1.6 (Rambaut *et al.* 2014), se aplicó un burn-in del 30% y se obtuvo el árbol de consenso del 50% a partir de los árboles restantes. Los grupos externos utilizados en ambos análisis fueron: *Piaya melanogaster*, *Coccyzus minor*, *C. erythrophthalmus*, *C. americanus* y *Coccyua minuta*. La elección de estos taxones se basó en la filogenia molecular de los Cuculiformes de Sorenson y Payne (2005).

Cuadro 1. Modelos de sustitución y particiones usados en cada software de análisis filogenéticos.

Modelo	Subset de Particiones	Software
GTR+I+G	ND2_pos1, CytB_pos1	RAXML
GTR+G	ND2_pos2, CytB_pos2	
GTR+I+G	ND2_pos3, CytB_pos3	
HKY+I	ND2_pos1, CytB_pos1	MrBayes
HKY	ND2_pos2, CytB_pos2	
HKY+I	ND2_pos3, CytB_pos3	
HKY+G	ND2_pos1, CytB_pos1	BEAST
HKY+I+G	ND2_pos2, CytB_pos2	
HKY+G	ND2_pos3, CytB_pos3	

Estimación de tiempos de divergencia

Como sucede en un gran número de grupos y especialmente en aves, en la actualidad no se cuenta con datos de fósiles dentro del Orden Cuculiformes que puedan funcionar como

puntos de calibración para calcular los tiempos de divergencia para este conjunto de datos. A su vez, los datos analizados carecían de taxones cuya divergencia pudiera ser asociada directamente con eventos biogeográficos, como la formación de islas, montañas y/o puentes terrestres, los cuales han sido usados junto con los fósiles como puntos de calibración en la estimación de tiempos de divergencia y tasas de sustitución en aves (Ho 2007; Weir y Schluter 2008).

Aunado a la falta de puntos de calibración, existe poca información acerca de las tasas de mutación y reloj molecular para el orden Cuculiformes. La tasa de mutación para CytB en Cuculiformes calculada por Weir y Schluter (2008) es dudosa, debido a que: I) el punto de calibración biogeográfico usado corresponde a la divergencia entre *Coccyzus melacoryphus* y *C. americanus*, el cual se estableció en 3.3 millones de años con base en la edad de las Islas Galápagos, donde habita *C. melacoryphus*. Sin embargo, la distribución de *C. melacoryphus* no está restringida a estas islas, presentando una amplia distribución en Sudamérica. Por lo tanto, es razonable pensar que la colonización de las Islas Galápagos por parte de *C. melacoryphus* (la cual pudo ocurrir mucho después de su formación) es un evento independiente de la divergencia entre los linajes de *C. melacoryphus* y *C. americanus*, invalidando este punto de calibración. II) La secuencia de Cytb utilizada tiene una longitud de sólo 432 pb de los 1 143 pb que mide en total este gen. La corta longitud de la secuencia usada puede ser fuente de sesgos en el cálculo de la tasa de sustitución, debido a que diferentes sitios en el mismo gen pueden presentar distintas tasas de sustitución. Este fenómeno parece ser causado principalmente por la variación de las restricciones selectivas en diferentes sitios, debido a los requisitos funcionales y/o estructurales del gen o proteína (Yang 1996).

Una aproximación común para lidiar con la falta de conocimiento específico sobre las tasas de sustitución, ha sido emplear la "tradicional" tasa de diferenciación del 2% (equivalente a una tasa de sustitución de 1% por millón de años) para genes mitocondriales en aves, la cual ha sido obtenida independientemente en diversos estudios moleculares en aves (Shields y Wilson 1987; Fleischer *et al.* 1998; Lovette 2004). Sin embargo, diversos estudios han demostrado que existe un amplio rango de variación en las tasas de mutación específicas de cada grupo debido a factores biológicos como el tamaño corporal, el tiempo generacional y la tasa metabólica (Martin y Palumbi 1993; Mooers y Harvey 1994; Nabholz *et al.* 2009). Por lo

anterior, usar esta tasa de divergencia sin análisis previos, puede conllevar un sesgo importante (Pereira y Baker 2006).

Considerando lo anterior, fue necesario añadir al alineamiento original secuencias de diversos miembros representantes del orden Cuculiformes, e implementar una calibración secundaria basada en diversos análisis filogenéticos independientes que involucran, de manera directa o indirecta, al grupo de los Cuculiformes. Utilizando secuencias de los genes ND2 y CytB de diferentes especies de Cuculiformes depositadas en GenBank, así como secuencias generadas para este proyecto, se construyó un alineamiento individual para cada gen, con los que posteriormente se obtuvieron los árboles filogenéticos correspondientes en el software RAXML v7.0.3 (soporte de nodos evaluado con 1000 réplicas de bootstrap no paramétrico). Considerando que los Otidiformes son el grupo hermano de los Cuculiformes de acuerdo a las filogenias moleculares recientes de las aves (Prum *et al.* 2015; Claramunt y Cracraft 2015), se empleó a *Eupodotis senegalensis* como grupo externo para los árboles de cada gen.

Posteriormente los árboles fueron usados para obtener una tasa de sustitución aproximada para cada gen mediante el software baseml, que forma parte del compendio de software filogenéticos PAML v4.9 (Yang 2007), el cual utiliza las longitudes de ramas de árboles construidos mediante métodos de máxima verosimilitud y un punto de calibración temporal para obtener una tasa de sustitución promedio. Como punto de calibración temporal se usó una datación aproximada del nodo representante del ancestro común más reciente (MRCA por sus siglas en inglés) del orden Cuculiformes, con una edad de 44 millones de años, basado en las estimaciones de las filogenias moleculares más recientes de la clase Aves (Prum *et al.* 2015; Claramunt y Cracraft 2015). Este análisis tuvo tres objetivos: determinar si los genes ND2 y CytB de Cuculiformes se ajustaban a la tradicional tasa de diferenciación del 2%, determinar si ambos genes tienen la misma tasa de evolución y finalmente obtener un valor aproximado de cada tasa para usarse como tasa de divergencia en los análisis posteriores.

La estimación de tiempos de divergencia requiere determinar si los datos se ajustan mejor a un modelo de reloj molecular estricto o relajado. El reloj molecular estricto asume una única tasa evolutiva entre las ramas de una filogenia, y es usado principalmente en análisis en los

que se esperan tasas con poca variación entre ramas, por ejemplo a nivel intraespecífico. Como se mencionó anteriormente, diversos factores biológicos como el tiempo generacional, crean variación en las tasas de evolución entre linajes, por lo que el supuesto de una tasa homogénea del reloj estricto es frecuentemente violado. Tomando en cuenta esta variación, los modelos de reloj relajado asumen una tasa constante a lo largo de cada rama, pero permiten que la tasa varíe entre cada rama específica (Ronquist *et al.* 2011; Ho y Duchêne 2014).

Para determinar el mejor modelo para el set de datos de Cuculiformes, se utilizó el software MrBayes v3.2.2 (Ronquist y Huelsenbeck 2003), utilizando el algoritmo “*stepping-stone*”, un método de gran precisión en la selección de modelos filogenéticos (Xie *et al.* 2011). Este método estima el “*marginal likelihood*”, que es una medida del ajuste promedio de un modelo a un set de datos determinado, basado en muestras de las distribuciones de los *prior* (modelo sin referencia a los datos), las distribuciones posteriores (modelo después de tomar en cuenta los datos) y distribuciones entre ellas (Ronquist *et al.* 2011; Xie *et al.* 2011). Los análisis “*stepping-stone*” para cada modelo de reloj consistieron en 50 repeticiones de 1×10^6 generaciones. Para ambos modelos de reloj molecular se empleó un *prior* de reloj uniforme sobre la longitud de ramas (brlenspr = clock:uniform). Se aplicó un *prior* de la tasa de variación para forzar el reloj estricto (clockvarpr = strict) y otro para establecer un modelo de reloj relajado con tasas gamma independientes (clockvarpr = IGR), que es el modelo de reloj relajado más complejo que implementa MrBayes v3.2.2 (Ronquist y Huelsenbeck 2003). Para ambos análisis fue necesario implementar una restricción topológica para asegurar la monofilia de Cuculiformes, y que los árboles tuvieran siempre el mismo grupo externo (*E. senegalensis*), evitando inconsistencias en la comparación.

Se llevó a cabo un análisis en PartitionFinder para determinar los modelos de evolución de mejor ajuste para el set de Cuculiformes (cuadro 1). Finalmente, mediante el software BEAST v1.8 (Drummond *et al.* 2012) se estimaron los tiempos de divergencia usando como *prior* de las tasas de sustitución los resultados del análisis en BaseML, los cuales fueron de 1% por millón de años para el gen ND2 y de 0.5% por millón de años para CytB. A pesar de que el análisis de particiones sugirió usar los datos concatenados y un modelo para cada posición de codón, se decidió tratar a los genes por separado debido a que cada gen presentó una tasa de sustitución diferente.

Los puntos de calibración utilizados fueron: el tiempo al MRCA de todos los Cuculiformes, con un *prior* de distribución normal con una media de 44 millones de años (Ma) y desviación estándar de 2 (44 ± 2 Ma; Prum *et al.* 2015); el punto de divergencia entre *Geococcyx* y *Neomorphus* con un *prior* de distribución normal de media 7.8 millones de años y desviación estándar de 1 (Smith y Klicka 2010), y finalmente el punto de divergencia entre *Cuculus poliocephalus* y los demás miembros del género *Cuculus*, con un *prior* de distribución normal de media 4.5 millones de años y desviación estándar de 1 (Fossøy *et al.* 2016).

Por otro lado, el análisis stepping-stone en MrBayes sugirió el reloj relajado como mejor modelo para los datos, por lo tanto, para permitir una tasa de sustitución independientes en cada rama se estableció un modelo de reloj relajado log-normal no correlacionado y el proceso birth-death como *prior* del árbol (Drummond *et al.* 2012; Li y Drummond 2012). Se efectuaron dos corridas independientes de 50×10^6 generaciones cada una, verificando la convergencia, la estacionalidad de las cadenas y el tamaño de muestra efectivo (ESS) mediante el software Tracer v1.6 (Rambaut *et al.* 2014). Con base en estos resultados se decidió aplicar un “burn-in” del 25%. Los árboles fechados resultantes de estas corridas independientes fueron combinados mediante el programa LogCombiner v1.8 (Drummond *et al.* 2012) y posteriormente fueron usados para generar un árbol de máxima credibilidad de clado mediante TreeAnnotator v1.8 (Drummond *et al.* 2012).

Análisis de genética de poblaciones

Redes de haplotipos

Los haplotipos (variaciones de uno o varios loci) descendientes pueden coexistir junto con haplotipos ancestrales en una misma población, generando relaciones reticuladas entre ellos que no pueden ser visualizadas mediante los tradicionales árboles bifurcados. Las redes de haplotipos, a diferencia de los árboles bifurcados, representan mejor estas relaciones intraespecíficas al permitir que los haplotipos puedan estar conectados a más de un haplotipo a la vez (multifurcaciones), de modo que las conexiones visualizadas pueden interpretarse como las relaciones genealógicas entre los haplotipos (Posada y Crandall 2001). Para visualizar las relaciones genealógicas entre los haplotipos del grupo de estudio, se construyeron redes basadas en el algoritmo de parsimonia estadística mediante PopArt

v1.7 (Leigh y Bryant 2015). Se construyeron tres redes diferentes, una para cada gen y otra para la matriz de datos concatenados.

Estructura poblacional e historia demográfica

Las secuencias concatenadas de *P. cayana* fueron agrupados considerando los clados obtenidos en los análisis filogenéticos (ver Resultados). Como medidas de la diversidad genética de cada grupo fueron calculados el número de haplotipos (h), la diversidad nucleotídica (π) y la diversidad haplotípica (H_d) utilizando el programa DNAsp v.5.1 (Librado y Rozas 2009). La diversidad nucleotídica es una medida del promedio de sitios nucleotídicos diferentes entre cada pareja de secuencias comparadas en una muestra, mientras que la diversidad haplotípica es la probabilidad de que dos secuencias tomadas al azar sean diferentes en una muestra dada (Nei 1987).

Como medidas de la diferenciación genética entre grupos se calcularon el número neto de sustituciones por sitio (D_a) y el número promedio de sustituciones por sitio (D_{xy}) (Nei 1987). También se calculó el índice de fijación F_{st} como medida de la cantidad de variación genética que puede ser explicada por la estructuración de la población (Weir y Cockerham 1984). Los valores de este índice varían desde 0 a 1, donde 0 indica falta de estructuración en la población ya que los grupos se reproducen libremente entre sí (panmixia), y un valor de 1 indica que toda la variación genética observada es explicada por la estructuración de la población (Hamilton 2009).

Se considera que la diferenciación entre poblaciones es alta cuando los valores de F_{st} son superiores a 0.25 (Hartl y Clark 1997). Como medida del flujo génico, es posible estimar el número de migrantes por generación (N_m) a partir de F_{st} (Slatkin 1987), los valores de N_m están inversamente relacionados a los valores de F_{st} , por lo que ha mayor grado de estructuración en las poblaciones, menor será la estimación del número de migrantes en cada generación. Sin embargo, esta relación no es lineal y el valor de N_m decrece rápidamente conforme el valor de F_{st} aumenta (Hartl y Clark 1997). Debido a esta relación se considera un bajo flujo génico entre poblaciones cuando $N_m < 1$ y flujo alto cuando $N_m > 1$ (Slatkin 1987). Tanto F_{st} como N_m fueron calculados en DNAsp v.5.1 (Librado y Rozas 2009).

Para detectar si los grupos analizados han experimentado cambios demográficos, se calculó el estadístico D de Tajima, que evalúa si una población está en un equilibrio neutro de mutación-deriva (Tajima 1989). Adicionalmente se calculó la F de Fu, que al igual que la D de Tajima evalúa desviaciones de un modelo de población en equilibrio; sin embargo, se ha sugerido que este estadístico es más sensible a las expansiones poblacionales que la D de Tajima (Fu 1997). La significancia de estas pruebas se evaluó con 1000 simulaciones de coalescencia en DNAsp v.5.1 (Librado y Rozas 2009).

Además para indagar en la historia poblacional de cada grupo se construyeron distribuciones mismatch (Rogers y Harpending 1992), este análisis grafica en un histograma la distribución de las diferencias pareadas entre sitios nucleotídicos y lo compara con una distribución de diferencias pareadas bajo un modelo de crecimiento poblacional. En poblaciones que han pasado por una expansión reciente, generalmente produce distribuciones unimodales, mientras que distribuciones multimodales están asociadas a poblaciones con tamaño estable o que están declinando. La significancia de este análisis se evaluó con la R2 de Ramos-Onsins y Rozas, considerada la más adecuada para muestras pequeñas (Ramos-Onsins y Rozas 2002), a su vez la significancia de esta prueba se evaluó con 1000 simulaciones de coalescencia en DNAsp v.5.1 (Librado y Rozas 2009).

Análisis morfológicos

Se utilizaron ejemplares depositados en la colección de aves del MZFC y en la Colección Nacional de Aves del Instituto de Biología, ambos en la UNAM. Para este análisis se contó con 115 ejemplares de las dos formas que habitan en México y fueron agrupados con base en los clados obtenidos en los análisis filogenéticos.

Se midieron las siguientes variables: longitud del pico (PICLONG), ancho del pico (PICANCH), profundidad del pico (PICPROF), cuerda alar (CUEALA), longitud del tarso (TARSO), longitud del hálux (HALUX), longitud de la cola (COLA) y longitud de las puntas blancas de la cola (TIPS). Estas variables fueron elegidas debido a que biológicamente, están relacionadas con adaptaciones al uso del hábitat, forrajeo y comunicación (Miles y Ricklefs 1984; Payne 1997; Jønsson *et al.* 2015), además de ser consideradas como buenos indicadores del tamaño corporal y menos susceptibles a deformaciones del proceso de

taxidermia (Zink y Remsen 1986). Se utilizó un vernier Mitutoyo modelo CD-6" C con precisión de 0.01 mm para todas las medidas, excepto para la cuerda alar en la que se utilizó una regla con tope a cero, de precisión 1 mm, y para la longitud de la cola en la que se empleó una regla de 50 cm con precisión 1 mm. Para minimizar el error se entrenó con una serie de 10 ejemplares durante tres sesiones en días consecutivos y se calculó una correlación producto momento de Pearson entre las sesiones; el proceso fue repetido hasta que las correlaciones de todas las variables obtuvieron valores positivos significativos (Benítez-Díaz 1993). Para evitar el posible sesgo en el tamaño producido por la edad (Yezerinac *et al.* 1992), no se midieron ejemplares juveniles, los cuales fueron identificados considerando la osificación craneal, presencia de bursa y la presencia de comisuras amarillas en el pico; aquellos que representaban casos dudosos se excluyeron de los análisis.

Para determinar si existían diferencias significativas en las variables entre machos y hembras se hicieron pruebas de T entre los sexos de ambos grupos (Holmes 1986). Ya que este análisis encontró diferencias entre sexos y el número de hembras era paqueño, se decidió trabajar únicamente con los machos en los análisis posteriores, quedando en 65 el número total de individuos, mismos que fueron comparados entre las dos poblaciones mediante gráficos de caja y aplicando una prueba de U de Mann-Whitney (Fay y Proschan 2010), la cual es una prueba no paramétrica para comparar entre dos muestras independientes y que ha sido recomendada para muestras pequeñas (Hernández 2014) y cuando existen valores atípicos, como los revelados por los gráficos de caja (ver resultados), tanto los gráficos de caja como la prueba U de Mann-Whitney se realizaron en la plataforma R (R Development Core Team 2013).

Se aplicó un análisis de componentes principales (PCA) para establecer el patrón de variación morfológica entre las poblaciones e identificar las variables que determinan la formación de grupos dentro del espacio multivariado (Benítez-Díaz 1993; Rojas-Soto 2003; Engel 2014). Para determinar si los datos cumplían con los supuestos de normalidad necesarios para el análisis de PCA se realizaron pruebas de normalidad para cada variable en cada población usando la prueba de Shapiro–Wilk (Shapiro y Wilk 1965), recomendado para muestras pequeñas ($n < 50$). Estas pruebas revelaron falta de normalidad en todas las

variables, por lo que estas fueron transformadas a log10 para minimizar los efectos de las desviaciones de normalidad (Mosimann y James 1979).

Se hicieron análisis de correlación de producto momento de Pearson entre las variables para identificar y descartar aquellas que proporcionaban información redundante (Zink y Remsen 1986; Rising y Somers 1989). Debido a que ningún par de variables mostró valores de correlación significativos (>0.75), todas las variables se usaron para construir el PCA. Ya que para algunos ejemplares no fue posible obtener las medidas de todas las variables debido a daños por el método de colecta, por el proceso de taxidermia o porque el ejemplar presentaba heridas o falta de plumas antes de ser colectado, se implementó un PCA probabilístico (PPCA), el cual permite analizar matrices con datos faltantes (Stacklies *et al.* 2007). Todos los análisis previamente señalados se hicieron con el software R (R Development Core Team 2013), empleando la paquetería básica incluida, con excepción del análisis de PCA, para el cual se utilizó el paquete "pcaMethods" (Stacklies *et al.* 2007).

Análisis de similitud de nicho ecológico

Para la evaluación de la similitud de nichos, se recopilaron los registros puntuales procedentes de los datos del "Atlas de las Aves de México" (Navarro *et al.* 2003) y del proyecto "Mapas de distribución de las aves terrestres nativas de Mesoamérica" (Navarro, en prep). El área de estudio fue Mesoamérica, considerando la distribución de subespecies propuesta por Peters (1940) y los resultados genéticos en este trabajo.

Habiendo obtenido los registros de cada uno de los grupos (*mexicana* y *thermophila*) se delimitó el área de accesibilidad o "M" *sensu* Barve *et al.* (2011), a partir de un polígono producto de un buffer de 100 Km alrededor de cada registro, además de considerarse las ecorregiones terrestres de México del 2008 (INEGI, CONABIO e INE 2008) y las áreas de endemismo propuestas por Smith *et al.* (2014). Lo anterior se realizó con la ayuda del sistema de información geográfica Qgis 2.12.0 (www.qgis.org). Para caracterizar el espacio ecológico, se usaron los datos de las 19 variables bioclimáticas de WorldClim (Hijmans *et al.* 2005; <http://www.worldclim.org>) con una resolución espacial de 30" (~1km), las cuales en general representan tendencias anuales de estacionalidad y valores extremos de temperatura y precipitación del período 1950-2000.

El traslape de nicho fue analizado proyectando los registros de ambos grupos dentro de un espacio ambiental construido a partir de un análisis de componentes principales de las variables ambientales disponibles en el área de distribución de ambos grupos (PCA-env), siguiendo la metodología propuesta por Broennimann *et al.* (2012). Dicho espacio ambiental, es representado por los dos componentes principales más importantes, los cuales se asume capturan en conjunto la mayor varianza de las variables ambientales utilizadas. El espacio ambiental fue dividido en 100 x 100 celdas, en el que cada celda representa una combinación particular de condiciones ambientales disponibles en el área de estudio. Al proyectar los registros dentro del espacio ambiental, la densidad de registros en cada celda es denotada por el grado de luminosidad en ella, de modo que las celdas con mayor densidad de registros son más oscuras que aquellas de menor densidad. La densidad de algunas celdas pueden ser sobreestimada o subestimada debido errores provocados por un esfuerzo de muestreo heterogéneo, por lo que para compensar este problema es aplicada a cada conjunto de registros una función de densidad Kernel, la cual "suaviza" la curva de distribución de probabilidad de los datos y calcula una función de densidad para dicha distribución (Broennimann *et al.* 2012; Rodríguez-Ojeda 2014).

Como medida de similitud dentro del espacio ambiental, se calculó el métrico D de Schoener y se hicieron pruebas de equivalencia y similitud de nicho. El intervalo de valores del métrico D se encuentra entre 0 y 1, en el que 0 indica que no hay traslape, mientras que 1 representa un traslape total. La prueba de equivalencia permite determinar si los nichos de ambos grupos están estadísticamente bien diferenciados, mientras que la prueba de similitud considera la variación dentro del espacio ambiental analizado para determinar si el traslape de nicho observado es una probable consecuencia de las condiciones ambientales disponibles, o si es resultado de la selección activa de hábitat debido a la conservación o divergencia de nicho (Broennimann *et al.* 2012). La prueba de equivalencia aleatoriza la identidad de los registros de ambos grupos entre dos nuevos conjuntos con el mismo número de registros que los conjuntos originales, y se calcula el valor de D durante 100 repeticiones. Dichos valores simulados son usados para construir un modelo nulo con intervalos de confianza del 95% (Broennimann *et al.* 2012). Si el valor observado cae dentro de ese intervalo de confianza, la hipótesis nula de equivalencia de nicho es retenida, y es rechazada cuando el valor observado es menor. La prueba de similitud construye el modelo nulo

aleatorizando las coordenadas de los registros de un grupo dentro del área de estudio mientras las coordenadas del segundo grupo permanecen fijas, por lo que se hace en ambas direcciones. En este caso la hipótesis es rechazada si el valor observado es menor (divergencia) o mayor (conservadurismo) de lo esperado bajo el modelo nulo.

RESULTADOS

Secuencias y tamaño de muestra

Se obtuvieron un total de 43 secuencias de ND2 y 39 secuencias de CytB distribuidas en 26 localidades (Fig. 4; Anexo 1); el número de muestras en cada localidad varió entre una a cuatro. Se decidió utilizar solo aquellos individuos para los que se contaba con secuencias para ambos genes (Anexo 1) debido a que no fue posible amplificar los dos genes en todas las muestras. La distribución de las muestras utilizadas representa gran parte de la distribución de las poblaciones de *P. cayana* en México, además se contó con dos muestras de Centroamérica y siete en Sudamérica.

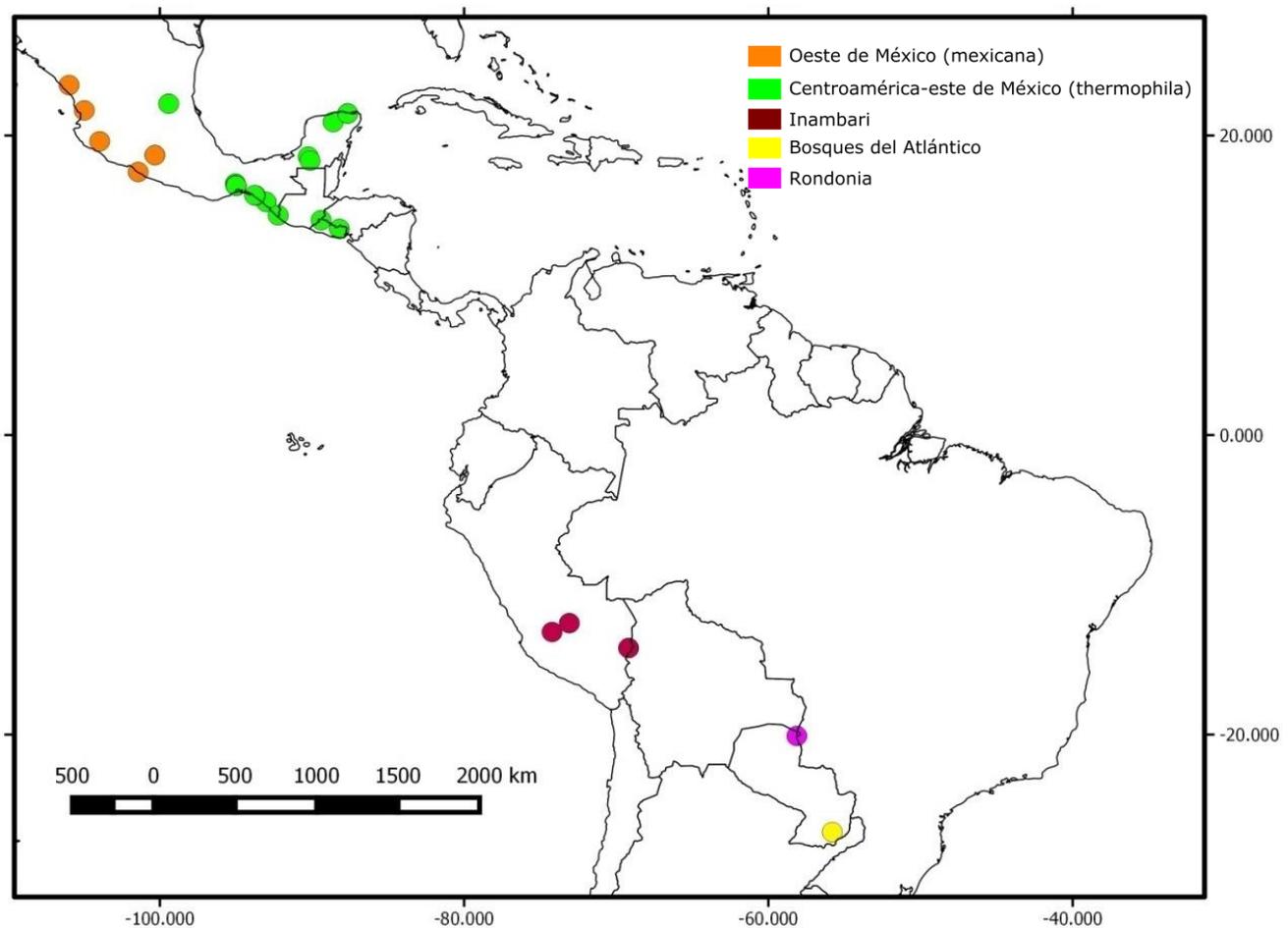


Figura 4. Distribución de las muestras utilizadas en los análisis genéticos.

Análisis filogenéticos

Los árboles obtenidos para el conjunto de secuencias concatenadas de ND2 y Cytb mediante los análisis de inferencia bayesiana y máxima verosimilitud mostraron topologías bastante similares, en las cuales se sustenta la monofilia de *P. cayana*. Tanto IB como ML recuperaron dos clados principales bien soportados, y con alta estructuración geográfica (Fig. 5). Las muestras del oeste de México (OM) y Centroamérica-este de México (CEM) mostraron ser recíprocamente monofiléticas, y concuerdan claramente con la distribución de las subespecies *P. c. mexicana* y *P. c. thermophila* en México (Peters 1940). En conjunto, estos clados forman un primer grupo (clado Mesoamérica) respecto al segundo grupo compuesto por las muestras sudamericanas (clado Sudamérica). El clado Sudamérica está representado por cinco muestras del sureste de Perú, una muestra del sur de Paraguay y una muestra del norte de Paraguay, que parecen corresponder con poblaciones en las áreas de endemismo del Inambari (IN), Bosques del Atlántico (BA) y Rondonia (RO), respectivamente (Smith *et al.* 2014).

Reloj molecular y tiempos de divergencia

Para el set de datos de secuencias concatenadas de Cuculiformes, los “*marginal log likelihoods*” del análisis *stepping-stone* mostraron considerable soporte en favor del modelo de reloj relajado (-14511.77) sobre el modelo de reloj estricto (-14516.36), considerando cinco unidades log una fuerte evidencia a favor del mejor modelo (Ronquist *et al.* 2011), por lo que se empleó el modelo de reloj relajado en los siguientes análisis. Los tiempos de divergencia estimados sugieren que la divergencia entre el clado de Sudamérica y el de Mesoamérica ocurrió en el Pleistoceno inferior hace aproximadamente 1.7 millones de años (intervalo 2.3–1.17 Ma 95% HPD) coincidiendo con los tiempos de divergencia estimados por Smith *et al.* (2014), entre los mismos clados de *P. cayana* mientras que la divergencia entre los grupos *mexicana* y *thermophila* ocurrió hace aproximadamente 1.24 Ma (1.79–0.78 Ma, 95% HPD) (Fig. 5).

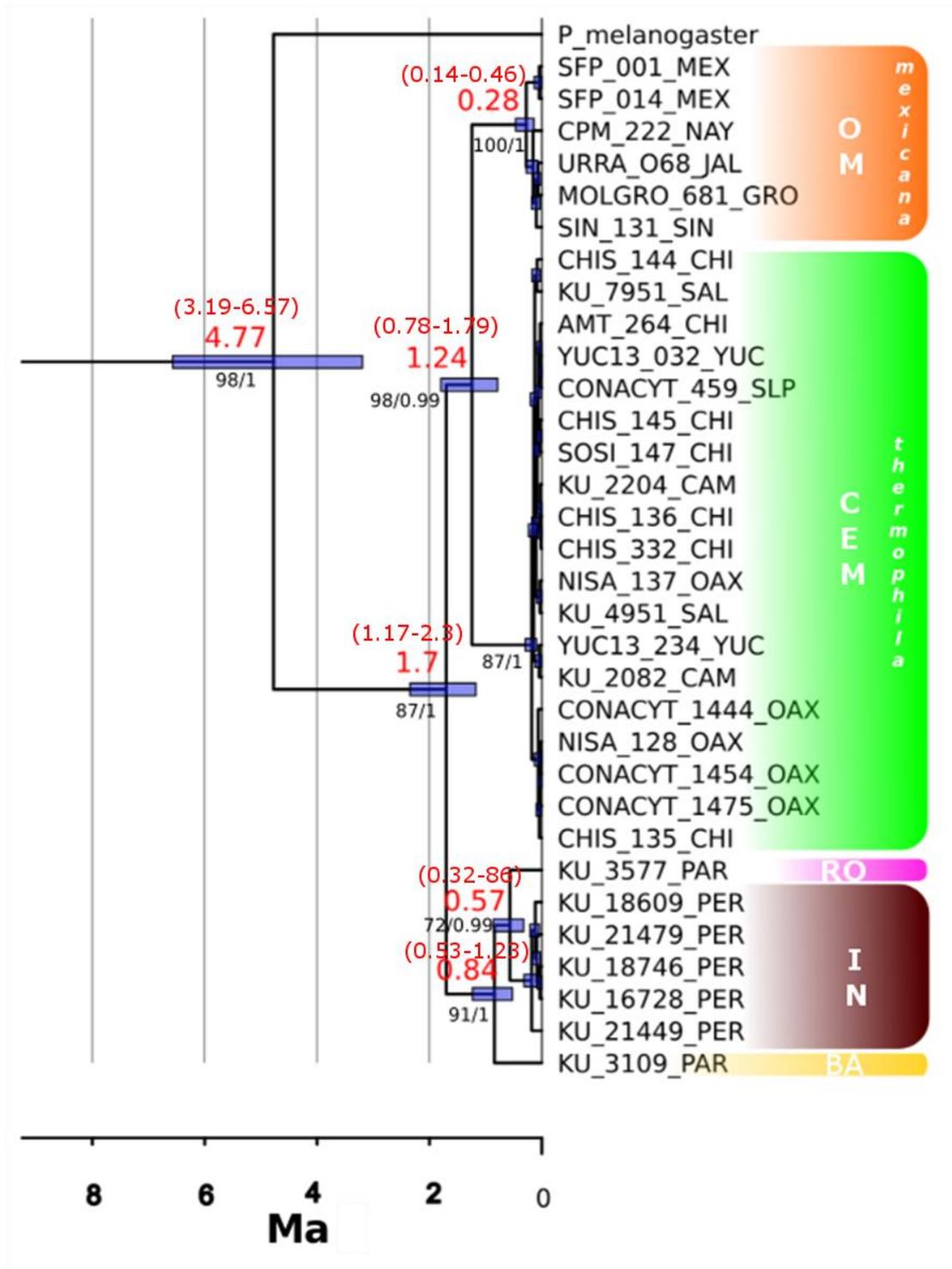


Figura 5. Filogenia mitocondrial y tiempos de divergencia estimados. Los números en negro indican los valores de bootstrap y probabilidad posteriores bayesianas respectivamente. Los números en rojo indican el valor de la media (intervalo entre paréntesis) y las barras azules son el 95% HDP del tiempo estimado de divergencia en millones de años.

Análisis de genética de poblaciones

Redes de haplotipos

Las redes de haplotipos (Figs. 6 y 7) mostraron una fuerte estructuración geográfica, recuperando los mismos grupos encontrados en los análisis filogenéticos. Un total de 23 haplotipos fueron detectados con los datos concatenados (ND2 + CytB), 16 con el ND2 y 19 con el CytB, sin detectarse haplotipos compartidos entre los grupos designados. Para realizar las conexiones, el algoritmo de parsimonia estadística se vio forzado a generar un gran número de haplotipos hipotéticos, consecuencia del error de muestreo (lo cual puede deberse al número de muestras limitado), o por la extinción de haplotipos ancestrales.

Las redes también reflejan la estrecha relación entre los grupos de Sudamérica, sin embargo difieren en las relaciones de los haplotipos de las muestras de las poblaciones de Rondonia (RO) y Bosques del Atlántico (BA) con respecto a las muestras del Inambari (IN), ya que en la red de ND2, las muestras de RO e IN forman un grupo conectado por un haplotipo hipotético al grupo BA, una topología similar a la obtenida en los resultados filogenéticos, mientras las redes de Cytb y de genes concatenados muestran a los haplotipos de RO y BA conectados a haplotipos del grupo IN, lo que sugiere que el grupo IN es ancestral respecto a RO y BA (Posada y Crandall 2001). El grupo Sudamérica se separa del grupo Mesoamérica por 32 pasos mutacionales. Tanto el grupo OM como el grupo CEM están separados por un mismo haplotipo hipotético por 17 pasos mutacionales. Por otro lado los grupos RO y BA se diferencian por 19 y 22 pasos mutacionales respectivamente, del grupo IN en la red de haplotipos concatenada.

El gran número de pasos mutacionales observado entre los grupos es similar (incluso superior) al observado en otras subespecies de cucúlidos cuyo grado de diferenciación genética las hace candidatas a elevar su estatus taxonómico al de especie (Engel 2014; Fossøy *et al.* 2016) Cabe resaltar el patrón en “estrella” que puede observarse en el grupo de Centroamérica-Este de México. Este patrón, en el que un haplotipo común ampliamente distribuido presenta múltiples haplotipos conectados a él por pocos pasos mutacionales (sugiriendo un periodo corto de tiempo para la aparición de nuevas mutaciones) está generalmente asociado a expansiones poblacionales recientes (Excoffier *et al.* 2009).

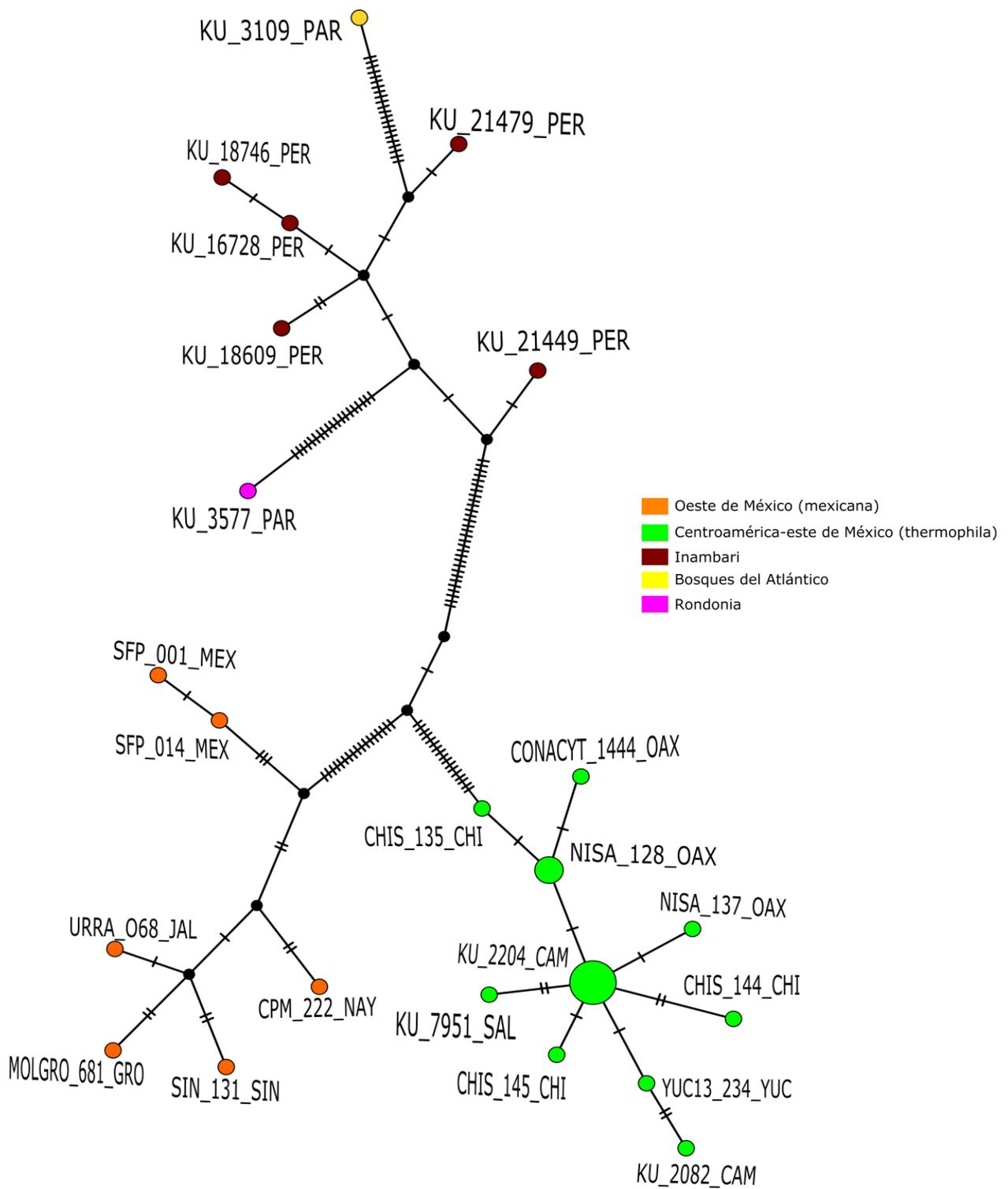


Figura 6. Red de haplotipos para las secuencias concatenadas. El tamaño de los círculos corresponde al número de individuos con ese haplotipo. Las pequeñas barras transversales representan pasos mutacionales mientras que los pequeños círculos negros representan haplotipos hipotéticos.

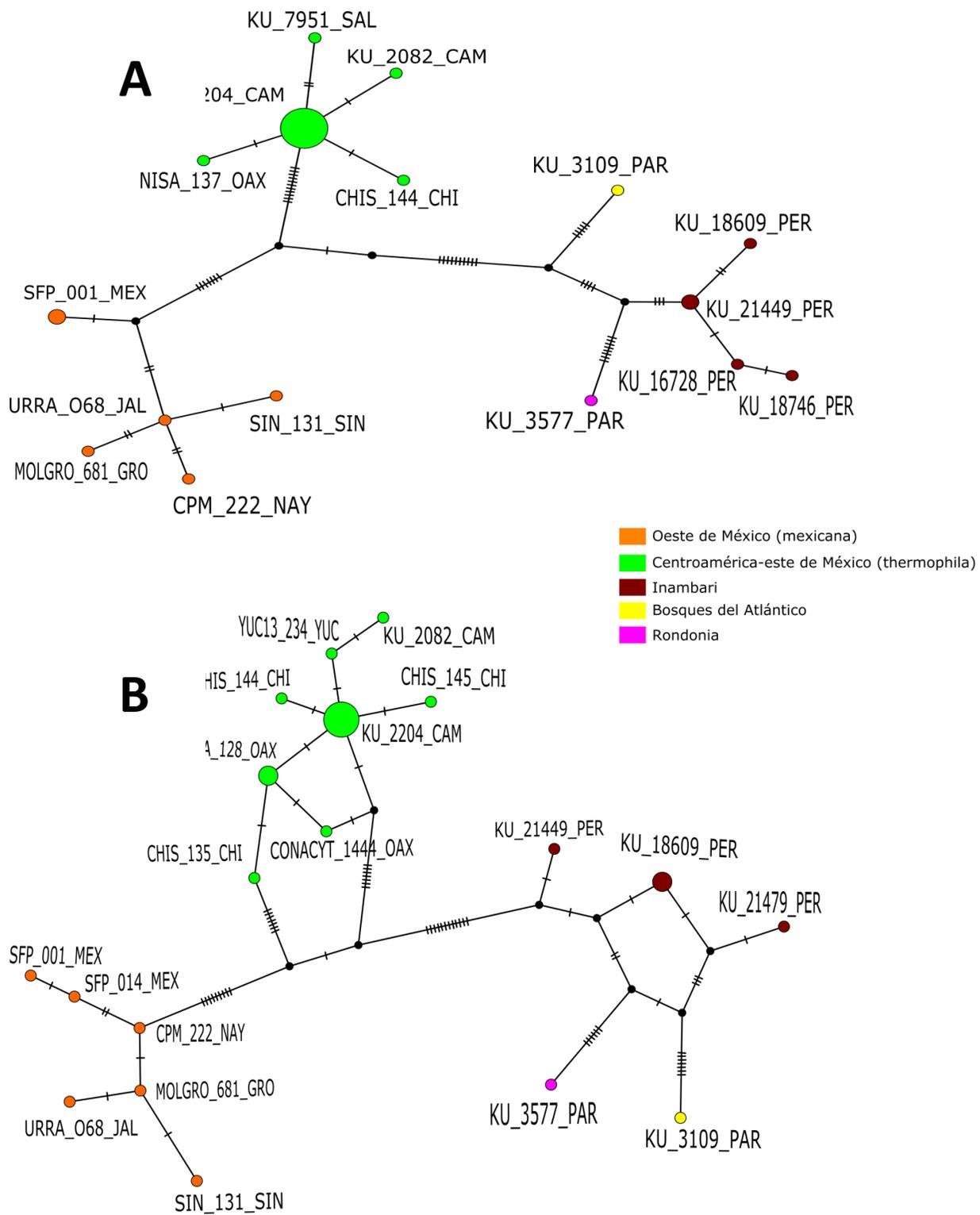


Figura 7. Redes de haplotipos para el gen ND2 (A) y Cytb (B). El tamaño de los círculos corresponde al número de individuos con ese haplotipo. Las pequeñas barras transversales representan pasos mutacionales mientras que los pequeños círculos negros representan haplotipos hipotéticos.

Estructura poblacional e historia demográfica

Los linajes Sudamericanos de Rondonia y Bosques del Atlántico fueron excluidos de los análisis de estructura poblacional debido al bajo número de muestras. En general los datos muestran una fuerte estructuración entre todas las poblaciones analizadas y una mayor diferenciación genética entre los grupos de Mesoamérica respecto al grupo de Sudamérica, reforzando los resultados obtenidos en los análisis filogenéticos. El grado de diferenciación genética (Cuadro 2) mostrada por los valores de Dxy (2.431-3.279) y Da (2.203-3.028) se encuentra dentro del rango de diferenciación en genes mitocondriales observado entre diversos pares de linajes de aves cuya divergencia se estima ocurrió en el Pleistoceno, siendo en algunos casos incluso más grandes que los valores reportados en comparaciones interespecíficas (Johnson y Cicero 2004). Los valores de Fst muestran un rango entre 0.90 y 0.94, siendo los valores más altos los observados entre el grupo de Centroamérica-Este de México y el grupo del Inambari (Cuadro 2). De acuerdo a Hartl y Clark (1997), estos valores (Fst > 0.25), indican que la mayor parte de la variación genética observada es explicada por la fuerte estructuración entre las poblaciones. Estos valores, aunados al bajo número de migrantes por generación estimados (entre 0.4 y 0.5 migrantes por generación) sugieren largos periodos de aislamiento entre grupos y un flujo génico extremadamente bajo (Slatkin 1987).

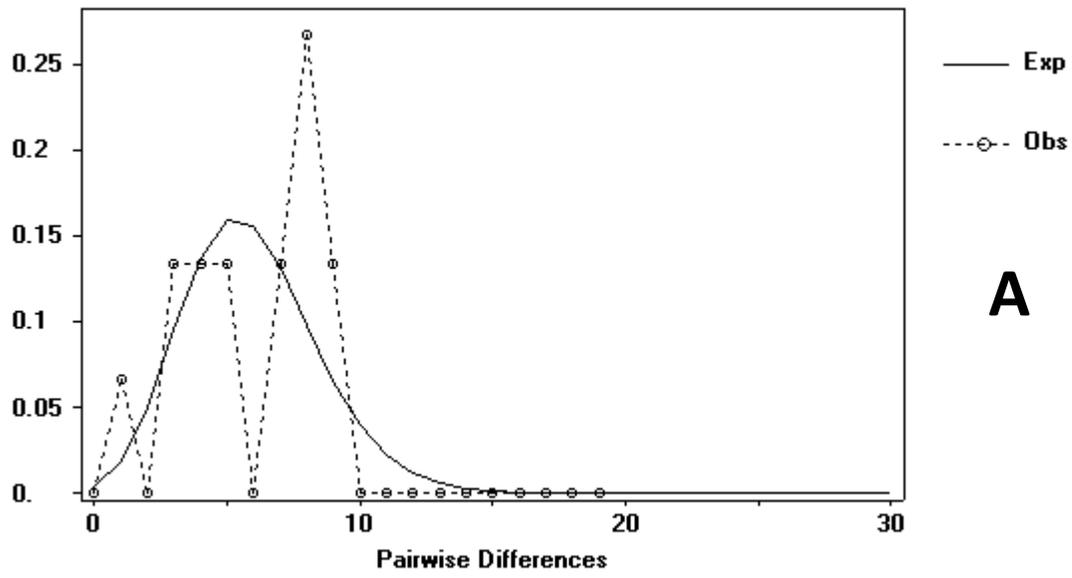
Cuadro 2. Matriz de diferenciación entre las poblaciones de *Piaya cayana*. Los valores encima de la diagonal corresponden a Fst (Nm) y los valores debajo de la diagonal corresponden a Dxy (Da) en porcentaje.

	Inambari	Centroamérica-Este de México	O. de México
Inambari	-	0.94856 (0.04)	0.91076 (0.05)
Centroamérica-Este de México	3.192 (3.028)	-	0.90608 (0.05)
O. de México	3.279 (2.987)	2.431 (2.203)	-

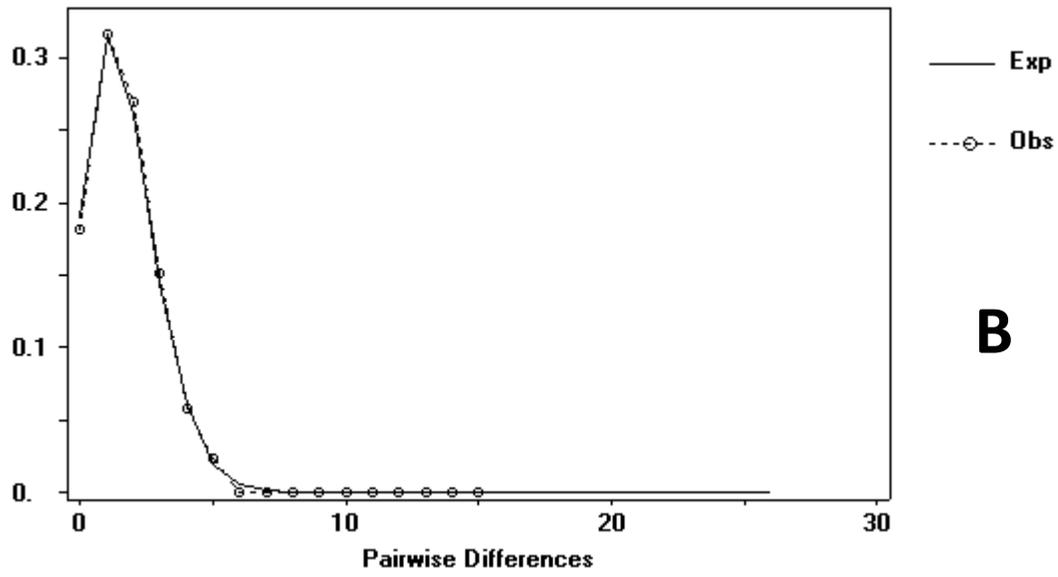
Todos los grupos mostraron valores altos de diversidad haplotípica ($h > 0.5$) y valores bajos diversidad nucleotídica ($\pi < 0.5\%$) (Cuadro 3), sugiriendo que los grupos han experimentado cuellos de botella seguidos de expansiones poblacionales rápidas (Fry y Zink 1998; Grant y Bowen 1998). Estos resultados pueden estar relacionados con la fuerte estructuración mostrada por el estadístico F_{st} , ya que los bajos tamaños poblacionales producidos por los cuellos de botella pudieron facilitar la fijación de los haplotipos vía deriva génica, reforzando el efecto del aislamiento geográfico (Hamilton 2009). Los estadísticos F de F_u y D de Tajima obtuvieron valores de 0 para todos los grupos, sugiriendo que no hay evidencia de cambios poblacionales en estos loci (cuadro 3); sin embargo, estos valores no fueron significativos, por lo que no fue posible hacer inferencias claras de cambios poblacionales con estos estadísticos. Por otro lado, tanto las distribuciones mismatch (Fig. 8) como el estadístico R_2 sugieren el ajuste a un modelo de expansión poblacional en el grupo de Centroamérica-Este de México, lo que coincide con el patrón observado en la red de haplotipos. Las distribuciones multimodales observadas en los grupos del Oeste de México e Inambari sugieren que sus poblaciones se encuentran en equilibrio demográfico (Hernández-Baños *et al.* 2007).

Cuadro 3. Parámetros de genética de poblaciones estimados para los grupos de *Piaya cayana*.

Grupo	No.	h	Hd	π	R_2	F_{Fu}	D_{Tajima}
Inambari	5	5	1.00000	0.00229	0.1181*	0.000	0.000
Centroamérica-Este de México	19	10	0.81871	0.00100	0.0676	0.000	0.000
O. de México	6	6	1.00000	0.00357	0.1282*	0.000	0.000
Rondonia	1	1	-	-	-	-	-
B. del Atlántico	1	1	-	-	-	-	-



A



B

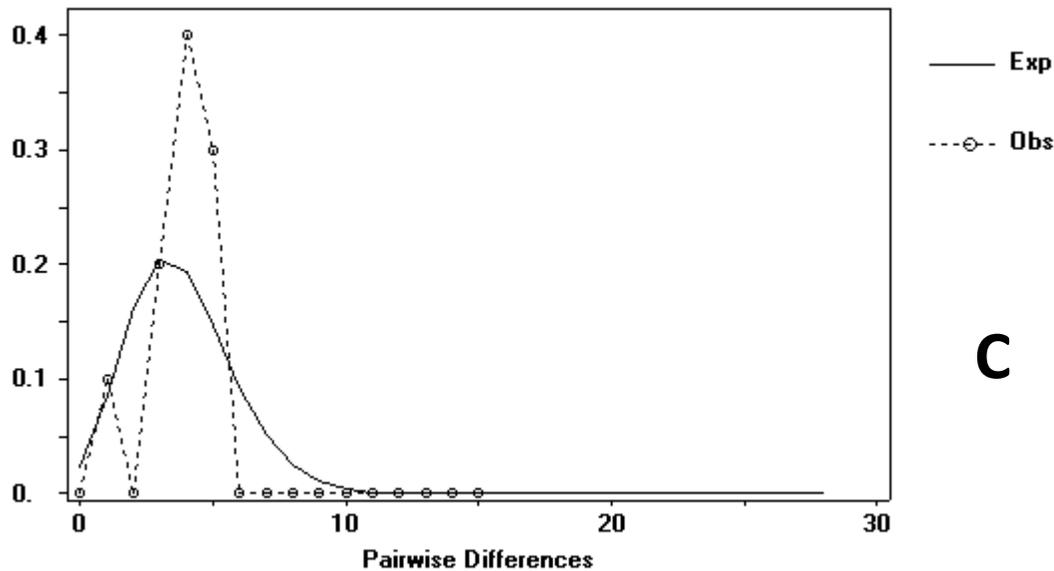


Figura 8. Distribuciones mismatch para las diferentes poblaciones de *Piaya cayana*. A, Oeste de México; B, Centroamérica-Este de México; C, Inambari.

Análisis morfológicos

Se obtuvieron medidas morfométricas de 115 individuos, 4 de los cuales fueron excluidos por ser organismos juveniles o por no poder obtener suficientes medidas debido a daños por el método de colecta, por el proceso de taxidermia, o porque el ejemplar presentaba heridas o falta de plumas antes de ser colectado. Además, 13 ejemplares fueron excluidos debido a que carecían de información relacionada con el sexo de los individuos. Con las medidas de los 98 ejemplares restantes (Cuadro 4), se hicieron pruebas de T para identificar diferencias significativas entre machos y hembras para ambas poblaciones. Los resultados indicaron diferencias significativas en la media del tamaño del hálux y puntas de la cola en *mexicana*, mientras que *thermophila* presentó diferencias significativas en el tamaño de la cola, cuerda alar y puntas de la cola (Cuadro 5).

Cuadro 4. Valores de media y desviación estándar (SD) para las variables morfométricas de *P. cayana*. PICLONG=longitud del pico, PICANCH= ancho del pico, PICPROF= profundidad del pico, CUEALA= cuerda alar, TARSO= longitud del tarso, HALUX= longitud del hálux, COLA= longitud de la cola, TIPS= longitud de las puntas blancas de la cola.

<i>mexicana</i>						
Hembras			Machos			
VARIABLE	n	media	SD	n	media	SD
PICLONG	19	17.58	0.78	27	17.42	0.95
PICANCH	20	7.74	0.46	27	7.71	0.60
PICPROF	19	9.71	0.39	27	9.84	0.52
CUEALA	19	149.21	4.39	24	147.83	3.71
TARSO	20	37.55	1.40	26	37.85	1.94
HALUX	20	9.85	0.43	26	10.15	0.53
COLA	14	310.71	9.42	22	304.41	12.33
TIPS	13	28.25	3.38	21	31.68	4.18

<i>thermophila</i>						
Hembras			Machos			
VARIABLE	n	media	SD	n	media	SD
PICLONG	15	17.82	0.62	35	18.38	1.02
PICANCH	15	8.40	0.39	34	8.31	0.44
PICPROF	15	9.74	0.57	33	9.88	0.40
CUEALA	14	140.21	3.09	33	145.48	7.16
TARSO	14	37.80	1.05	36	37.67	1.47
HALUX	14	9.87	0.80	36	9.96	0.48
COLA	13	254.08	18.39	23	268.67	19.46
TIPS	13	25.15	2.55	29	28.08	3.76

Cuadro 5. Variables con diferencias significativas entre machos y hembras. CUEALA= cuerda alar, HALUX= longitud del hálux, COLA= longitud de la cola, TIPS= longitud de las puntas blancas de la cola.

Variable	Grupo	Media Hembras	Media Machos	Valor de T	GL	Valor de P
HALUX	<i>mexicana</i>	9.85	10.14	-2.0924	43.853	0.04222
TIPS	<i>mexicana</i>	28.25	31.05	-2.4014	24.243	0.02435
COLA	<i>thermophila</i>	254.07	267.56	-2.14	24.296	0.04259
CUEALA	<i>thermophila</i>	140.21	144.84	-3.2647	44.454	0.002113
TIPS	<i>thermophila</i>	25.14	27.39	-2.1636	35.381	0.03733

El análisis individual de las variables mediante gráficos de caja (Fig. 9) mostró una gran similitud entre poblaciones para prácticamente todas las variables, siendo la longitud de la cola la única variable con una diferenciación clara. Sin embargo, la prueba de U de Mann-Whitney sugiere que existen diferencias significativas en la longitud de la cola y en el largo y ancho del pico. Este análisis indica que los individuos de *thermophila* tienden a tener picos más largos y anchos en comparación con *mexicana*, mientras que la longitud de la cola de *mexicana* es notoriamente más larga en comparación con la de *thermophila*.

Los análisis de correlación de Pearson sugieren que existen relaciones lineales entre la longitud de la cola y la longitud de las puntas blancas de la cola; y entre la longitud de la cola y el ancho y largo del pico (Fig. 10). Sin embargo, la matriz de correlación indica que estas correlaciones no son significativas entre ningún par de variables (Cuadro 6), por lo que todas las variables fueron utilizadas en el análisis de PCA.

En el análisis de componentes principales, la variación explicada por los componentes I a III fue del 83.44% distribuida como 58.24%, 19.02% y 6.18%, respectivamente. Las variables que más contribuyen a la variación en el primer componente principal fueron las puntas blancas de la cola y la longitud de la cola, mientras que el largo y ancho del pico fueron las variables de mayor contribución en el segundo componente (Cuadro 7). Al graficar el componente 1 contra el 2, se observa que los individuos forman dos agrupamientos que corresponden con los dos grupos analizados. Sin embargo, los grupos muestran la existencia de traslape en el espacio morfológico a nivel de ambos componentes. Los resultados del PCA, junto con el análisis de las variables por separado, muestran que las principales diferencias morfológicas entre los grupos *mexicana* y *thermophila* son el tamaño de la cola y el pico, mientras variables como la longitud del tarso y la cuerda alar parecen no estar diferenciadas entre grupos.

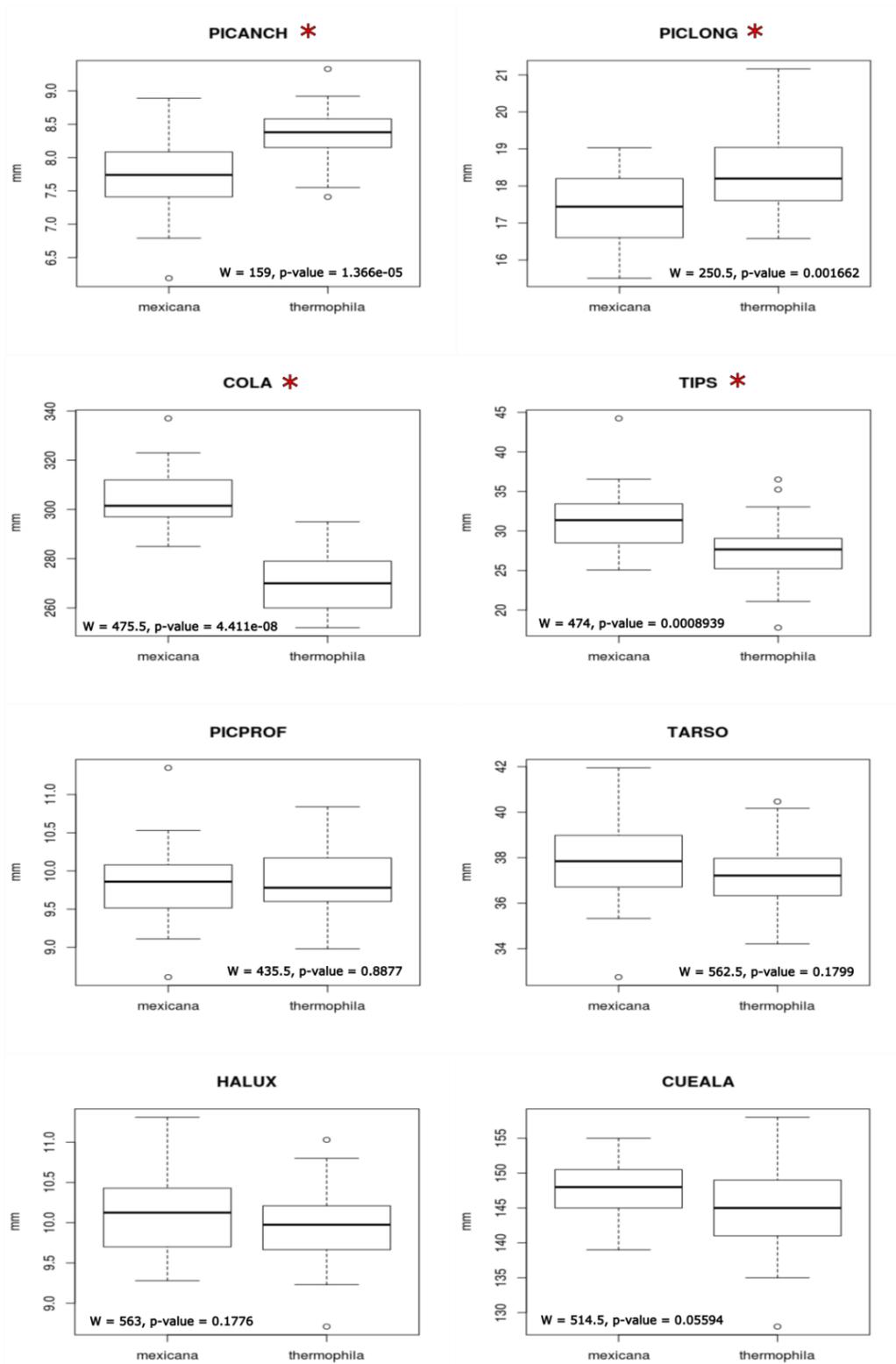


Figura 9. Comparación individual de cada variable morfológica. Los asteriscos rojos denotan las variables que presentan diferencias significativas. PICLONG=longitud del pico, PICANCH= ancho del pico, PICPROF= profundidad del pico, CUEALA= cuerda alar, TARSO= longitud del tarso, HALUX= longitud del hálux, COLA= longitud de la cola, TIPS= longitud de las puntas blancas de la cola.

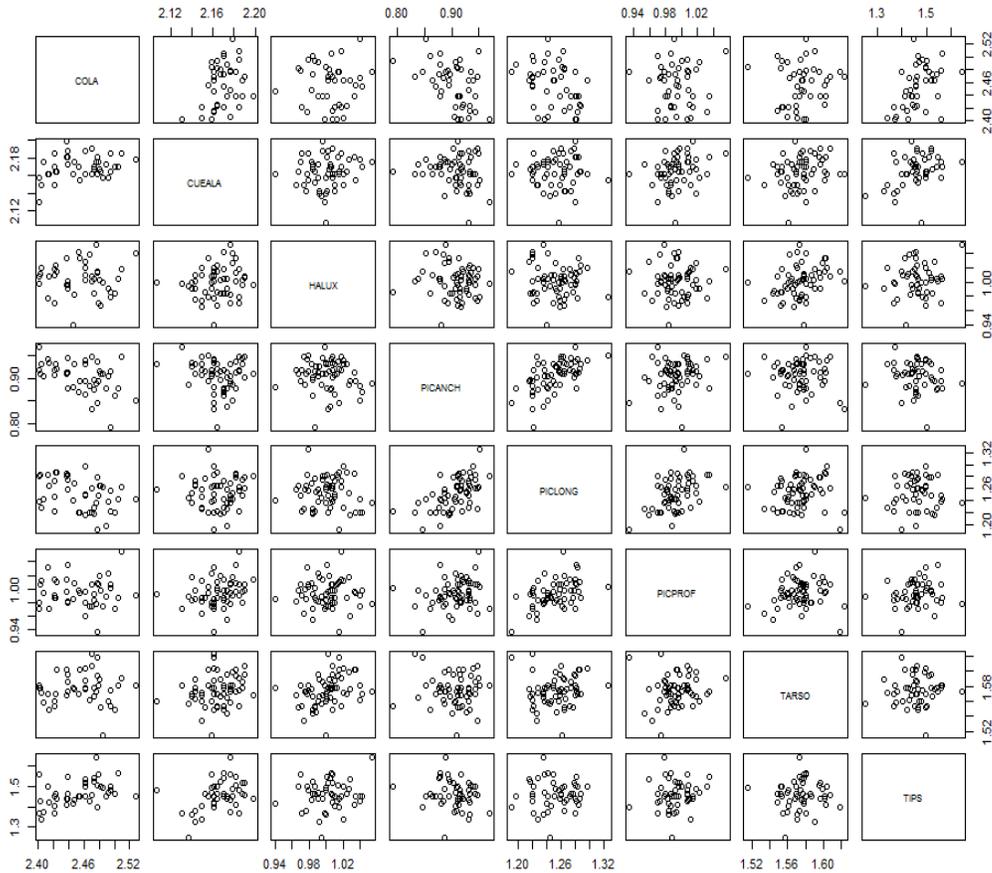
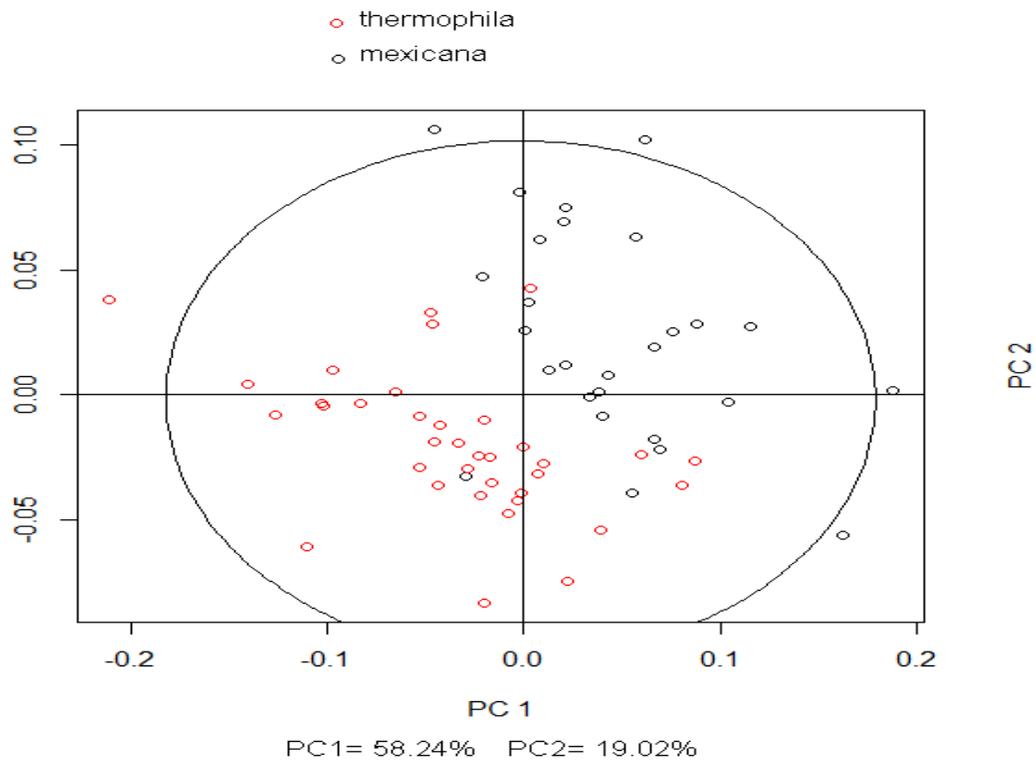


Figura 10. Gráfica matricial para las variables morfométricas. PICLONG=longitud del pico, PICANCH= ancho del pico, PICPROF= profundidad del pico, CUEALA= cuerda alar, TARSO= longitud del tarso, HALUX= longitud del hálux, COLA= longitud de la cola, TIPS= longitud de las puntas blancas de la cola.

Cuadro 6. Matriz de correlación entre las variables morfométricas. PICLONG=longitud del pico, PICANCH= ancho del pico, PICPROF= profundidad del pico, CUEALA= cuerda alar, TARSO= longitud del tarso, HALUX= longitud del hálux, COLA= longitud de la cola, TIPS= longitud de las puntas blancas de la cola.

	COLA	CUEALA	HALUX	PICANCH	PICLONG	PICPROF	TARSO	TIPS
COLA	1.0000							
CUEALA	0.2887	1.0000						
HALUX	0.0099	0.1518	1.0000					
PICANCH	0.4642	0.1537	0.1034	1.0000				
PICLONG	0.3462	0.0177	0.0802	0.5784	1.0000			
PICPROF	0.0032	0.2558	0.0004	0.2356	0.4587	1.0000		
TARSO	0.0589	0.2300	0.3263	0.0610	0.1069	0.1394	1.0000	
TIPS	0.4468	0.3924	0.1473	0.1561	0.0292	0.1260	0.0493	1.0000



Eigenvectores

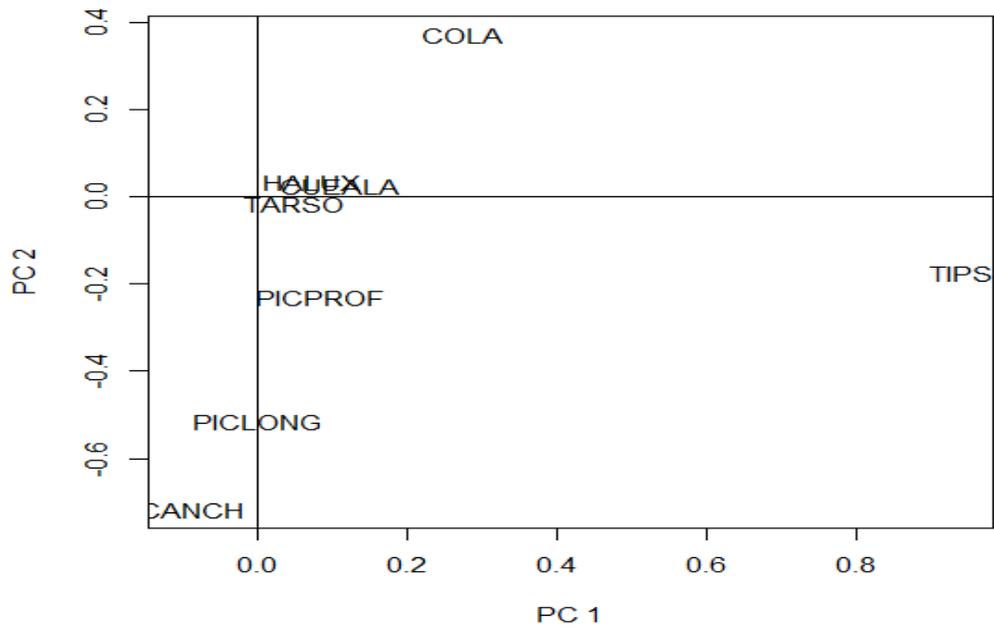


Figura 11. Análisis de componentes principales de las variables morfométricas. La gráfica superior muestra la distribución de los individuos en el espacio morfológico conformado por el componente I (PC1) contra el componente II (PC2). La gráfica inferior muestra la contribución de cada variable a cada uno de los componentes.

Cuadro 7. Eigenvectores para los tres primeros componentes principales y varianza explicada por cada componente. PICLONG=longitud del pico, PICHANCH= ancho del pico, PICPROF= profundidad del pico, CUEALA= cuerda alar, TARSO= longitud del tarso, HALUX= longitud del hálux, COLA= longitud de la cola, TIPS= longitud de las puntas blancas de la cola.

VARIABLE	PC1	PC2	PC3
PICLONG	0.000189061	-0.5135073	-0.12717588
PICHANCH	-0.10486272	-0.71607577	0.12490539
PICPROF	0.084445035	-0.23113458	-0.12067375
CUEALA	0.110922155	0.02509121	-0.14810286
TARSO	0.047964982	-0.01405786	-0.65136886
HALUX	0.072616645	0.03498089	-0.69918064
COLA	0.274879879	0.37193238	0.08895065
TIPS	0.941507473	-0.17244707	0.10334964
Varianza explicada	0.58248891	0.19024867	0.06186465

Similitud de nicho ecológico

Los resultados del PCA-env indican que los ejes de los dos primeros componentes explican el 82.4% de la varianza total (Figs. 12 y 13). Los resultados del análisis de equivalencia de nicho indican que el traslape observado es menor al esperado bajo el modelo nulo, por lo que la hipótesis nula de nichos idénticos es rechazada (Fig. 12), mientras que el valor del parámetro D (0.1288941) también sugirió que el traslape es limitado de acuerdo a la clasificación propuesta por Rödder y Engler (2011). Por otro lado, el análisis de similitud de nicho muestra que el valor observado D es más similar a lo esperado al azar, en ambos sentidos, por lo que la hipótesis nula de que el traslape de nicho observado es consecuencia de las condiciones ambientales disponibles es rechazada (Fig. 12).

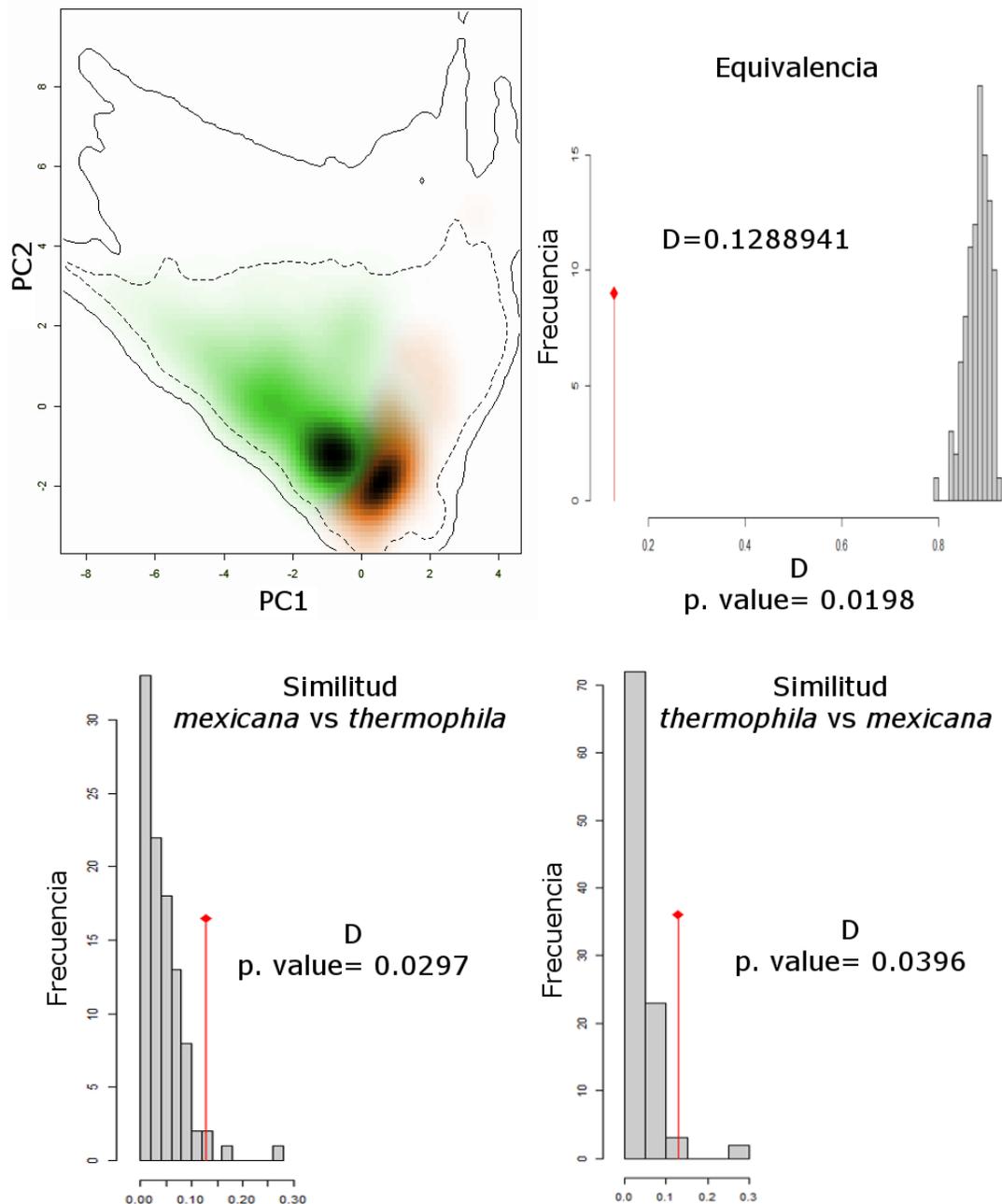


Figura 12. Comparación de los nichos ecológicos de los grupos *mexicana* (naranja) y *thermophila* (verde). Las áreas más oscuras en las gráficas de PCA indican la mayor densidad de registros. La línea continua representa el 100% del espacio ecológico disponible en el área de distribución general, mientras que la línea punteada representa el 50% del mismo. Los histogramas muestran los resultados de la prueba de equivalencia y similitud de nicho. Las barras grises representan el traslape de nicho simulado mediante 100 iteraciones, la línea roja muestra el valor observado de traslape de nicho.

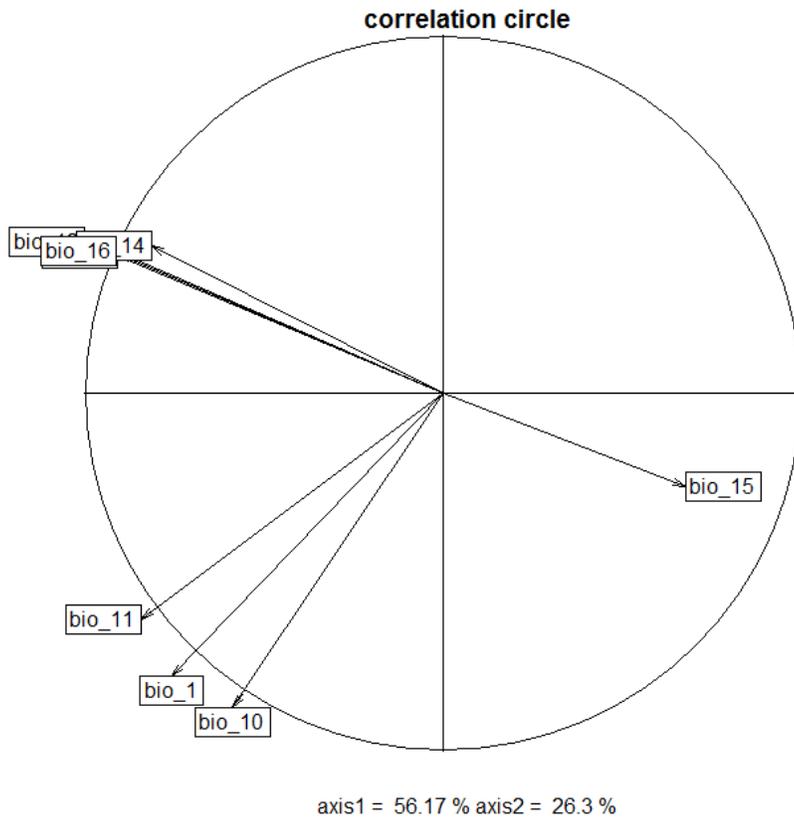


Figura 13. Círculo de correlación entre las variables utilizadas para construir el espacio ecológico en el PCA. bio1=temperatura media anual, bio2=rango de temperaturas diurnas, bio3=isotermalidad, bio4=estacionalidad en la temperatura, bio5=temperatura máxima del mes más cálido, bio6=temperatura mínima del mes más frío, bio7=rango anual de temperatura, bio8=temperatura media del trimestre más lluvioso, bio9=temperatura media del trimestre más seco, bio10=temperatura media del trimestre más cálido, bio11=temperatura media del trimestre más frío, bio12=precipitación anual, bio13=precipitación del mes más lluvioso, bio14=precipitación del mes más seco, bio15=estacionalidad en la precipitación, bio16=precipitación del trimestre más lluvioso, bio17=precipitación del trimestre más seco, bio18=precipitación del trimestre más cálido, bio19=precipitación del trimestre más frío.

DISCUSIÓN

Filogenia

Tanto los análisis filogenéticos de máxima verosimilitud e inferencia bayesiana, así como la red de haplotipos, fueron congruentes identificando dos linajes principales dentro del complejo *Piaya cayana*. El primero de ellos está conformado por las poblaciones distribuidas en Mesoamérica, y el segundo formado por las muestras de Sudamérica. Por su parte, el clado mesoamericano se divide en los grupos: *mexicana* al oeste del Istmo de Tehuantepec (IT) y el grupo *thermophila* al norte y este del IT, así como la Península de Yucatán y Centroamérica. Este patrón de diferenciación es congruente con los límites geográficos establecidos previamente para las subespecies con base en los patrones de coloración (Ridgway 1916; Peters 1940). El Istmo de Tehuantepec ha sido ampliamente reconocido como un límite biogeográfico entre linajes para una gran variedad de grupos, especialmente para organismos de tierras altas (Sullivan *et al.* 2000; Barber y Klicka 2010; Ornelas *et al.* 2013; Rodríguez-Gómez *et al.* 2013; Ortiz-Ramírez *et al.* 2016) y en menor medida, para grupos de tierras bajas (Arbeláez-Cortés *et al.* 2014; Ríos-Muñoz 2014). Sin embargo, diversos estudios han relacionado al IT con los patrones de diferenciación genética en numerosas especies de tierras bajas, como el cucarachero *Campylorhynchus rufinucha* (Vázquez-Miranda *et al.* 2009), los colibríes *Campylopterus curvipennis* (González *et al.* 2011) y *Phaethornis longirostris* (Arbeláez-Cortés y Navarro-Sigüenza 2013). Patrones de diferenciación similares se pueden observar a nivel intragenérico entre especies codistribuidas en las tierras bajas de México. En aves, este patrón se observa en las especies de chachalacas del género *Ortalis*, los colibríes del género *Chlorostilbon*, los trogloditas del género *Pheugopedius* y los carpinteros *Colaptes rubiginosus* y *C. auricularis*, todas ellas con distribuciones alopátricas separadas por el IT (Howell y Webb 1995; Berlanga *et al.* 2008).

Mediante el uso de aproximaciones bayesianas en estudios de filogeografía comparada de aves montañas (Barber y Klicka 2010), así como diversos grupos biológicos de bosques mesófilos (Ornelas *et al.* 2013), se ha sugerido la existencia de múltiples pulsos de diversificación a través del Istmo de Tehuantepec; es decir, eventos en los que taxones co-distribuidos a ambos lados del Istmo experimentaron diversificación simultánea debido a la

misma barrera (Zink 2002). Dichos estudios coinciden en que algunos de estos pulsos se ubican en el Pleistoceno inferior (Calabriense, 1.806-0.781 Ma), coincidiendo con las estimaciones de los tiempos de divergencia entre los grupos *mexicana* y *thermophila* del complejo *P. cayana*, siendo notable que el patrón de diferenciación entre las poblaciones al oeste del IT y las poblaciones de Chiapas y Veracruz en *Chlorospingus ophthalmicus* (ahora *Chlorospingus flavopectus*), es similar al observado en este estudio, ya que las poblaciones de *C. ophthalmicus* al norte del IT, en Veracruz, junto con las poblaciones distribuidas al este del istmo, forman un grupo diferenciado de las poblaciones distribuidas al oeste del IT. Además, los límites de confianza en los tiempos de divergencia estimados para los grupos de *C. ophthalmicus* se traslapan con los límites de confianza estimados para los grupos *mexicana* y *thermophila* (Ornelas *et al.* 2013).

Aunque los eventos de expansión y contracción de los hábitats de tierras altas producidos por las fluctuaciones climáticas durante el Pleistoceno (Hewitt 2000; Zachos *et al.* 2001) parecen ser la explicación por defecto en la mayoría de los estudios filogeográficos que involucran especies que habitan en estos ambientes y en este marco temporal, Barber y Klicka (2010) señalan que no debe perderse de vista el hecho de que otros fenómenos, como las transgresiones marinas (Miller *et al.* 2005), podrían estar involucrados en algunos de los eventos de diversificación de especies distribuidas a ambos lados del IT, especialmente aquellos ubicados a inicios del Pleistoceno entre dos y tres millones de años. Aunque los pulsos de diversificación simultánea entre biotas de tierras altas y bajas podrían explicarse en gran parte por el efecto de transgresiones marinas, el intervalo temporal estimado para estos eventos no coincide con los intervalos estimados entre los grupos *mexicana* y *thermophila*, por lo que es posible que su separación este asociada con otros procesos o incluso, que los cálculos subestimen la verdadera edad de la divergencia entre estas poblaciones.

Filogeografía

Al encontrar que taxones de tierras bajas comparten patrones de diferenciación con taxones de tierras altas en el IT, la explicación de las expansiones y contracciones de los hábitats montanos producidas por las fluctuaciones climáticas durante el Pleistoceno por sí misma

pierde peso. Si organismos tanto de tierras altas como bajas fueron afectados simultáneamente, significa que alguna barrera vicariante debió limitar el paso a través del IT, o que los cambios climáticos propiciaron la formación de hábitats poco favorables, que funcionaron como barreras ecológicas para ambos tipos de biotas. Cualquiera sea el caso, tomando en cuenta el grado de diferenciación, la fuerte estructuración geográfica, el número de pasos mutacionales en la red de haplotipos y el limitado flujo genético entre las poblaciones de *P. cayana* a ambos lados del IT, indican que dicha barrera debió ser lo suficientemente fuerte y duradera para mantener esta diferenciación independiente de reconexiones de hábitat más recientes; aunado a esto, el efecto del aislamiento geográfico pudo ser reforzando por bajos tamaños poblacionales producidos por los cuellos de botella que facilitaron la fijación de los haplotipos exclusivos vía deriva génica, y por su baja capacidad de dispersión, sugerida por sus alas cortas y redondeadas, su comportamiento y por la extensa variación geográfica observada a pesar de la aparente continuidad del hábitat (Payne 2005).

La idea del IT como barrera para la biota de tierras bajas parece contradecir los resultados obtenidos por Ríos-Muñoz (2014), quien presentó un estudio de filogeografía comparativa de la biota de tierras bajas de Mesoamérica usando secuencias de una especie de insecto, tres de anfibios, una de lagartija, dos de aves y dos de mamíferos, encontrando que el IT no representa un límite biogeográfico importante para los taxones analizados. Estas conclusiones podrían deberse en parte a que solo tres de los taxones utilizados tienen poblaciones en los bosques secos al oeste del IT, lo que dificultaría encontrar patrones comunes debido al bajo número de taxones comparados.

Sin embargo, los propios resultados de Ríos-Muñoz, junto con los resultados previos de Vázquez-Miranda *et al.* (2009) demuestran que para uno de estos taxones, el ave *Campylorhynchus rufinucha*, el IT representa una importante barrera filogeográfica. Además, los tiempos de divergencia estimados para las poblaciones de *C. rufinucha* a ambos lados del IT de entre 0.8 y 1.7 Ma usando secuencias de CytB (Barker 2007) y entre 1.3 y 3.6 Ma utilizando secuencias de ND2 (Ríos-Muñoz 2014) se encuentran dentro de los límites de las estimaciones de tiempos de divergencia entre los grupos *mexicana* y *thermophila* de *P. cayana* (0.78 -1.79 Ma), siendo básicamente idénticos a los obtenidos para *C. rufinucha* usando secuencias de CytB, por lo que resulta interesante notar que estimaciones

independientes coinciden en el IT como barrera en el mismo marco temporal para dos especies de aves de tierras bajas consideradas como especies con baja capacidad de dispersión a largas distancias (Payne 2005; Vázquez-Miranda *et al.* 2009).

Estos resultados, podrían sugerir que al igual que con la biota de tierras altas, en el caso de la biota de tierras bajas el IT ha actuado como barrera y como puente para diferentes taxones en diferentes épocas (Ornelas *et al.* 2013), por lo que es necesaria evidencia adicional a partir de estudios filogeográficos y filogenéticos así como estudios de filogeografía comparada, para determinar si al igual que con la biota de tierras altas, múltiples pulsos de diversificación en el IT han afectado a la biota de tierras bajas, y de existir, determinar si estos coinciden en el tiempo para ambos casos.

De acuerdo con las distribuciones mismatch, no hay evidencia de cambios poblacionales en la población del Oeste de México (*mexicana*), sin embargo tanto el patrón estrella de la red de haplotipos (Excoffier *et al.* 2009), como las distribuciones mismatch sugieren que las poblaciones de Centroamérica-este de México (*thermophila*) han pasado por una expansión poblacional reciente. Sin embargo, este patrón puede ser un artificio debido al limitado número de muestras y a su distribución geográfica, concentrada principalmente en Oaxaca y Chiapas. Debido a la falta de marcadores genéticos nucleares y al limitado número de muestras los resultados de cambios poblacionales presentados deben ser tomados con precaución, y es necesario un mayor número de muestras por localidad, así como la adición de marcadores genéticos que pudieran fortalecer la historia demográfica, como microsatélites o SNPs para tener análisis robustos en este aspecto.

Morfometría

Las variables morfológicas pueden ser usadas como subrogados del comportamiento, requerimientos ecológicos, interacciones y/o capacidad motrices de los organismos (Hedenström 2008; Jønsson *et al.* 2015). Así por ejemplo, el tamaño del tarso está relacionado con el uso del hábitat en los Cuculiformes, siendo más largo en relación al tamaño corporal en las especies terrestres que en las arbóreas, en las que los tarsos cortos ayudan al balanceo y salto entre las ramas al mantener un centro de gravedad bajo (Payne

2005). Asimismo, el tamaño y forma de las alas se relaciona con el comportamiento migratorio de los Cuculiformes, ya que las especies migratorias las alas presentan un perfil alargado y puntiagudo, mientras que en especies residentes como *P. cayana*, las alas son cortas y redondeadas (Payne 2005). Esto podría indicar que las capacidades motrices relacionadas a los hábitos arbóreos y capacidad de dispersión entre los grupos *mexicana* y *thermophila* se han mantenido sin cambios a pesar de la diferenciación genética y ambiental.

Como puede verse en los análisis de traslape de nicho, ambos grupos habitan en regiones ambientalmente diferentes. Esto necesariamente implica que mantienen interacciones bióticas con comunidades diferentes, una de las cuales pueden ser las comunidades de insectos, los cuales constituyen la mayor parte de la dieta de esta especie (Raw 1997; Piratelli y Pereira 2002; de Azevedo *et al.* 2006; Repenning *et al.* 2009). Como se ha observado en diversos grupos de insectos, el IT representa un límite biogeográfico importante (Halffter 1987, Jones *et al.* 2013); considerando que estos representan la mayor parte de la dieta de *P. cayana*, las diferencias observadas en el tamaño del pico pueden ser una respuesta a las diferencias en las presas consumidas o a la estrategia de forrajeo de cada grupo (Carrascal 1990), de hecho existe evidencia de que vertebrados pequeños constituyen parte de la dieta regular de *P. cayana* en Centroamérica (Komar y Thurber 2003), por lo que es necesario un estudio más detallado de la dieta de ambos grupos para poner a prueba esta idea.

Las diferencias morfológicas más pronunciadas entre los dos grupos pueden observarse en las medidas relacionadas al tamaño la cola, además, el patrón de coloración de la misma es uno de los caracteres más distintivos entre ambos grupos. Al parecer, el tamaño y coloración de la cola es importante en la comunicación y reconocimiento interespecífico entre los cucos (Payne 2005); muchas especies de Cuculiformes han sido observadas extendiendo y elevando la cola durante el despliegue sexual. Fragmentos de este comportamiento han sido grabados en cucos parásitos del Viejo Mundo (subfamilia Cuculinae), el cuco rayado americano (*Tapera naevia*), los anis (género *Crotophaga*), y el guira (*Guira guira*). El marcado patrón de las puntas claras contrastando con la coloración oscura en la cara ventral de la cola es presumiblemente importante en los despliegues de apareamiento de otros cucos que exhiben esa característica del plumaje, como en miembros del género *Phaenicophaeus* y de la subfamilia Coccozinae (Payne 1997).

Por otro lado, el patrón de coloración debajo de la cola también difiere en el plumaje juvenil, tendiendo a presentarse coloraciones más pálidas y patrones menos definidos que en el plumaje adulto (Howell y Webb 1995; Payne 2005; Dunn y Alderfer 2011) lo que puede sugerir una asociación con la madurez sexual. Considerando la importancia de la cola para los cucos en la comunicación social y el apareamiento, las diferencias en el patrón de coloración y tamaño podrían representar una forma de aislamiento reproductivo precigótico entre los grupos *thermophila* y *mexicana*.

Similitud de Nichos

Los resultados del análisis de equivalencia de nicho sugieren que los nichos entre ambos grupos no son idénticos, por lo que sería erróneo hacer inferencias sobre las características de un grupo en particular con base en las características del otro. Sin embargo, el análisis de similitud indica que los nichos entre ambos grupos son más similares que lo esperado al azar. Considerando los diferentes ambientes tropicales observados a cada lado del IT, hacia el noroeste bosques tropicales secos con estacionalidad marcada y, hacia el norte y el este, un conjunto de hábitats más húmedos que incluyen desde la selva mediana hasta el bosque mesófilo de montaña, no es de sorprender que los nichos observados no fueran equivalentes entre sí.

Sin embargo, la prueba de similitud indica que las dos formas de *Piaya cayana* en México comparten más características en el espacio ambiental de lo esperado al azar, sugiriendo una activa selección de los ambientes más idóneos por parte de cada grupo. Estos resultados concuerdan con Warren *et al.* (2008), quienes a través de la medición de traslape de nicho entre especies hermanas de insectos, mamíferos y principalmente aves, señalan que los nichos de especies hermanas son raramente idénticos pero tienden a ser más similares de lo esperado por azar. A pesar de existir conservadurismo del nicho fundamental entre especies relacionadas, el nicho realizado de cada una puede ser diferente, lo que puede aparentar divergencia de nicho, sin embargo, aunque los nichos pueden cambiar en respuesta a las presiones selectivas de cada región, no lo hacen abruptamente tendiendo a presentar conservadurismo filogenético en periodos evolutivos cortos, por ejemplo en divergencias relativamente recientes, como aquellas ocurridas en el Pleistoceno (Pyron *et al.* 2015).

A lo largo de su distribución en el Neotrópico, otras poblaciones de *Piaya cayana* habitan en bosques tropicales secos como las regiones al este de Brasil, el norte de Venezuela y Colombia, el noroeste de Centroamérica y el norte de la Península de Yucatán (Pennington *et al.* 2000) sugiriendo que tanto los bosques tropicales secos y lluviosos forman parte del nicho fundamental de este complejo. La expansión de los bosques tropicales secos (establecidos en el oeste mexicano desde hace aproximadamente 30 millones de años) hacia Centroamérica ocurrió hace aproximadamente 2.5 millones de años, de acuerdo a evidencia genética y fósil del género *Bursera* (Becerra 2005), lo que pudo permitir a poblaciones centroamericanas ancestrales colonizar las tierras bajas del oeste de México pasando posteriormente por un proceso vicariante como sugieren los análisis genéticos.

Implicaciones taxonómicas y de conservación

Las distintas líneas de evidencia presentadas en este estudio, en conjunto con las diferencias en los patrones de coloración descritas previamente (Stone 1908; Ridgway 1916; Peters 1940; Navarro-Sigüenza y Peterson 2004), ponen de manifiesto la necesidad de una reevaluación taxonómica en *P. cayana*. Los análisis filogenéticos basados en DNA mitocondrial sugieren al menos cinco linajes independientes, que podrían aumentar hasta ocho, considerando resultados previos basados en secuencias de Cytb (Smith *et al.* 2014). Los altos valores de F_{st} (>0.9), el grado de diferenciación genética, así como el elevado número de pasos mutacionales en la red de haplotipos, sugieren periodos de aislamiento genético entre grupos y/o pequeños tamaños poblacionales.

La falta de evidencia contundente que demuestre la existencia de individuos híbridos a pesar de la aparente existencia de una zona de contacto en el Istmo de Tehuantepec (Binford 1989; Navarro-Sigüenza y Peterson 2004), aunado a los resultados genéticos de este estudio, en el cual no se encontraron haplotipos compartidos, junto con un número extremadamente bajo de migrantes efectivos ($N_m \leq 0.5$), sugieren que el flujo génico (si es que existe) es muy limitado. El grado de diferenciación genética, así como los tiempos de divergencia estimados, son tanto o más grandes que los encontrados entre diferentes pares de unidades evolutivas reconocidas como especies completamente separadas de cucos y otros grupos de aves (Johnson y Cicero 2004; Fossøy *et al.* 2016).

Los grupos *thermophila* y *mexicana* presentan características morfológicas y de coloración diagnósticas posiblemente relacionadas con la comunicación y la reproducción (Payne 2005), por lo que pueden estar involucradas en el aislamiento reproductivo. En conjunto, una marcada divergencia genética y fenotípica así como bajo flujo génico, indican que estos clados representan unidades evolutivas independientes que cumplen con las características para ser reconocidas como especies bajo los conceptos filogenético, evolutivo y morfológico de especie (Cracraft 1983; De Queiroz 2007). El tratamiento del cuco ardilla *P. cayana* como una sola especie en la clasificación AOU no refleja el grado de divergencia observados entre los distintos grupos, mientras que las clasificaciones que consideran solo al grupo *mexicana* como una especie separada de *P. cayana* (del Hoyo *et al.* 2017; Gill y Donsker 2017), no reflejan las relaciones evolutivas entre los grupos, ya que en este caso el taxón *P. cayana* al incluir a *thermophila* pero no a *mexicana*, se convierte en un grupo parafilético. Por lo tanto, se recomienda que las formas (actualmente reconocidas como subespecies) *P. c. mexicana* y *P. c. thermophila* sean reconocidas como especies independientes entre sí e independientes de las poblaciones sudamericanas. La limitación de los datos usados en este estudio impide hacer inferencias más profundas acerca del estatus taxonómico de las poblaciones sudamericanas.

El considerar a *P. cayana* como un grupo de especies y no como una especie de amplia distribución en el Neotrópico presenta importantes implicaciones para su conservación. Aunque los ecosistemas tropicales se encuentran amenazados a nivel general, los bosques tropicales secos al oeste de México en los que habita *P. c. mexicana* enfrentan amenazas y tasas de deforestación diferentes a los que amenazan los bosques tropicales húmedos en los que habita *P. c. thermophila* (Ceballos *et al.* 2010; Koleff *et al.* 2012). Elevar a nivel de especie a *P. c. mexicana* implicaría que esta sea la única especie de cuculiforme endémica de México, mientras que *P. c. thermophila* sería endémica de Centroamérica y el este de México. Se desconocen muchos aspectos biológicos y tamaños poblacionales particulares cada grupo, por lo que son necesarios estudios para detectar factores de riesgo y determinar su estatus de conservación.

CONCLUSIONES

Los análisis filogenéticos basados en DNA mitocondrial indican que las poblaciones mexicanas de *Piaya cayana* representan dos linajes independientes, y que a su vez, representan un linaje independiente respecto a las poblaciones sudamericanas.

Los tiempos de divergencia indican que la separación de los grupos *mexicana* y *thermophila* ocurrió durante el Pleistoceno, entre 0.78 y 1.79 millones de años atrás, y que puede estar relacionada a otros pulsos de diversificación para las biotas de tierras bajas y altas en el Istmo de Tehuantepec.

Análisis más detallados son necesarios para hacer inferencias a nivel poblacional.

Los análisis morfológicos indican que las principales diferencias entre los grupos *mexicana* y *thermophila* se encuentran en el pico y en la cola, características que se relacionan potencialmente con cambios en la dieta y en el apareamiento, respectivamente.

Los análisis de traslape de nicho indican conservación en las preferencias ambientales entre ambos grupos, más allá de lo esperado dada la disponibilidad de hábitat en sus respectivas áreas de distribución.

El limitado flujo génico entre los grupos *mexicana* y *thermophila*, inferido previamente por la falta de evidencia de hibridación, parece ser explicado por una combinación de factores como largos periodos de aislamiento genético, diferencias en caracteres relacionados con el apareamiento y la adaptación a diferentes condiciones ambientales.

Las clasificaciones actuales no reflejan las relaciones evolutivas ni el grado de divergencia entre las poblaciones de *Piaya cayana*. Las distintas líneas de evidencia sugieren que el estatus taxonómico de las subespecies *mexicana* y *thermophila* debe elevarse a nivel de especie.

LITERATURA CITADA

- Adams, M., Raadik, T. A., BurrIDGE, C. P., & Georges, A. (2014). Global biodiversity assessment and hyper-cryptic species complexes: more than one species of elephant in the room?. *Systematic Biology*, 63(4), 518-533.
- A.O.U. (1998). Check-list of North American birds, 7th ed. American Ornithologists' Union, Washington, D.C.
- Arbeláez-Cortés, E., Milá, B., & Navarro-Sigüenza, A. G. (2014). Multilocus analysis of intraspecific differentiation in three endemic bird species from the northern Neotropical dry forest. *Molecular phylogenetics and evolution*, 70, 362-377.
- Arbeláez-Cortés, E., & Navarro-Sigüenza, A. G. (2013). Molecular evidence of the taxonomic status of western Mexican populations of *Phaethornis longirostris* (Aves: Trochilidae). *Zootaxa*, 3716(1), 81-97.
- Barber, B. R., & Klicka, J. (2010). Two pulses of diversification across the Isthmus of Tehuantepec in a montane Mexican bird fauna. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 277, 2675–2681 .
- Barrera-Guzmán, A. O., Milá, B., Sánchez-González, L. A., & Navarro-Sigüenza, A. G. (2012). Speciation in an avian complex endemic to the mountains of Middle America (Ergaticus, Aves: Parulidae). *Molecular phylogenetics and evolution*, 62(3), 907-920.
- Barve, N., Barve, V., Jiménez-Valverde, A., Lira-Noriega, A., Maher, S. P., Peterson, A. T. & Villalobos, F. (2011). The crucial role of the accessible area in ecological niche modeling and species distribution modeling. *Ecological Modelling*, 222(11), 1810-1819.
- Becerra, J. X. (2005). Timing the origin and expansion of the Mexican tropical dry forest. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102(31), 10919-10923.
- Benítez-Díaz, H. (1993). "Geographic variation in coloration and morphology of the Acorn Woodpecker." *Condor*, 95, 63-71.

- Berlanga, H., Rodríguez-Contreras, V., Oliveras de Ita, A., Escobar, M., Rodríguez, L., Vieyra, J., Vargas, V. (2008). Red de Conocimientos sobre las Aves de México (AVESMX). CONABIO.
- Binford, L. C. (1989). A distributional survey of the birds of the Mexican state of Oaxaca. *Ornithological Monographs* number 43. Boone, S., Tobe, S. S., & Linacre, A. M. (2009). The use of mitochondrial DNA genes to identify closely related avian species. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series* 2(1), 275-277.
- Brady EC, Otto-Bliesner BL, Kay JE, Rosenbloom N, (2012). Sensitivity to glacial forcing in the CCSM4. *Journal of Climate* 26, 1901–1925.
- Carmi, O., Witt, C. C., Jaramillo, A., & Dumbacher, J. P. (2016). Phylogeography of the Vermilion Flycatcher species complex: Multiple speciation events, shifts in migratory behavior, and an apparent extinction of a Galápagos-endemic bird species. *Molecular phylogenetics and evolution* 102, 152-173.
- Carrascal, L. M., Moreno, E., & Tellería, J. L. (1990). Ecomorphological relationships in a group of insectivorous birds of temperate forests in winter. *Ecography* 13(2), 105-111.
- Ceballos, G., García, A., Martínez, L., Espinosa, E., Bezaury, J. & Dirzo, R. (eds.) (2010). Diversidad, amenazas y áreas prioritarias para la conservación de las selvas secas del oeste de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, UNAM, México.
- Claramunt, S., & Cracraft, J. (2015). A new time tree reveals Earth history's imprint on the evolution of modern birds. *Science Advances* 1(11), e1501005.
- Cornish-Bowden, A. (1985). Nomenclature for incompletely specified bases in nucleic acid sequences: recommendations 1984. *Nucleic acids research* 13(9), 3021.
- Cortés-Rodríguez, N., Hernández-Baños, B. E., Navarro-Sigüenza, A. G., Townsend Peterson, A., & García-Moreno, J. (2008). Phylogeography and population genetics of the Amethyst-throated Hummingbird (*Lampornis amethystinus*). *Molecular phylogenetics and evolution*, 48(1), 1-11.

- Cracraft, J. (1983). Species concepts and speciation analysis. *Current ornithology*, 1(4), 159-187.
- 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. *Ecography*, 33(2), 343-354.
- de Azevedo Silva, P. L., Neto, A. F., & Ferreira, a. A. (2006). Análise do conteúdo estomacal das aves da coleção científica da universidade federal de goiás/universidade estadual de goiás.IV Seminário de Iniciação Científica, Brasil.
- De Queiroz, K. (2007). Species concepts and species delimitation. *Systematic biology*, 56(6), 879-886.
- del Hoyo, J., Collar, N. & Kirwan, G.M. (2017). Mexican Squirrel-cuckoo (*Piaya mexicana*). In: del Hoyo, J., Elliott, A., Sargatal, J., Christie, D.A. & de Juana, E. (eds.). Handbook of the Birds of the World Alive. Lynx Edicions, Barcelona. Recuperado de: <http://www.hbw.com/node/467233> on [11 May 2017].
- Drummond AJ, Suchard MA, Xie D & Rambaut A (2012) Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7 *Molecular Biology And Evolution* 29, 1969-1973.
- Dunn, J. L. and J. Alderfer. 2011. Field Guide to the Birds of North America (6th Edition). National Geographic, Washington, DC.
- Edgar, R. C. (2004). MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic acids research*, 32(5) 1792-1797.
- Engel, J. I., Byamana, K., Kahindo, C., Bates, J. M., & Fjeldså, J. (2014). Genetic structure offers insights into the evolution of migration and the taxonomy of the Barred Long-tailed Cuckoo *Cercococcyx montanus* species complex. *Ibis*, 156(2), 330-340.
- Excoffier, L., Foll, M., & Petit, R. J. (2009). Genetic consequences of range expansions. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 40, 481-501.
- Fay, M. P., & Proschan, M. A. (2010). Wilcoxon-Mann-Whitney or t-test? On assumptions for hypothesis tests and multiple interpretations of decision rules. *Statistics surveys*, 4 1.

- Fleischer, R. C., McIntosh, C. E., & Tarr, C. L. (1998). Evolution on a volcanic conveyor belt: using phylogeographic reconstructions and K–Ar-based ages of the Hawaiian Islands to estimate molecular evolutionary rates. *Molecular Ecology*, 7(4), 533-545.
- Fossøy, F., Sorenson, M. D., Liang, W., Ekrem, T., Moksnes, A., Møller, A. P., & Stokke, B. G. (2016). Ancient origin and maternal inheritance of blue cuckoo eggs. *Nature communications*, 7.
- Fritz, U., Hundsdörfer, A. K., Široký, P., Auer, M., Kami, H., Lehmann, J., & Wink, M. (2007). Phenotypic plasticity leads to incongruence between morphology-based taxonomy and genetic differentiation in western Palaearctic tortoises (*Testudo graeca* complex; Testudines, Testudinidae). *Amphibia-Reptilia* 28(1), 97-121.
- Fry, A. J., & Zink, R. M. (1998). Geographic analysis of nucleotide diversity and song sparrow (Aves: Emberizidae) population history. *Molecular Ecology*, 7(10), 1303-1313.
- Fu, Y. X. (1997). Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*, 147(2), 915-925.
- Futuyma, D.J. (2005). *Evolution*. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Gehara, M., Crawford, A. J., Orrico, V. G., Rodríguez, A., Lötters, S., Fouquet, A., & Urrutia, G. G. (2014). High levels of diversity uncovered in a widespread nominal taxon: continental phylogeography of the neotropical tree frog *Dendropsophus minutus*. *PloS one*, 9(9), e103958.
- Gill, F. B. (2014). Species taxonomy of birds: Which null hypothesis?. *The Auk* 131(2), 150-161.
- Gill, F & D Donsker (Eds). 2017. IOC World Bird List (v 7.2). doi :10.14344/IOC.ML.7.2.
- González, C., Ornelas, J. F., & Gutiérrez-Rodríguez, C. (2011). Selection and geographic isolation influence hummingbird speciation: genetic, acoustic and morphological divergence in the wedge-tailed sabrewing (*Campylopterus curvipennis*). *BMC evolutionary biology*, 11(1), 38.

- Graham, C.H., Ron, S.R., Santos, J.C., Schneider, C.J. & Moritz, C. (2004) Integrating phylogenetics and environmental niche models to explore speciation mechanisms in dendrobatid frogs. *Evolution*, 58, 1781–1793.
- Grant, W. A. S., & Bowen, B. W. (1998). Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *Journal of Heredity*, 89(5), 415-426.
- Guevara-Chumacero, L. M., López-Wilchis, R., Pedroche, F. F., Juste, J., Ibáñez, C., & Barriga-Sosa, I. D. (2010). Molecular phylogeography of *Pteronotus davyi* (Chiroptera: Mormoopidae) in Mexico. *Journal of Mammalogy*, 91(1), 220-232.
- Hackett, S. J. (1996). Molecular phylogenetics and biogeography of tanagers in the genus *Ramphocelus* (Aves). *Molecular phylogenetics and evolution*, 5(2), 368-382.
- Halffter, G. (1987). Biogeography of the montane entomofauna of Mexico and Central America. *Annual Review of Entomology*, 32, 95-114.
- Hamilton, M. (2009). Population genetics. John Wiley & Sons.
- Hartl, D.L. & Clark, A.G. (1997) Principles of Population Genetics. Sunderland: Sinauer Associated Inc.
- Harvey, M. G., & Brumfield, R. T. (2015). Genomic variation in a widespread Neotropical bird (*Xenops minutus*) reveals divergence, population expansion, and gene flow. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 83, 305-316.
- Hasumi H, Emori S (2004) K-1 coupled GCM (MIROC) description. Tokyo: Center for Climate System Research, University of Tokyo. pp 34.
- Hedenström, A. (2008). Adaptations to migration in birds: behavioural strategies, morphology and scaling effects. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 363(1490), 287-299.
- Hernández-Baños, B. E., Honey-Escandón, M., Cortés-Rodríguez, M. N., & GARCÍA-DERAS, Y. G. (2007). Filogeografía de aves mexicanas. en *Ecología Molecular* (Eguiarte, L., V.

Souza, y X. Aguirre, eds.). Instituto Nacional de Ecología/Comisión Nacional para el Uso y Conocimiento de la Biodiversidad. Ciudad de México, México, 441-466.

Hernández V.A. (2014). FEIR 50: Contrastes no paramétricos. Recuperado de: <http://www.um.es/ae/FEIR/50/> [1 junio 2016]

Hewitt, G. (2000). The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*, 405(6789), 907-913.

Hijmans RJ, Cameron SE, Parra JL, Jones PG, Jarvis A (2005) Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology* 25, 1965–1978.

Hlusko, L. J., Schmitt, C. A., Monson, T. A., Brasil, M. F., & Mahaney, M. C. (2016). The integration of quantitative genetics, paleontology, and neontology reveals genetic underpinnings of primate dental evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(33), 9262-9267.

Ho, S. Y. (2007). Calibrating molecular estimates of substitution rates and divergence times in birds. *Journal of Avian Biology*, 38(4), 409-414.

Ho, S. Y., & Duchêne, S. (2014). Molecular-clock methods for estimating evolutionary rates and timescales. *Molecular ecology*, 23(24), 5947-5965.

Holmes, R. T. (1986). Foraging patterns of forest birds: male-female differences. *The Wilson Bulletin* 196-213.

Howell S. y S. Webb. (1995). A guide to the birds of Mexico and Northern Central America. Oxford University Press.

INEGI, CONABIO e INE. (2008). 'Ecorregiones terrestres de México'. Escala 1:1000000. México.

Jones, Robert W.; Obregon-Zuniga, Alejandro; Guzman-Rodriguez, Sandra. (2013). Preliminary assessment of biogeographic affinities of selected insect taxa of the state of Sonora, Mexico. In: Gottfried, Gerald J.; Ffolliott, Peter F.; Gebow, Brooke S.; Eskew, Lane G.; Collins, Loa C. Merging science and management in a rapidly

changing world: Biodiversity and management of the Madrean Archipelago III and 7th Conference on Research and Resource Management in the Southwestern Deserts; 2012 May 1-5; Tucson, AZ. Proceedings. RMRS-P-67. Fort Collins, CO: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station. p. 133-137.

Johnson, K. P., & Sorenson, M. D. (1998). Comparing molecular evolution in two mitochondrial protein coding genes (cytochrome b and ND2) in the dabbling ducks (Tribe: Anatini). *Molecular phylogenetics and evolution* 10(1), 82-94.

Johnson, N. K., & Cicero, C. (2004). New mitochondrial DNA data affirm the importance of Pleistocene speciation in North American birds. *Evolution*, 58(5), 1122-1130.

Jønsson, K. A., Lessard, J. P., & Ricklefs, R. E. (2015). The evolution of morphological diversity in continental assemblages of passerine birds. *Evolution*, 69(4), 879-889.

Kiere, L. M., Hofmann, C. M., Tracy, I. E., Cronin, T. W., Leips, J., & Omland, K. E. (2007). Using color to define species boundaries: Quantitative analysis in the Orchard Oriole complex supports the recognition of two species. *The Condor* 109(3), 692-697.

Knouft, J.H., Losos, J.B., Glor, R.E. & Kolbe, J.J. (2006). Phylogenetic analysis of the evolution of the niche in lizards of the *Anolis sagrei* group. *Ecology*, 87 29–38.

Koleff, P., Urquiza-Haas, T., & Contreras, B. (2012). Prioridades de conservación de los bosques tropicales en México: reflexiones sobre su estado de conservación y manejo. *Revista Ecosistemas* 21(1-2).

Komar, O., & Thurber, W. A. (2003). Predation on Birds by a Cuckoo (Cuculidae), Mockingbird (Mimidae), and Saltator (Cardinalidae). *The Wilson Bulletin*, 115(2), 205-208.

Korbie, D. J., & Mattick, J. S. (2008). Touchdown PCR for increased specificity and sensitivity in PCR amplification. *Nature protocols*, 3(9), 1452-1456.

Lanfear, R., Calcott, B., Ho, S. Y., & Guindon, S. (2012). PartitionFinder: combined selection of partitioning schemes and substitution models for phylogenetic analyses. *Molecular biology and evolution*, 29(6), 1695-1701.

- Li, W. L. S., & Drummond, A. J. (2012). Model averaging and Bayes factor calculation of relaxed molecular clocks in Bayesian phylogenetics. *Molecular biology and evolution*, 29(2), 751-761.
- Luo, A., Qiao, H., Zhang, Y., Shi, W., Ho, S. Y., Xu, W., & Zhu, C. (2010). Performance of criteria for selecting evolutionary models in phylogenetics: a comprehensive study based on simulated datasets. *BMC Evolutionary Biology*, 10(1) 242.
- Leigh, J. W., & Bryant, D. (2015). popart: full-feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology and Evolution*, 6(9), 1110-1116.
- Librado, P., & Rozas, J. (2009). DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11), 1451-1452.
- Lovette, I. J. (2004). Mitochondrial dating and mixed support for the “2% rule” in birds. *The Auk*, 121(1), 1-6.
- Lozano-Jaramillo, M., Rico-Guevara, A., & Cadena, C. D. (2014). Genetic differentiation, niche divergence, and the origin and maintenance of the disjunct distribution in the blossomcrown *Anthocephala floriceps* (Trochilidae). *PloS one*, 9(9), e108345.
- Martin, A. P., & Palumbi, S. R. (1993). Body size, metabolic rate, generation time, and the molecular clock. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(9), 4087-4091.
- McCormack, J. E., Peterson, A. T., Bonaccorso, E., & Smith, T. B. (2008). Speciation in the highlands of Mexico: genetic and phenotypic divergence in the Mexican jay (*Aphelocoma ultramarina*). *Molecular Ecology*, 17(10), 2505-2521.
- McCormack, J.E., Zellmer, A.J. & Knowles, L.L. (2010) Does niche divergence accompany allopatric divergence in Aphelocoma Jays as predicted under ecological speciation?: insights from tests with niche models. *Evolution*, 64 1231–1244.
- Mercer, K., Martínez-Vásquez, Á., & Perales, H. R. (2008). Asymmetrical local adaptation of maize landraces along an altitudinal gradient. *Evolutionary Applications*, 1(3), 489–500.
- Miles, D. B., & Ricklefs, R. E. (1984). The correlation between ecology and morphology in deciduous forest passerine birds. *Ecology*, 65(5), 1629-1640.

- Miller, K. G., Kominz, M. A., Browning, J. V., Wright, J. D., Mountain, G. S., Katz, M. E., ... & Pekar, S. F. (2005). The Phanerozoic record of global sea-level change. *Science*, 310(5752), 1293-1298.
- Mooers, A. Ø., & Harvey, P. H. (1994). Metabolic rate, generation time, and the rate of molecular evolution in birds. *Molecular phylogenetics and evolution*, 3(4), 344-350.
- Mosimann, J. E., & James, F. C. (1979). New statistical methods for allometry with application to Florida red-winged blackbirds. *Evolution*, 444-459.
- Mulcahy, D. G., Morrill, B. H., & Mendelson, J. R. (2006). Historical biogeography of lowland species of toads (*Bufo*) across the Trans-Mexican Neovolcanic Belt and the Isthmus of Tehuantepec. *Journal of Biogeography*, 33(11), 1889-1904.
- Nabholz, B., Glémin, S., & Galtier, N. (2009). The erratic mitochondrial clock: variations of mutation rate, not population size, affect mtDNA diversity across birds and mammals. *BMC Evolutionary Biology*, 9(1), 54.
- Navarro, A.G., Peterson, A.T., Gordillo-Martínez, A. (2003). Museums working together: the atlas of the birds of Mexico. *Bull. Br. Ornithol. Club* 123A, 207–225.
- Navarro-Sigüenza, A. G., & Peterson, A. T. (2004). An alternative species taxonomy of the birds of Mexico. *Biota Neotropica*, 4(2), 1-32.
- Navarro, A. G. & A. T. Peterson (2007) '*Piaya cayana* (cuclillo canela) residencia permanente. Distribución potencial'. Extraído del proyecto CE015: 'Mapas de las aves de México basados en WWW'. Museo de Zoología, Facultad de Ciencias, UNAM & University of Kansas, Museum of Natural History. Financiado por la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). México.
- Navarro-Sigüenza, A. G., Townsend Peterson, A., Nyari, A., García-Deras, G. M., & García-Moreno, J. (2008). Phylogeography of the Buarremon brush-finch complex (Aves, Emberizidae) in Mesoamerica. *Molecular phylogenetics and evolution*, 47(1), 21-35.

- Navarro-Sigüenza, A. G., García-Hernández, M. A., & Peterson, A. T. (2013). A new species of Brush-Finch (Arremon; Emberizidae) from western Mexico. *The Wilson Journal of Ornithology* 125(3), 443-453.
- Nei, M. (1987). *Molecular evolutionary genetics*. Columbia university press.
- Omland, K. E., Lanyon, S. M., & Fritz, S. J. (1999). A molecular phylogeny of the New World orioles (Icterus): the importance of dense taxon sampling. *Molecular phylogenetics and evolution*, 12(2), 224-239.
- Ornelas, J. F., Sosa, V., Soltis, D. E., Daza, J. M., González, C., Soltis, P. S., ...& Ruiz-Sanchez, E. (2013). Comparative phylogeographic analyses illustrate the complex evolutionary history of threatened cloud forests of northern Mesoamerica. *PloS one*, 8(2), e56283.
- Ortega-Andrade, H. M., Rojas-Soto, O. R., Valencia, J. H., de los Monteros, A. E., Morrone, J. J., Ron, S. R., & Cannatella, D. C. (2015). Insights from integrative systematics reveal cryptic diversity in *Pristimantis* frogs (Anura: Craugastoridae) from the upper Amazon Basin. *PloS one*, 10(11), e0143392.
- Ortiz-Ramírez, M. F., Andersen, M. J., Zaldívar-Riverón, A., Ornelas, J. F., & Navarro-Sigüenza, A. G. (2016). Geographic isolation drives divergence of uncorrelated genetic and song variation in the Ruddy-capped Nightingale-Thrush (*Catharus frantzii*; Aves: Turdidae). *Molecular phylogenetics and evolution*, 94, 74-86.
- Otto-Bliesner BL, Marshall SJ, Overpeck JT, Miller GH, Hu A. (2006). Simulating arctic climate warmth and ice field retreat in the last interglaciation. *Science* 311, 1751–1753.
- Ottvall, R., Bensch, S., Walinder, G., & Lifjeld, J. T. (2002). No evidence of genetic differentiation between lesser redpolls *Carduelis flammea* cabaret and common redpolls *Carduelis f. flammea*. *Avian Science*, 2(4), 237-244.
- Paterlini, M. (2007). There shall be order. *EMBO reports*, 8(9), 814-816.
- Payne, R. B. (1997). in del Hoyo, J., Elliott, A., and Sargatal, J., Eds. "Handbook of the Birds of the World. Vol. 4. Sandgrouse to Cuckoos." Lynx Edicions, Barcelona.

- Payne, R. B. (2005). *The cuckoos*. Oxford University Press, New York, New York.
- Pennington, T., R., Prado, D. E., & Pendry, C. A. (2000). Neotropical seasonally dry forests and Quaternary vegetation changes. *Journal of Biogeography*, 27(2), 261-273.
- Peters, J. L. (1940). Check-list of birds of the world. Volume 4. Museum of Comparative Zoology, Cambridge, Massachusetts.
- Peterson, A. T. (2006). Uses and requirements of ecological niche models and related distributional models. *Biodiversity Informatics*, 3, 59-72.
- Peterson, A. T., & Soberón, J. (2012). Species distribution modeling and ecological niche modeling: getting the concepts right. *Natureza & Conservação*, 10(2), 102-107.
- Peterson, A.T. & Vieglais, D.A. (2001) Predicting species invasions using ecological niche modeling: new approaches from bioinformatics attack a pressing problem. *BioScience*, 51, 363–371.
- Pereira, S. L., & Baker, A. J. (2006). A mitogenomic timescale for birds detects variable phylogenetic rates of molecular evolution and refutes the standard molecular clock. *Molecular biology and evolution*, 23(9), 1731-1740.
- Phillips SJ, Anderson RP, Schapire RE. (2006). Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling*, 190, 231–259.
- Piratelli, A., & Pereira, M. R. (2002). Dieta de aves na região leste de Mato Grosso do Sul, Brasil. *Ararajuba*, 10(2), 131-139.
- Posada, D., & Crandall, K. A. (2001). Intraspecific gene genealogies: trees grafting into networks. *Trends in ecology & evolution*, 16(1), 37-45.
- Prieto-Torres, D. A., Navarro-Sigüenza, A. G., Santiago-Alarcon, D., & Rojas-Soto, O. R. (2016). Response of the endangered tropical dry forests to climate change and the role of Mexican Protected Areas for their conservation. *Global change biology*, 22(1), 364-379.

- Prum, R. O., Berv, J. S., Dornburg, A., Field, D. J., Townsend, J. P., Lemmon, E. M., & Lemmon, A. R. (2015). A comprehensive phylogeny of birds (Aves) using targeted next-generation DNA sequencing. *Nature*, 526, 569–73.
- Puebla-Olivares, F., Bonaccorso, E., De Los Monteros, A. E., Omland, K. E., Llorente-Bousquets, J. E., Peterson, A. T., & Navarro-Sigüenza, A. G. (2008). Speciation in the emerald toucanet (*Aulacorhynchus prasinus*) complex. *The Auk*, 125(1), 39-50.
- Pyron, R.A. & Burbrink, F.T. (2009) Lineage diversification in a widespread species: roles for niche divergence and conservatism in the common kingsnake, *Lampropeltis getula*. *Molecular Ecology*, 18, 3443–3457.
- Pyron, R. A., Costa, G. C., Patten, M. A., & Burbrink, F. T. (2015). Phylogenetic niche conservatism and the evolutionary basis of ecological speciation. *Biological Reviews*, 90(4), 1248-1262.
- Rambaut A, Suchard MA, Xie D & Drummond AJ (2014). Tracer v1.6, Recuperado de: <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>
- Ramos-Onsins, S. E., & Rozas, J. (2002). Statistical properties of new neutrality tests against population growth. *Molecular biology and evolution* 19(12) 2092-2100.
- Raw, A. (1997). Avian predation on individual neotropical social wasps (Hymenoptera, Vespidae) outside their nests. *Ornitologia Neotropical*, 8, 89-92.
- Reeder, T. W., Townsend, T. M., Mulcahy, D. G., Noonan, B. P., Wood Jr, P. L., Sites Jr, J. W., & Wiens, J. J. (2015). Integrated analyses resolve conflicts over squamate reptile phylogeny and reveal unexpected placements for fossil taxa. *PLOS one*, 10(3), e0118199.
- Repenning, M., Basso, H. C. D. P., Rossoni, J. R., Krügel, M. M., & Fontana, C. S. (2009). Análise comparativa da dieta de quatro espécies de cucos (Aves: Cuculidae), no sul do Brasil. *Zoologia* 26(3).
- Ridgway, R. (1916). The birds of North and Middle America: a descriptive catalogue of the higher groups, genera, species, and subspecies of birds known to occur in North

America, from the Arctic lands to the Isthmus of Panama, the West Indies and other islands of the Caribbean sea, and the Galapagos Archipelago. Govt. Print. Off.

- Ríos-Muñoz, C. A. (2009). Efectos del Pleistoceno en los patrones de distribución de la biota de las tierras bajas de Mesoamérica. Tesis de doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Ríos-Muñoz, C. A., & Navarro-Sigüenza, A. G. (2012). Patterns of species richness and biogeographic regionalization of the avifaunas of the seasonally dry tropical forest in Mesoamerica. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 47(3), 171-182.
- Rising, J. D., & Somers, K. M. (1989). The measurement of overall body size in birds. *The Auk*, 666-674.
- Rodríguez-Gómez, F., Gutiérrez-Rodríguez, C., & Ornelas, J. F. (2013). Genetic, phenotypic and ecological divergence with gene flow at the Isthmus of Tehuantepec: the case of the azure-crowned hummingbird (*Amazilia cyanocephala*). *Journal of Biogeography*, 40(7), 1360-1373.
- Rodríguez-Ojeda, L. (2014). Construcción de kernels y funciones de densidad. Recuperado de: <http://www.dspace.espol.edu.ec/xmlui/handle/123456789/25019> [5 de mayo 2017]
- Rogers, A. R., & Harpending, H. (1992). Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular biology and evolution*, 9(3), 552-569.
- Rojas-Soto, O. R. (2003). Geographic variation of the curve-billed thrasher (*Toxostoma curvirostre*) complex. *The Auk* 120(2), 311-322.
- Rojas-Soto, O. R., Alcántara-Ayala, O., & Navarro, A. G. (2003). Regionalization of the avifauna of the Baja California Peninsula, Mexico: a parsimony analysis of endemism and distributional modelling approach. *Journal of Biogeography*, 30(3), 449-461.
- Ronquist, F., & Huelsenbeck, J. P. (2003). MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19(12), 1572-1574.

- Ronquist, F., Huelsenbeck, J. P., & Teslenko, M. (2011). MrBayes 3.2 Draft MrBayes version 3.2 Manual: Tutorials and Model Summaries .http://mrbayes.sourceforge.net/mb3.2_manual.pdf
- Rovito, S. M., Parra-Olea, G., Vásquez-Almazán, C. R., Luna-Reyes, R., & Wake, D. B. (2012). Deep divergences and extensive phylogeographic structure in a clade of lowland tropical salamanders. *BMC evolutionary biology*, 12(1), 255.
- Sánchez-González, L. A., & Moyle, R. G. (2011). Molecular systematics and species limits in the Philippine fantails (Aves: Rhipidura). *Molecular phylogenetics and evolution*, 61(2) 290-299.
- Shapiro, S. S., & Wilk, M. B. (1965). An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika*, 52(3-4), 591-611.
- Sharpe, R. B. (1900). Hand-List of the Genera and Species of Birds. Volume 2. British Museum (Natural History), London, UK.
- Shields, G. F., & Wilson, A. C. (1987). Calibration of mitochondrial DNA evolution in geese. *Journal of Molecular Evolution*, 24(3), 212-217.
- Slatkin, M. (1987). Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science* 236, 787-793.
- Smith, B. T., & Klicka, J. (2010). The profound influence of the Late Pliocene Panamanian uplift on the exchange, diversification, and distribution of New World birds. *Ecography*, 33(2), 333-342.
- Smith, B. T., McCormack, J. E., Cuervo, A. M., Hickerson, M. J., Aleixo, A., Cadena, C. D., ...& Brumfield, R. T. (2014). The drivers of tropical speciation. *Nature*, 515(7527), 406-409.
- Smith, B.T., Ribas, C.C., Whitney, B.M., Hernández-Baños, B.E. & Klicka, J. (2013). Identifying biases at different spatial and temporal scales of diversification: a case study in the Neotropical parrotlet genus *Forpus*. *Molecular Ecology*, 22, 483–494.

- Sorenson, M. D., Ast, J. C., Dimcheff, D. E., Yuri, T., & Mindell, D. P. (1999). Primers for a PCR-based approach to mitochondrial genome sequencing in birds and other vertebrates. *Molecular phylogenetics and evolution* 12(2) 105-114.
- Sorenson, M. D. & Payne, R. B. (2005) in *The Cuckoos*. Oxford University Press. 68–94.
- Stacklies, W., Redestig, H., Scholz, M., Walther, D., & Selbig, J. (2007). pcaMethods—a bioconductor package providing PCA methods for incomplete data. *Bioinformatics*, 23(9), 1164-1167.
- Stamatakis, A. (2006). RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics*, 22(21), 2688-2690.
- Stone, W. (1908). A review of the genus *Piaya* Lesson. Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia, 492-501.
- Sueyoshi T, Ohgaito R, Yamamoto A, Chikamoto MO, Hajima T. 2013). Set-up of the PMIP3 paleoclimate experiments conducted using an Earth system model, MIROC-ESM. *Geoscientific Model Development* 6, 819–836.
- Sullivan, J., Arellano, E., & Rogers, D. S. (2000). Comparative phylogeography of Mesoamerican highland rodents: concerted versus independent response to past climatic fluctuations. *The American Naturalist* 155(6), 755-768.
- Tajima, F. (1989). Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123(3), 585-595.
- Vázquez-Miranda, H., Navarro-Sigüenza, A. G., & Omland, K. E. (2009). Phylogeography of the Rufous-naped Wren (*Campylorhynchus rufinucha*): speciation and hybridization in Mesoamerica. *The Auk*, 126(4), 765-778.
- Warren, D. L., Glor, R. E., & Turelli, M. (2008). Environmental niche equivalency versus conservatism: quantitative approaches to niche evolution. *Evolution*, 62(11) 2868-2883.
- Weir, B. S., & Cockerham, C. C. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 1358-1370.

- Wuester, W., Ferguson, J. E., Quijada-Mascareñas, J. A., Pook, C. E., Da Graca Salomao, M., & Thorpe, R. S. (2005). Tracing an invasion: landbridges, refugia, and the phylogeography of the Neotropical rattlesnake (Serpentes: Viperidae: *Crotalus durissus*). *Molecular Ecology*, 14(4), 1095-1108.
- Xie, W., Lewis, P. O., Fan, Y., Kuo, L., & Chen, M. H. (2011). Improving marginal likelihood estimation for Bayesian phylogenetic model selection. *Systematic biology*, 60(2) 150-160.
- Yang, Z. (1996). Among-site rate variation and its impact on phylogenetic analyses. *Trends in Ecology & Evolution*, 11(9), 367-372.
- Yang, Z. (2007). PAML 4: phylogenetic analysis by maximum likelihood. *Molecular biology and evolution*, 24(8), 1586-1591.
- Yezerinac, S. M., Loughheed, S. C., & Handford, P. (1992). Measurement error and morphometric studies: statistical power and observer experience. *Systematic Biology*, 41(4), 471-482.
- Zink, R.M. & Remsen Jr, J.V. (1986). Evolutionary processes and patterns of geographic variation in birds. In: Johnston, F. (Ed.), *Current Ornithology*. Vol. 4. Plenum Press, New York, pp. 1–69.
- Zink, R. M. (2002). Methods in comparative phylogeography, and their application to studying evolution in the North American aridlands. *Integrative and Comparative Biology*, 42(5), 953-959.

ANEXO 8. LISTA DE MUESTRAS Y LOCALIDADES USADAS EN LOS ANÁLISIS FILOGENÉTICOS.

No. Colecta	Especie	Subespecie	País	Estado o departamento	Localidad	Lat	Long
AMT 264	<i>Piaya cayana</i>	<i>thermophila</i>	México	Chiapas	Pijijiapan, Rancho Nueva Ensenada, Col. Miguel Alemán Valdés	15.56094444	-93.01686111
ANSP 21862	<i>Piaya melanogaster</i>		Guyana				
CHIS 135	<i>Piaya cayana</i>	<i>thermophila</i>	México	Chiapas	Laguna la Joya 1.7 km E del Rancho El Vergel	15.995455	-93.72381
CHIS 136	<i>Piaya cayana</i>	<i>thermophila</i>	México	Chiapas	Laguna la Joya 1.7 km E del Rancho El Vergel	15.995455	-93.72381
CHIS 144	<i>Piaya cayana</i>	<i>thermophila</i>	México	Chiapas	Laguna la Joya 1.7 km E del Rancho El Vergel	15.995455	-93.72381
CHIS 145	<i>Piaya cayana</i>	<i>thermophila</i>	México	Chiapas	Laguna la Joya 1.7 km E del Rancho El Vergel	15.995455	-93.72381
CHIS 332	<i>Piaya cayana</i>	<i>thermophila</i>	México	Chiapas	Rancho Santiago Bellavista a 2.23 km NW de la Polka	16.01277778	-93.78027778
CONACYT 1444	<i>Piaya cayana</i>	<i>thermophila</i>	México	Oaxaca	Nizanda, El Naranjo	16.7924999	-95.04249999
CONACYT 1454	<i>Piaya cayana</i>	<i>thermophila</i>	México	Oaxaca	Nizanda, Agua Tibia	16.6706194	-95.0116222
CONACYT 1475	<i>Piaya cayana</i>	<i>thermophila</i>	México	Oaxaca	Nizanda, Camino al Aguaje	16.632563	-94.990109
CONACYT 459	<i>Piaya cayana</i>	<i>thermophila</i>	México	San Luis Potosí	San Nicolás de los Montes, La Mesa	22.12166667	-99.425
CPM 222	<i>Piaya cayana</i>	<i>mexicana</i>	México	Nayarit	Salazares	21.6774166	-104.9743056
CWT 088	<i>Piaya cayana</i>		México				
KU 16728	<i>Piaya cayana</i>		Perú	Ayacucho			
KU 18609	<i>Piaya cayana</i>		Perú	Cusco	ca. Alto Manguriari	-12.565	-73.08667
KU 18746	<i>Piaya cayana</i>		Perú	Cusco			
KU 2082	<i>Piaya cayana</i>	<i>thermophila</i>	Mexico	Campeche	El Arroyo, 6 Km S Silvituc	18.59277778	-90.25611111
KU 21449	<i>Piaya cayana</i>		Perú		above San Juan del Oro	-14.231	-69.194
KU 21479	<i>Piaya cayana</i>		Perú	Puno			
KU 3109	<i>Piaya cayana</i>		Paraguay		Alto Paraguay, W bank Rio Negro, 8 km above mouth	-20.1	-58.13333

No. Colecta	Especie	Subespecie	País	Estado o departamento	Localidad	Lat	Long
KU 3577	<i>Piaya cayana</i>		Paraguay		Itapua, San Rafael N.P., San Pedro Mi	-26.51666667	-55.8
KU 4951	<i>Piaya cayana</i>	<i>thermophila</i>	El Salvador		Canton Joya El Matazano, Cerro Cacahuatique	13.762	-88.2
KU 7951	<i>Piaya cayana</i>	<i>thermophila</i>	El Salvador		Parque Nacional Montecristo	14.35203	-89.4052
MOLGRO 681	<i>Piaya cayana</i>	<i>mexicana</i>	México	Guerrero	Zihuatanejo, Barra de Potosi	17.56552	-101.43359
NISA 128 pc	<i>Piaya cayana</i>	<i>thermophila</i>	México	Oaxaca	Nizanda, Camino a las Sabanas	16.677953	-95.02317
NISA 137	<i>Piaya cayana</i>	<i>thermophila</i>	México	Oaxaca	Pueblo de Nizanda	16.65	-95
SFP 001	<i>Piaya cayana</i>	<i>mexicana</i>	México	Mexico	Delegación de San Francisco los Pinzanes, Amatepec	18.6906667	-100.332333
SFP 014	<i>Piaya cayana</i>	<i>mexicana</i>	México	Mexico	Delegación de San Francisco los Pinzanes, Amatepec	18.6906667	-100.332333
SIN 131	<i>Piaya cayana</i>	<i>mexicana</i>	México	Sinaloa	El Magistral 2 km Oeste del Pueblo	23.36777778	-105.9744444
SOSI 147	<i>Piaya cayana</i>	<i>thermophila</i>	México	Chiapas	Reserva El Silencio	14.67249	-92.23057
URRA 068	<i>Piaya cayana</i>	<i>mexicana</i>	México	Jalisco	Paso Real, Vado a Chachahuatlán	19.61334	-103.96568
YUC13 234	<i>Piaya cayana</i>	<i>thermophila</i>	México	Yucatán	Cenotillo 8.5 km S	20.89919444	-88.61477778