

00322



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

56

FACULTAD DE CIENCIAS

"LIMTES DE ESPECIES DENTRO DEL COMPLEJO
Cynanthus latirostris (AVES: TROCHILIDAE)"

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G A
P R E S E N T A
GABRIELA MARGARITA GARCIA DERA



DIRECTORA DE TESIS: DRA. BLANCA ESTELA HERNANDEZ BAROS

MEXICO, D. F.



2003

FACULTAD DE CIENCIAS
SECCION ESCOLAR

TESIS CON
CALA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

PAGINACION

DISCONTINUA



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Gabriela Margarita García Deras

FECHA: 19-Agosto-2003

FIRMA: [Firma manuscrita]

DRA. MARÍA DE LOURDES ESTEVA PERALTA

Jefa de la División de Estudios Profesionales de la

Facultad de Ciencias

Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo escrito: "Límites de especies dentro del complejo Cyananthus latirostris (Aves: Trochilidae)"

realizado por **Gabriela Margarita García Deras**

con número de cuenta 9853547-7 , quien cubrió los créditos de la carrera de: Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis Propietario	Dra. Blanca Estela Hernández Baños	<u>[Firma]</u>
Propietario	Dr. Adolfo Gerardo Navarro Sigüenza	<u>[Firma]</u>
Propietario	M. en C. Livia Socorro León Paniagua	<u>[Firma]</u>
Suplente	M. en C. Laura Margarita Márquez Valdelamar	<u>[Firma]</u>
Suplente	Biól. Tania Escalante Espinosa	<u>[Firma]</u>

Consejo Departamental de Biología

[Firma]
M. en C. Juan Manuel Rodríguez Chávez

FACULTAD DE CIENCIAS



UNIDAD DE ENSEÑANZA DE BIOLOGÍA

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

Para la realización de las diferentes actividades relacionadas con este trabajo se contó con el apoyo financiero de CONACYT (R-27961), DGAPA (IN-208700), del Programa de Apoyo a Becas de Tesis de Licenciatura (Probetel) y del programa de Becas Pequeñas de "The Hummingbird Society".

A mis padres, Margarita y Carlos,
por su confianza en mi, su amor y
apoyo incondicional

A mis abuelitos, Ernesto y Margarita,
por darme lo mejor de ellos

A mi familia
por estar siempre conmigo

A Luis Octavio Deras Prado +

A Samuel
por el amor y apoyo que me brinda
en cada instante

AGRADECIMIENTOS

Son muchas las personas a las que quiero agradecer su participación y contribución en mi formación académica y personal además de la realización del presente trabajo, espero que este espacio sea suficiente y de antemano pido una disculpa sincera si omito algún nombre.

Quiero agradecer a mi directora de tesis, la Dra. Blanca Hernández por haberme aceptado como su alumna, por darme todo su apoyo y compartir conmigo sus conocimientos y experiencia. De manera especial quiero agradecer al Dr. Adolfo Navarro por su confianza al haberme aceptado en el Museo de Zoología e iniciarme en el mundo fascinante de las aves y la sistemática.

Agradezco a mis amigas y compañeras de equipo ("Club de Lulú") Nanda y Magali su ayuda y apoyo no sólo en el trabajo de laboratorio sino también por incursionar junto conmigo en el mundo de la sistemática molecular.

Con mucho cariño agradezco a quienes me acompañaron a campo e hicieron posible la colecta de mis ejemplares compartiendo momentos inolvidables: Sam, Luis (Howell), Chente, Bruno, Yoshi, César, Nanda, David (Sherpa) y Adolfo (don Fofo). De igual forma, quiero agradecer a quienes contribuyeron a mejorar el presente trabajo con sus valiosos comentarios y ayuda: Octavio, Fer, Elsa, Gaby Momotus, Gordillé, Erick, Esteban, Iván, Hernán.

Quiero agradecer a mis sinodales, Dra. Blanca Hernández, Dr. Adolfo Navarro, M. en C. Livia León, M. en C. Laura Márquez y Biól. Tania Escalante por los valiosos comentarios y consejos que permitieron mejorar el presente trabajo. De manera particular, agradezco al Field Museum of Natural History de Chicago, E. U. por enviar muestras de tejidos y al Dr. Alejandro Espinosa de los Monteros (Instituto de Ecología, A.C.) por su invaluable ayuda y paciencia en la obtención de las secuencias de las muestras para este trabajo.

A mis amigos y compañeros de quienes he aprendido mucho y compartido tantos ratos agradables e inolvidables: Mirza, Laura, Whaleeha, Paco, Chava, Pepe, Karla, Irene, Mónica (Sushi), Ceci, Fer, Mónica (Mendoza), Javier. De manera especial agradezco al M. en C. Julián Náder por haberme mostrado el mundo de la Biología.

INDICE

Resumen	i
Introducción	1
Antecedentes	3
Generalidades de la Familia Trochilidae	4
El Género <i>Cyananthus</i>	6
Objetivos	15
Métodos	16
Resultados	23
Discusión	33
Conclusiones	37
Literatura citada	40

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.- Mapa de distribución de <i>Cyananthus sordidus</i> y del complejo <i>Cyananthus latirostris</i>	11
Figura 2.- Modelo de 2 parámetros de Kimura	20
Figura 3.- Composición nucleotídica del gen ND2 para todos los haplotipos	24
Figura 4.- Composición nucleotídica del gen ND2 del género <i>Cyananthus</i>	24
Figura 5.- Número de transiciones y transversiones en el gen ND2 para las especies de <i>Cyananthus</i>	25
Figura 6.- Árbol de distancia obtenido por el método de Evolución Mínima	26
Figura 7.- Árbol de parsimonia (consenso de mayoría)	28
Figura 8.- Matriz de distancia de los veintinueve haplotipos diferentes que incluyen al género <i>Cyananthus</i> y grupo externos	29
Figura 9.- Distribución "mismatch" de <i>Cyananthus sordidus</i>	31
Figura 10.- Distribución "mismatch" de <i>Cyananthus doubledayi</i>	31
Figura 11.- Distribución "mismatch" de <i>Cyananthus latirostris</i>	32
Figura 12.- Mapa de distribución de las tres especies reconocidas en el presente trabajo para el género <i>Cyananthus</i>	39

CUADROS

Cuadro 1.- Taxonomía propuesta por diferentes autores para el género <i>Cynanthus</i>	8
Cuadro 2.- Valores de diversidad nucleotídica	30
Cuadro 3.- Distribución de las tres especies del género <i>Cynanthus</i> reconocidas por el presente trabajo	37

APÉNDICES

Apéndice 1 Número de catálogo de campo, museos, estados y localidades de las muestras utilizadas en el presente trabajo y haplotipo al que corresponde cada ejemplar	53
Apéndice 2 Secuencias del fragmento amplificado del gen ND2 para los 16 haplotipos diferentes correspondientes al género <i>Cynanthus</i> y 13 de los grupos externos	55

Resumen

Los colibríes constituyen un grupo muy diverso y ecológicamente importante de aves neotropicales. Poco se conoce acerca de sus relaciones filogenéticas y una causa de ello es que la gran mayoría de los estudios taxonómicos previos se concentraron en el análisis de caracteres morfológicos de un grupo pequeño de taxones. Debido a esto se ha dificultado el obtener una filogenia robusta así como establecer los límites de especies de diferentes taxones con caracteres morfológicos, es por eso que el presente trabajo genera una hipótesis sobre los límites de especies del complejo *Cyananthus latirostris* utilizando el gen mitocondrial ND2.

Se secuenció un total de 50 individuos del que se obtuvieron 29 haplotipos diferentes. Un total de 350 pares de bases se definieron, de las cuales 152 son sitios conservados, 199 son variables y 125 son filogenéticamente informativos. La topología de los árboles de distancia y de parsimonia son similares así como sus altos valores de apoyo a las ramas ("bootstrap"). Se obtuvo un árbol de consenso de mayoría ("bootstrap" mayores a 80), donde se definen como unidades de historia a *Cyananthus latirostris*, *C. doubledayi* y *C. sordidus*, las cuales se pueden considerar como especies filogenéticas.

Abstract

Hummingbirds (Trochilidae) are a diverse and ecologically important group of Neotropical birds. The phylogenetic relationships in the group remain poorly understood because morphological, myological and other morphologic characters are usually convergent, and do not necessarily reflect their levels of genetic divergence. To obtain a robust phylogeny and establishing species limits of different species' complex within this group has been difficult due to the use of single sets of morphological characters. This work provides a hypothesis regarding the species limits of the Broad-billed hummingbird (*Cyananthus latirostris*) complex using mitochondrial DNA gene ND2.

A fragment of 350 base pairs was sequenced for a total of 50 individuals. We obtained 29 different haplotypes. Maximum-parsimony analysis indicates the monophyly of the genus and supports the existence of three independent phylogenetic lineages: *Cyananthus latirostris*, *C. doubledayi* and *C. sordidus*.

Key words: Species limits, Broad-billed hummingbird, ND2, mitochondrial genes.

INTRODUCCIÓN

Los trabajos sobre sistemática en aves han abordado durante mucho tiempo el problema de la aplicación de diferentes conceptos de especie (e.g. Mayr 1942, 1969, Wiley 1978, Cracraft 1983, 1987, 1989, McKittrick y Zink 1988) mientras que se le ha dado poca atención a delimitar de manera empírica los límites de especies de un complejo de especies (Sites y Marshall en prensa). Sin embargo, hacia finales del siglo XX este tema ha adquirido un renovado interés y la descripción de nuevas técnicas ha permitido abordar esta problemática dentro de un marco estadístico riguroso.

Por "complejo" se define a un grupo de taxones relacionados entre sí, los cuales pueden ser subespecies, especies, géneros, etc. cuyos límites geográficos y taxonómicos no están bien entendidos o delimitados (Rojas-Soto 1998). Establecer los límites de especies del grupo de estudio es el primer paso para entender mecanismos y procesos evolutivos así como para definir los límites dentro o a través de los cuales ocurren tales eventos (Sites y Marshall en prensa) y para reconstruir las relaciones filogenéticas del grupo.

Este es el caso del complejo *Cyananthus latirostris* Swainson, el cual está conformado por seis subespecies: *lawrencei*, *doubledayi*, *toroi*, *propinquus*, *latirostris* y *magicus* (Peters 1945, Friedmann *et al.* 1950, Johnsgard 1983, Schuchmann 1999). La historia taxonómica de este género ha estado en continuo cambio debido a que diferentes autores a lo largo del tiempo han reconocido algunas de las subespecies de este complejo y otros han propuesto elevarlas a nivel de especie (Ridgway 1911, Howell y Webb 1995, Navarro y Peterson 1999).

La existencia de grupos de aves con una gran diversidad de especies, e incluso de complejos de especies, como las familias Emberizidae, Tyrannidae y Sylviidae, además de Trochilidae (Torres-Chávez 1992, Ornelas 1996, López De Aquino 2003) se debe a la gran variedad de recursos y ambientes que existe en México (Mittermeier y Goetsch 1992). La diversidad de recursos y la gran adaptabilidad que presentan los colibríes, hace de este grupo uno de los más diversos en cuanto a número de especies se refiere (Ornelas 1984, Gerwin y Zink

1998). En México existen alrededor de 66 especies de las cuales 20 son endémicas (Navarro y Peterson, en revisión).

Tradicionalmente, la mayoría de los trabajos sobre sistemática de colibríes se han basado principalmente en el análisis de caracteres morfológicos y algunos han explorado el uso de otro tipo de caracteres ya sea ecológicos o etológicos (e.g. Bleiweiss 1990, Ornelas *et al.* 2002, Ornelas *et al.* inédito). Sin embargo, en la mayoría de los casos, la información proveniente de datos morfológicos no ha sido suficiente para delimitar las especies ni para establecer las relaciones filogenéticas de los organismos (Hillis 1987, Gerwin y Zink 1998). Por lo anterior, el número de trabajos de sistemática molecular en este grupo se ha incrementado, en particular las secuencias de DNA mitocondrial (mtDNA) (Matson 1984, e.g. Sibley *et al.* 1974, Zusi y Bentz 1982, Stiles 1983, Graves 1986, Gerwin y Zink 1989, Gill y Gerwin 1989, Sibley y Ahlquist 1990, Hackett 1996, García-Moreno *et al.* 1999a y b, 2001, Cicero y Johnson 2001).

El objetivo del presente trabajo es establecer los posibles límites de especies dentro del complejo *Cyananthus latirostris* utilizando la variación encontrada en el mtDNA (Nieto Montes de Oca y Llorente 1994, Gerwin y Zink 1998).

ANTECEDENTES

Los primeros estudios sistemáticos en colibríes (e.g. Gould 1861, Boucard 1895, Simon 1921, Zimmer 1950-1953) consistieron en descripciones de las especies y algunos aspectos generales de su variación geográfica pero no establecieron claramente las relaciones entre ellos (Gerwin y Zink 1998).

El número de trabajos que se han realizado sobre el grupo de los colibríes varía por especie y género así como por tema. La mayoría, no sólo para México, sino en general, se han enfocado en aspectos ecológicos (e.g. Montgomerie y Gass 1981, Montgomerie 1984, Arizmendi y Ornelas 1990, Martínez del Río 1990, Parra *et al.* 1993, Lara y Ornelas 1998), algunos de conducta (Lara 1995) y otros a su evolución (Bleiweiss 1990, Sibley y Ahlquist 1990, Bleiweiss *et al.* 1994, 1997a y b, Gerwin y Zink 1998). Si bien es cierto que para este grupo se tiene conocimiento de aspectos básicos sobre su historia natural, para algunas especies falta aún información sobre cortejo, cuidado parental, reproducción (Ehrlich *et al.* 1988) y taxonomía (Hernández-Baños 1998, Gerwin y Zink 1989, 1998).

La distribución geográfica de los colibríes en México es muy interesante ya que muchas de las especies están restringidas a zonas muy pequeñas, lo que refleja la enorme importancia que tiene este grupo como indicador de los complejos procesos geológicos y ecológicos que han afectado a la región, mismos que han permitido la existencia de una amplia diversidad (la cual se incrementa al reconocerse nuevas especies) y un alto número de endemismos dentro de este grupo (Torres-Chávez y Navarro, 2000).

Así mismo, los patrones biogeográficos que muestran los colibríes indican la compleja historia evolutiva de pequeñas regiones que cuentan con especies endémicas como lo son la Sierra de Miahuatlán, en Oaxaca (*Amazilia wagneri*, *Eupherusa cyanophrys*); los parches de selva mediana de la Sierra Madre del Sur de Guerrero (*Lophornis brachylopha*, *Eupherusa poliocerca*); la Sierra de los Tuxtlas (*Campylopterus excellens*); las zonas áridas del norte de la península de Yucatán (*Doricha eliza*), la Cuenca del Balsas (*Cyananthus sordidus*), la región del

Cabo (*Hylocharis xantusii*), las Islas Tres Marias (*Cyananthus lawrencei*) y la planicie costera del Pacífico Sur (*Cyananthus doubledayi*) (Torres-Chávez y Navarro, 2000).

GENERALIDADES DE LA FAMILIA TROCHILIDAE

La familia Trochilidae, junto con Apodidae y Hemiprocnidae (vencejos) constituye el orden de los Apodiformes (AOU 1998). La familia de los Trochilidae o colibríes sólo se distribuye en el continente americano presentando su mayor diversidad en Sudamérica (Johnsgard 1983, Ornelas 1996, Schuchmann 1999). Se les puede encontrar en una gran variedad de hábitats, desde el nivel del mar hasta altitudes superiores a 4000 msnm (Ornelas 1996).

La monofilia de este orden es generalmente aceptada entre los ornitólogos y taxónomos. Existen pruebas de que al menos aparecen al mismo tiempo además de compartir algunas características morfológicas como una musculatura cervical modificada o la innervación de los músculos de las alas (Ornelas 1996, Schuchmann 1999). Algunos estudios bioquímicos recientes favorecen también esta división ya que Apodidae y Trochilidae comparten una única forma de la enzima malato deshidrogenasa (Schuchmann 1999). Los resultados de Sibley y Ahlquist (1990) obtenidos mediante la hibridación del DNA corroboran lo anterior, sin embargo, ellos separan a los vencejos en el orden Apodiformes y a los colibríes en el orden Trochiliformes que en conjunto forman el superorden Apodimorphae (Sibley y Ahlquist 1990).

La familia Trochilidae se divide a su vez en dos subfamilias: *Phaethorninae* y *Trochilinae*. Esta división se basa principalmente en que los *Phaethorninae* (6 géneros) presentan (1) un tendón humeral característico distinto de *Trochilinae*, (2) su pigmentación es predominantemente café, gris y rojiza, (3) los colores iridiscentes son escasos y están limitados a la cabeza (Schuchmann 1999). La subfamilia *Trochilinae* está compuesta por 102 géneros y 328 especies de las cuales 65 se distribuyen en México (Howell y Webb 1995, Schuchmann 1999).

Los colibríes son aves pequeñas que miden en promedio 10 a 13 cm. y presentan plumajes iridiscentes constituidos por varias capas de queratina que permiten la existencia de diferentes tonalidades debido a los dos tipos de melanina que presentan (Ornelas 1996) y a la refracción de la luz a su paso por las capas; algunos presentan tonos cafés, verdes y canela que no son metálicos (Howell y Webb 1995).

Presentan una variedad de picos los cuales pueden ser generalmente rectos, ligeramente curvos o totalmente decurvados con el fin de tomar el néctar de las flores que polinizan. Sus lenguas son tubulares con surcos donde almacenan el néctar del que se alimentan, sin embargo, las hembras también se alimentan de áfidos, insectos pequeños y arañas, principalmente en época reproductiva (Peterson y Chalif 1989, Prado-Herrera 1998).

Debido a sus hábitos alimenticios, los colibríes necesitan movimientos específicos que les permita revolotear en un mismo sitio al tiempo de alimentarse en las flores. Por este comportamiento único no pueden caminar ni trepar con sus patas sirviéndoles únicamente para percharse. Pueden rotar el ala 180° y al cambiar el ángulo de la misma pueden moverse hacia delante, atrás, arriba, abajo y a los lados (Schuchmann 1999).

En la mayoría de las especies (54%) existe dimorfismo sexual, es decir, que hay diferencia entre el macho y la hembra, presentando los machos adultos plumas brillantes en la garganta y la frente mientras que las hembras son generalmente de color opaco. Construyen su nido en forma de taza con materiales como tallos, hojas y telarañas que decoran con líquen o cabello y colocan en una rama horizontal o en una horqueta. Ponen 2 huevos blancos y el macho no participa en su incubación ni en el cuidado de los pollos (Ehrlich *et al.* 1988, Sibley 2000).

Se conoce poco acerca de las relaciones filogenéticas entre los colibríes debido a dos razones principales: (1) falta de registro fósil y (2) la gran mayoría de los estudios taxonómicos previos se concentraron en el análisis de complejas variaciones morfológicas o en caracteres miológicos o anatómicos de un grupo pequeño de taxones (Schuchmann 1999). Esto refleja la falta de conocimiento integral proveniente de caracteres anatómicos, morfológicos, ecológicos, biogeográficos y de comportamiento lo cual ha llevado a interpretaciones filogenéticas

incorrectas como procesos de convergencia, paralelismo y anagénesis (Schuchmann 1999). Los límites genéricos y relaciones entre especies dentro de los *Trochilinae* están aún pobremente entendidos y estudiados (Ornelas 1996, Schuchmann 1999).

EL GÉNERO *Cynanthus*

Para AOU (1998) el género está compuesto por dos especies: *C. sordidus* y *C. latirostris* (Figura 1). La primera es endémica a México (Navarro y Benítez 1993, Howell y Webb 1995), particularmente a la Cuenca del Balsas en Michoacán, Guerrero, Oaxaca, Morelos y Puebla. La segunda especie, es cuasiendémica a México, se distribuye desde el sur de Arizona en Estados Unidos hasta el norte de Guerrero y Oaxaca y probablemente el extremo oeste de Chiapas y desde Nuevo León y Tamaulipas en el este hasta Oaxaca, Estado de México, Michoacán, Puebla, Distrito Federal, Querétaro, San Luis Potosí, Hidalgo y Guanajuato. Ambas especies son pequeñas, tienen pico rojo con punta negra y resulta difícil distinguir entre las hembras de *C. latirostris* y los machos y hembras de *C. sordidus* (Binford 1985, 1989, Peterson y Chalif 1989).

El colibrí prieto, *C. sordidus* (Gould 1859) es residente en zonas submontanas y bajas dentro de su área de distribución así como de las zonas áridas circundantes. Mide de 9 a 10 cm. de longitud. El macho tiene un pico ligeramente decurvado de color rojo con la punta negra. La corona es verde pálido y los auriculares negruzcos, el resto de las partes superiores son verdedorado. Presentan una línea postocular blanca, garganta café opaco, el pecho y partes inferiores son grisáceas. La cola está ligeramente bifurcada y las cobertoras inferiores son café grisáceas. La hembra es muy similar al macho pero la mandíbula es negra y es de color más pálido mientras que los juveniles son similares a la hembra pero las puntas de las rectrices son pálidas (Howell y Webb 1995, AOU 1998).

El colibrí piquiancho, *Cynanthus latirostris* Swainson 1827, habita principalmente en zonas áridas o semiáridas (Schuchmann, 1999). Mide 9-10 cm. de longitud. El macho presenta el pico recto de color rojo con punta negra, corona, nuca y dorso verde esmeralda y garganta azul a azul-violeta, el resto de las partes inferiores son de color café-verde metálico. La cola está ligeramente horquillada de color azul-negro con rectrices centrales con punta grisácea. La hembra presenta

Límites de especies dentro del complejo *Cyananthus latirostris* (Aves: Trochilidae)

una línea postocular blanca, corona verde mate, dorso dorado-verde a verde esmeralda, garganta y cobertoras inferiores grisáceas. La cola es verde a azul-verde con una banda subterminal azul-negro con puntas blancas. Los juveniles se parecen a la hembra (Howell y Webb 1995, AOU 1998, Schuchmann 1999).

La taxonomía actual divide a *C. latirostris* en dos grupos: *latirostris* y *doubledayi* (Sibley y Monroe 1990, AOU 1998). Algunos autores (Ridgway 1911, Howell y Webb 1995, Navarro y Peterson 1999) consideran a *C. lawrencei* y *C. doubledayi* como especies diferentes de *C. latirostris* y sugieren que *toroi* pueda ser una forma intermedia entre ellas (Cuadro 1).

Límites de especies dentro del complejo *Cyananthus latirostris* (Aves: Trochilidae)

Ridgway (1911)	Peters (1945)	Friedmann et al. (1950)	Howell y Webb (1995)	AOU (1998)	Navarro y Peterson (1999)
<i>Cyananthus latirostris</i>	<i>C. latirostris latirostris</i>	<i>C. latirostris latirostris</i>	<i>C. latirostris</i> (formada por dos grupos: <i>latirostris</i> y <i>lawrencei</i>)	<i>C. latirostris</i> (formada por dos grupos: <i>latirostris</i> y <i>doubledayi</i>)	<i>C. latirostris latirostris</i>
<i>C. latirostris magicus</i>	<i>C. latirostris magicus</i>	<i>C. latirostris magicus</i>			<i>C. latirostris magicus</i>
<i>C. lawrencei</i>	<i>C. latirostris lawrencei</i>	<i>C. latirostris lawrencei</i>			<i>C. lawrencei</i>
<i>C. doubledayi</i>	<i>C. latirostris doubledayi</i>	<i>C. latirostris doubledayi</i>	<i>C. doubledayi</i>		<i>C. doubledayi</i>
		<i>C. latirostris nitida</i> (Salvin y Godman 1889) = <i>C. latirostris doubledayi</i>			<i>C. nitida</i> = <i>doubledayi</i>
	<i>C. latirostris propinquus</i>	<i>C. latirostris propinquus</i>			<i>C. latirostris propinquus</i>
	<i>C. latirostris toroi</i>	<i>C. latirostris toroi</i>	Proponen que <i>toroi</i> es una forma intermedia entre <i>C. latirostris</i> y <i>C. doubledayi</i>		<i>C. latirostris toroi</i>
<i>Phaeonoptila sordida</i>	<i>C. sordidus</i>	<i>C. sordidus</i>	<i>C. sordidus</i>	<i>C. sordidus</i>	<i>C. sordidus</i>

Cuadro 1. Taxonomía propuesta por diferentes autores para el género *Cyananthus*.

Con base en las diferencias morfológicas se han descrito seis subespecies de este complejo (Montes de Oca 1875, Ridgway 1911, Berlioz 1937, Moore 1939, Howell y Webb 1995, Navarro y Peterson 1999, Schuchmann 1999, Figura 1), a continuación se hace una breve descripción de cada una de ellas así como de su distribución geográfica:

- 1) *Cyananthus latirostris latirostris* Swainson 1827. Es residente del centro de México desde Tamaulipas y Veracruz a San Luis Potosí, Estado de México, Hidalgo, Querétaro y Distrito Federal. Presenta pico recto, rojo con punta negra; corona, frente y dorso verde esmeralda, su garganta es azul a azul-violeta; el resto de las partes inferiores son de color verde bronceado metálico. La cola es azul-negra con rectrices centrales con punta gris, está ligeramente bifurcada y las cobertoras inferiores son blanquecinas.
- 2) *Cyananthus latirostris magicus* (Mulsant y Verreaux 1872). Se distribuye en la vertiente del Pacífico desde el sur de Arizona en E. U. hasta el norte de Guerrero. Es muy parecida a *C. latirostris* ya que la garganta también es de color azul iridiscente. Presenta frente, pecho y partes inferiores verde iridiscente, sus cobertoras inferiores son blancas y la cola está ligeramente bifurcada. La población residente en E. U. migra hasta el norte de Guerrero lo que implica que en México se encuentren la población residente y la migratoria al mismo tiempo durante el invierno.
- 3) *Cyananthus latirostris lawrencei* (Berlepsch 1887). Es endémica de las Islas Tres Marias. Su corona, pecho y partes inferiores son verde iridiscente, mientras que la garganta es color verde-turquesa y las cobertoras inferiores son blancas. Su cola está completamente bifurcada.
- 4) *Cyananthus latirostris doubledayi* (Bourcier 1847). Endémica a la costa del Pacífico en Guerrero, Oaxaca y extremo suroeste de Chiapas. Es parecida a la subespecie nominal pero la corona del macho es azul turquesa iridiscente y su garganta es de color azul-violeta. Las partes inferiores son más azuladas, las cobertoras inferiores negras y la cola está ligeramente bifurcada.

- 5) *Cyananthus latirostris propinquus* Moore 1939. Es residente de los alrededores del Lago Cuitzeo en el este de Michoacán y la Laguna de Yuriria en Guanajuato. Es similar a *C. l. magicus* pero es más oscuro tanto en las partes superiores como inferiores. Su corona es verde metálico mientras que el pecho y frente son verde iridiscente y las partes inferiores son azules. Las cobertoras inferiores son blancas y la cola está ligeramente bifurcada.

- 6) *Cyananthus latirostris toroi* (Berlioz 1937). Es residente del sur de Michoacán y norte de Guerrero. Probablemente sea una forma intermedia entre *C. l. latirostris* y *C. l. doubledayi* aunque es más parecida a la primera (Berlioz 1937). El macho se distingue por ser de tamaño menor que *C. l. latirostris*, por su cola completamente bifurcada y por tener partes inferiores verde oscuro que la hace similar a *C. l. magicus*. Presenta frente, pecho y partes inferiores verde iridiscente, garganta azul iridiscente y cobertoras inferiores blancas.

Si se toma en cuenta la variación del color del plumaje del macho, que en el caso de *C. l. doubledayi* y *C. l. lawrencei* el color de la garganta es diferente y si se considera además el aislamiento geográfico entre las subespecies puede establecerse que el género *Cyananthus* está constituido por cuatro unidades diagnosticables que pueden ser considerados como linajes filogenéticos independientes: *C. sordidus*, *C. latirostris*, *C. lawrencei* y *C. doubledayi* (Navarro y Peterson, 1999).

Límites de especies dentro del complejo *Cyananthus latirostris* (Aves: Trochilidae)

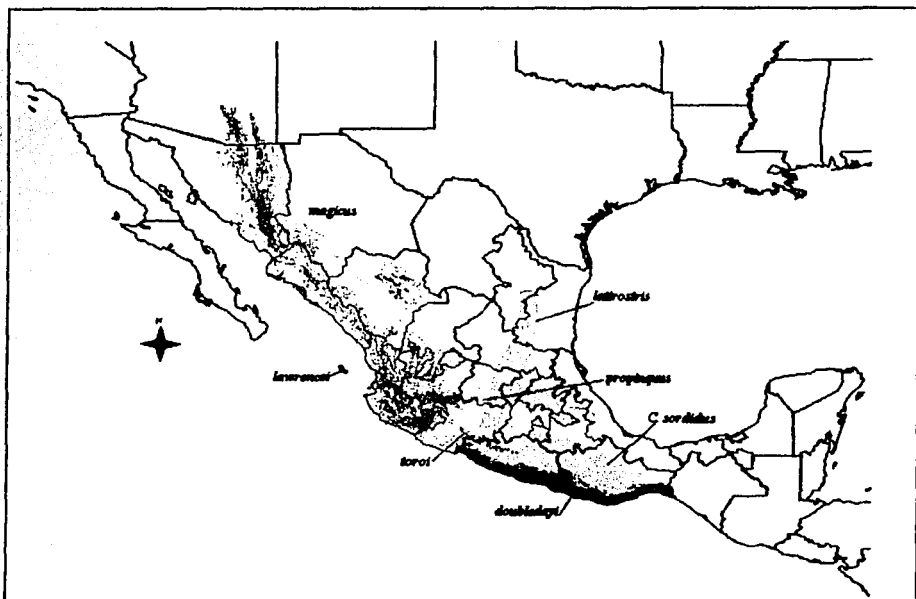


Figura 1. Mapa de distribución de *Cyananthus sordidus* y del complejo *Cyananthus latirostris*

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

LÍMITES DE ESPECIES

Establecer los límites de una especie es delimitar espacialmente unidades diagnosticables independientes y para ello se debe especificar el concepto de especie que se esté utilizando, ya que esto determinará en gran medida los criterios que se emplearán para designarlos (Good, 1994). El presente trabajo se realizó siguiendo el concepto filogenético de especie de Cracraft (1983, 1987, 1989), el cual define a una especie como la agrupación diagnosticable más pequeña de organismos individuales dentro de la cual hay un patrón parental de ancestría y descendencia y no reconoce la existencia de subespecies.

Un aspecto importante para el establecimiento de los límites de especies es el poder reconocer especies y dejar de utilizar el término de "subespecie" para designar la variación geográfica y clínicas presentes en una especie (Gill 1982, Mayr 1982, Rojas-Soto 1998). Mucho se ha discutido acerca del uso de este concepto y de la existencia en la naturaleza de dichas entidades ya que si se reconoce que una especie es la unidad más pequeña diagnosticable como establece el concepto filogenético de Cracraft (1983, 1987, 1989) entonces no habría razón para seguir nombrando subespecies. Durante muchos años se describieron indiscriminadamente subespecies para las aves mexicanas debido al uso del concepto biológico de especie (Mayr 1942, 1969), sin embargo, es el conocimiento de los patrones de variación dentro de las especies y no sólo el número de subespecies descritas lo que es verdaderamente importante en estudios de variación geográfica (Storer 1982).

Establecer los límites de especies es importante en los taxones cuya similitud morfológica dificulta su distinción (e.g. taxones crípticos) ya que esto conlleva a su errónea identificación (Dawood *et al.* 2002, e.g. Zink 1988). Existen grupos o especies cercanamente relacionados, como los colibríes, que muestran muy poca diferenciación morfológica por lo que el uso de caracteres moleculares, como las secuencias de DNA mitocondrial (mtDNA), puede ser el mejor medio para obtener información filogenética y puede ser crítico para entender y establecer los límites de especies (Scheffer y Wiegmann 2000; e.g. Perring *et al.* 1993, Clements *et al.* 2000, Scheffer 2000), además de permitir abordar preguntas incluso a niveles supraespecíficos.

Para establecer los límites de especies basados en caracteres moleculares se utiliza la comparación de secuencias de mtDNA, principalmente porque es fácil de secuenciar, carece de intrones y secuencias repetitivas, se hereda maternalmente, su arreglo es muy estable entre diferentes Phyla y no se recombina (Nieto Montes de Oca y Llorente 1994). Algunos de los genes que generalmente se usan son citocromo c, ND1, ND4, ND5, las fracciones 12s y 16s del ARN ribosomal, citocromo b, ND2 y ND3 (Espinosa de los Monteros 1998, Johnson y Sorenson 1998, Lanyon y Omland 1999, Omland *et al.* 1999, Klicka *et al.* 1999, 2000, Slickas *et al.* 2000, Zink y Blackwell-Rago 2000, Cicero y Johnson 2001, Ornelas *et al.* inédito). Los últimos tres genes han probado ser muy informativos como marcadores de mtDNA en otros estudios sistemáticos de aves (Hackett 1996, Johnson y Sorenson 1998, Johnson y Lanyon 1999, DeFilippis y Moore 2000, Johnson y Clayton 2000).

Para encontrar las relaciones filogenéticas de un taxón se requiere primero de tener correctamente delimitadas las especies de interés no solamente bibliográficamente sino con estudios de límites de especies donde se involucran otro tipo de análisis de datos que pueden o no estar basados en árboles de distancia o filogenéticos (Sites y Marshall en prensa). Realizar estudios sobre límites de especies en taxones con esta problemática debería ser un primer paso hacia el entendimiento de sus eventos de especiación, el origen de su diversidad y sus relaciones filogenéticas (Scheffer y Wiegmann 2000).

El citocromo b y el ND2 son dos de los marcadores moleculares más exitosos en la reconstrucción de las relaciones filogenéticas de los taxones, pues proveen una resolución y soporte de clados muy similares entre sí (Klicka *et al.* 2000). El citocromo b está bien caracterizado en aves y su tasa de evolución es adecuada para análisis a nivel de especie (Klicka *et al.* 2001) mientras que el ND2 es más variable que el ND3 y el citocromo b (Johnson y Sorenson 1998, Klicka *et al.* 2000, Cicero y Johnson 2001). Omland *et al.* (1999) y Lanyon y Omland (1999) observaron un patrón similar para el género *Icterus* y concluyeron que el ND2 provee más resolución que el citocromo b al evolucionar en un 40% más rápido que éste y otros genes mitocondriales, por lo que este gen puede ser mejor para resolver filogenias a nivel de especie en los Passeriformes.

Respecto al grupo de los colibríes, a la fecha no hay trabajos donde se determinen los límites de especies de un complejo de este grupo basados en caracteres moleculares. Los trabajos taxonómicos más recientes que usan caracteres moleculares son los trabajos evolutivos a nivel de familia de Bleiweiss *et al.* (1997, 1998a, b, c, y d) y de Gerwin y Zink (1998), los de García-Moreno *et al.* (1999a) quienes usan los genes mitocondriales ND2, citocromo b y ND5 para establecer la filogenia del género *Metallura* y de Hinkelman Schuchmann (1997); quienes también utilizaron mtDNA para establecer la filogenia del género *Phaethornis*. Se han realizado estudios de límites de especies en otros grupos de aves (e.g. Sites y Crandall 1997, Ister *et al.* 1999, Omland *et al.* 2000, Zink y Blackwell-Rago 2000, Aleixo 2002, Friesen *et al.* 2002) e incluso en otras clases (e.g. Good 1994, Scheffer y Wiegmann 2000, Dawood *et al.* 2002) pero en colibríes no.

OBJETIVOS

General

Establecer la variación genética y los posibles límites de especies en el complejo *Cyananthus latirostris* usando secuencias del gen mitocondrial ND2 (subunidad 2 de la NADH deshidrogenasa).

Particulares

- Corroborar la monofilia del género *Cyananthus*.
- Establecer la divergencia genética del gen ND2 de *Cyananthus latirostris*.
- Determinar si el gen ND2 es un marcador molecular informativo para el esclarecimiento de las unidades taxonómicas del género *Cyananthus*.
- Generar una hipótesis sobre el número de especies que componen el género *Cyananthus* y su distribución geográfica.

MÉTODOS

1. Trabajo de campo

La mayoría de las muestras del género *Cyananthus* y los taxones usados como grupos externos se obtuvieron de la Colección de Tejidos del Museo de Zoología "Alfonso L. Herrera", Facultad de Ciencias, UNAM (MZFC). Se realizaron tres salidas de campo a siete diferentes localidades (Colima, Michoacán, Guerrero y Guanajuato) dentro del área de distribución de dicho género para completar las muestras de tejidos (Apéndice 1). A los ejemplares colectados mediante métodos tradicionales se les preparó como pieles de estudio además de tomárseles muestras de hígado, músculo y corazón, los cuales se conservaron en alcohol al 70%, amortiguador de lisis (50 ml tris HCl 2M pH=8, 200 ml EDTA 0.5M pH= 8, 2 ml NaCl 5M, 25 ml de SDS 20%, agua destilada) y nitrógeno líquido. Estas últimas muestras se depositaron en un ultra congelador REVCO a -80°C mientras que las de alcohol al 70% y amortiguador de lisis se encuentran en refrigeración a -20°C. Las muestras de tejidos y las pieles de estudio fueron depositadas en la Colección de Tejidos y en la Colección de Aves del Museo de Zoología "Alfonso L. Herrera" de la Facultad de Ciencias, respectivamente.

2. Trabajo de laboratorio

2.1 Extracción

Se extrajo DNA de las muestras de tejidos mediante la técnica de Chelex 5% (Walsh *et al.* 1991) y el kitt DNeasy de Qiagen. La primera técnica consiste en tomar 350 µl de Chelex diluido en agua destilada al 5% y colocarlos en un tubo eppendorf de 1.5 o 2 ml previamente etiquetado con los números de catálogo correspondientes. En dicho tubo se coloca alrededor de 25 mg de tejido y se tritura. Se somete a vórtex unos 5 segundos y se incuba a 97°C por 10 minutos, transcurrido este tiempo se somete nuevamente a vórtex a la muestra para incubar otros 10 minutos a la misma temperatura. Posteriormente, la muestra se centrifuga a 14000 revoluciones por minuto (rpm) durante 1 minuto obteniendo así el DNA del sobrenadante.

Para los tejidos de los que no se extrajo DNA con Chelex se usó el kit de DNeasy de Quiagen. Esta técnica consiste en tomar 25 mg de tejido en piezas pequeñas y colocarlas en un tubo eppendorf debidamente etiquetado de 1.5 ml para añadir 180 µl de buffer ATL. Se le añade también 20 µl de Proteinasa K y se somete a vórtex a las muestras por 5 o 10 segundos. Se deja incubar la muestra a 55°C hasta que el tejido esté completamente degradado. Este proceso puede tardar entre 1 y 3 horas. Es recomendable agitar por vórtex cada 30 minutos durante la incubación para dispersar la muestra. Una vez que el tejido se degradó se agita nuevamente por vórtex unos 15 segundos, se añade 200 µl de buffer AL y se mezcla por vórtex. Se incuba nuevamente la muestra a 70°C por 10 minutos. Después de este tiempo, se añade 200 µl de etanol al 96 o 100% y se mezcla vigorosamente por vórtex. Se coloca la mezcla del paso anterior en una columna DNeasy con el tubo de colecta de 2 ml, se centrifuga a 8000 rpm por 1 minuto, se tira lo colectado y el tubo. Posteriormente, se coloca la columna en un tubo nuevo de colecta de 2 ml para añadir 500 µl de buffer AW1 y se centrifuga a 8000 rpm por 1 minuto, se tira lo colectado y el tubo. Se coloca en un nuevo tubo de 2 ml la columna y se agregan 500 µl de buffer AW2, se centrifuga a 14000 rpm durante 3 minutos para secar la membrana de la columna, se tira lo colectado y el tubo. Por último se coloca la columna en un tubo de 1.5 ml nuevo y etiquetado para añadir 500 µl de buffer AE directamente en la membrana DNeasy, se deja incubar a temperatura ambiente por 1 minuto y se centrifuga durante 1 minuto a 8000 rpm para eluir.

2.2 Amplificación

Mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) se amplificaron 350 pares de bases para el gen mitocondrial ND2. Para este proceso se colocaron en un tubo eppendorf de 0.2 ml debidamente etiquetados 2.5 µl de DNA de la muestra correspondiente, se le agregó 25 µl de agua ultrapura y destilada, 5 µl de amortiguador de reacción (10x), 5 µl de solución (2mM, 10x) de todos los desoxirribonucleótidos (dATP, dCTP, dGTP y dTTP), 5 µl (10 nmol/ml) de cada uno de los siguientes primers: L 5215 (TAT CGG GCC CAT ACC CCG AAA AT) y H5578 (CCT TGA AGC ACT TCT GGG AAT CAG A) (Hackett, 1996), 4 µl de cloruro de magnesio (20x, 30mM) y 0.5 µl de Taq Polimerasa (5U/ml). Las muestras, con un volumen total de 50 µl, se colocaron en un termociclador GeneAmp 9700 bajo el siguiente programa: 95°C 1 minuto, 48°C 2 minutos, 72°C 3 minutos por 30 ciclos seguidos de una extensión a 72°C 10 minutos.

2.3 Purificación

La purificación se llevó a cabo con el kit Gene Clean III (Bio101) siguiendo el protocolo que se describe a continuación. En un tubo eppendorf de 0.6 ml (etiquetado previamente) se colocan 50 μ l de volumen de reacción (PCR), 150 μ l de NaI y 10 μ l de Glassmilk. Se mezcla por vórtex y se deja reposar a temperatura ambiente por 10 minutos, durante dicho tiempo se somete a vórtex cada 4 minutos. Pasado este tiempo se centrifuga la muestra por 5 segundos a 14000 rpm y se decanta el sobrenadante. A la resina restante se le agrega 300 μ l de New Wash y se resuspende por vórtex. Se repite dos veces más este paso. La última centrifuga debe darse por más tiempo (10 segundos). Se deja evaporar el New Wash o bien se utiliza una pieza pequeña de papel absorbente para tomar la gota que queda. A la muestra se le añade 18 μ l de Elution Solution y se agita por vórtex. Se deja incubar por 10 minutos a 65°C. Nuevamente se centrifuga por 5 segundos a 14000 rpm y se recuperan de 10 a 15 μ l del sobrenadante en un tubo nuevo de 0.2 o 0.6 ml debidamente etiquetado.

2.4 Secuenciación

Las muestras purificadas se procesaron en el Instituto de Ecología, A. C. en Jalapa, Veracruz. Se realizó nuevamente una PCR con un solo primer para obtener una sola cadena de DNA. Para ello se colocó en un tubo eppendorf de 1.5 ml 1 μ l del primer L5215, 6 μ l del producto purificado de DNA, 10 μ l de premix y 2.4 μ l de un reactivo del kit de secuenciación bajo el programa: 95°C 20 segundos, 50°C 15 segundos y 60°C 240 segundos por 28 ciclos. Después se colocó el producto obtenido (aproximadamente 9 μ l) en columnas de Sephadex previamente preparadas y se centrifugó a 4000 rpm durante dos minutos. El volumen recolectado se colocó en una centrifuga al vacío durante 20 minutos. Se resuspendió el producto obtenido del paso anterior en 6x formalina 1x EDTA y se agitó por vórtex y con centrifuga cinco veces. Posteriormente, se colocaron los tubos con el producto en una incubadora a 92°C por dos minutos y se cargó el gel de policrilamida colocado previamente en un secuenciador automático Perkin-Elmer Abi 373. Las secuencias obtenidas se alinearon a ojo con ayuda del programa Chromas 1.45 (32-bit) (<http://brcweb.bio.cornell.edu>) y se corrigieron con el programa Clustal X 1.81 (Thompson 1997). Se utilizó la secuencia de *Apus apus* obtenida del GenBank

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/>) (número de acceso: AF543535) (Hasanein *et al.* inédito) para alinear la secuencia de *Streptoprocne rutilla* y para ser junto con ésta el grupo externo.

2.5 Análisis de datos

Distancia

Para realizar los análisis de datos se utilizó el programa MEGA 2.0 (Kumar *et al.* 2001) con el método de Evolución mínima (Minimum Evolution), bajo el modelo de dos parámetros de Kimura. Este modelo propone un esquema (Figura 2) en el cual la tasa de transiciones en cada sitio nucleotídico es α por unidad de tiempo mientras que la tasa de transversiones es β por unidad de tiempo. Esto es, que bajo este modelo es necesario hacer distinción entre transversiones y transiciones ya que la tasa de las primeras (α) puede no ser igual a la de las segundas (β). Es importante resaltar que cada nucleótido está sujeto a dos tipos de transversiones y sólo uno de transición, es decir, están en una proporción de 2:1 (Li y Graur 1991).

El método de Evolución Mínima construye primero un árbol de neighbor joining (vecino más cercano) obteniendo la suma total de su longitud de ramas. A continuación, examina todas las topologías que son similares a este árbol calculando de nuevo la suma total de longitud de ramas; esta operación la repite varias veces y al final compara las sumas totales de longitud de ramas. El árbol final será aquel que presente con la menor suma de longitud de ramas como se había mencionado anteriormente (Rzhetsky y Nei 1993). El método del vecino más cercano se basa en la búsqueda de pares de unidades taxonómica operativas (OTUs = vecinos) que minimicen la longitud total de las ramas en cada agrupamiento de OTUs y comienza dicha búsqueda a partir de un árbol de estrella (Saitou y Nei 1987).

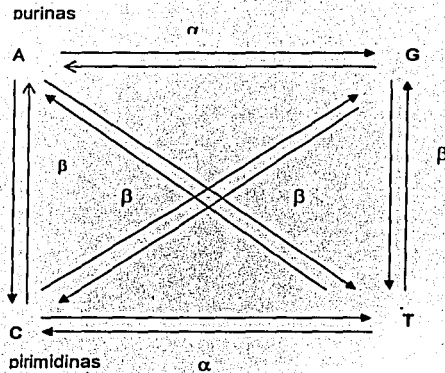


Figura 2. Modelo de 2 parámetros de Kimura (tomado de Li y Graur 1991).

Cladísticos

El análisis cladístico se llevó a cabo con ayuda de dos programas: NONA (Goloboff 1993) y PAUP 4.0beta Versión 8 (Swofford 2001). El primero busca los árboles más cortos de acuerdo al peso de los caracteres establecido por el usuario mientras que el segundo programa utiliza métodos de parsimonia, máxima verosimilitud y de distancia. Este programa cuenta con varias opciones para construir árboles filogenéticos mediante la combinación, comparación, contrastación, enraizamiento y prueba de hipótesis (Swofford 2001).

En las matrices de datos de ambos programas se eliminaron los caracteres no informativos, solo se utilizaron aquellos que los programas identificaron como necesarios para la presencia de clados (Davis, 1993). En el NONA se utilizaron las opciones de búsqueda heurística y de matraca (Nixon, 1999) mientras que en el PAUP solo se realizó una búsqueda heurística bajo

las opciones de "TBR" (Tree-Bisection and Reconnection) y ACCTRAN (desfavorece paralelismos).

Para contar con una prueba estadística que permita determinar la confianza de los resultados de los análisis realizados, se aplicó la prueba de "bootstrap" a los análisis de distancia y a los cladísticos. El bootstrap es una prueba estadística paramétrica que funciona bajo el supuesto de que los datos estudiados representan el universo de posibilidades y consiste en eliminar al azar la mitad de los caracteres de una matriz de datos, duplicarlos (para tener una matriz del mismo tamaño) y analizar la nueva matriz obteniendo el o los cladogramas más parsimoniosos. Este reemplazo se repite cien veces o más y el número de veces (dado en porcentaje) que aparece cada componente se considera un índice de su soporte (Morrone 2000). En el caso de los análisis de distancia se realizaron 1000 réplicas de "bootstrap" mientras que para los cladísticos solo 100 debido a que la capacidad de la computadora no permitió realizar más réplicas.

Para probar la monofilia de *Cyananthus* así como las relaciones con otros colibríes se utilizaron las secuencias de especies consideradas como cercanas: *Hylocharis leucotis*, *Abeillia abeillei* (Ornelas, com. pers.), *Amazilia beryllina*, *Lampornis amethystinus*, *L. viridipallens*, *L. clemenciae*, *Lamprolaima rhami*, *Heliomaster longirostris*, *Campylopterus curvipennis*, *Eupherusa eximila* y *Phaethornis longirostris*. También se utilizaron dos representantes de los vencejos: *Streptoprocne rutila* y *Apus apus* (Hasanein *et al.* inédito) como grupo externo de la familia Trochilidae (Peters 1945, Howell y Webb 1995, AOU 1998, Schuchmann 1999).

Divergencia Genética

A partir de la matriz de distancia se calculó la divergencia genética entre: (1) *Apodidae* vs. *Trochilidae*, (2) *Trochilinae* vs. *Phaethorninae*, (3) el resto de los colibríes vs. *Cyananthus*, (4) *Cyananthus latirostris* vs. *C. doubledayi* y (5) *C. latirostris* vs. *C. sordidus*.

Para estimar aspectos históricos recientes de las poblaciones se calculó con ayuda del programa Arlequín ver. 2.000 (Schneider *et al.* 2000) la diversidad nucleotídica (Π), la diversidad de haplotipos, el grado de subdivisión las poblaciones (F_{st}), la tasa promedio del flujo génico interpoblacional (Nm) y se calculó la distribución "mismatch" para el género *Cyananthus* para determinar si están en un proceso de crecimiento demográfico o si han permanecido estables (Zink y Blackwell-Rago 2000, Zink *et al.* 2002).

La distribución "mismatch" es la frecuencia de distribución de las diferencias en las secuencias individuales que se compara con una prueba de χ^2 -cuadrada para estimar si las poblaciones experimentaron recientemente un crecimiento exponencial (Zink y Blackwell-Rago 2000). De manera más sencilla, la distribución "mismatch" cuenta el número de diferencias entre cada par de secuencias en una población y el resultado permite construir un histograma (Rogers 2002). Esta distribución es usualmente multimodal en muestras que se derivan de poblaciones en equilibrio demográfico pero es unimodal en poblaciones que han pasado por una reciente expansión demográfica (Schneider *et al.* 2000).

En una gráfica de "mismatch" se observan dos distribuciones, una observada que corresponde a los valores propios de las poblaciones en estudio y una esperada que corresponde a un modelo de expansión repentina (Slatkin 1991, Rogers y Harpending 1992).

RESULTADOS

Se obtuvo un total de 50 secuencias de las cuales 37 corresponden al género *Cyananthus* y 13 a los grupos externos. Se eliminaron las secuencias que presentaron el mismo haplotipo (Apéndice 1) y con los diferentes haplotipos (16 para el género *Cyananthus* y 13 para los grupos externos) se hicieron los análisis de distancia y de parsimonia y se determinó la divergencia genética entre los grupos de estudio. Cabe mencionar que los 6 representantes de *C. l. toroi* presentaron el mismo haplotipo que *C. l. latirostris*, así mismo, de los dos representantes de *C. l. propinquus*, uno también presentó ese mismo haplotipo mientras que el otro fue diferente siendo el que aparece en los árboles.

1. Composición Nucleotídica

Para el presente trabajo se amplificó la primera parte del gen ND2 cuya longitud es de 350 pares de bases (Apéndice 2). Para este fragmento se observó que existen 152 sitios conservados, 199 variables y 125 son filogenéticamente informativos. La composición nucleotídica para todos los haplotipos se observó de la siguiente manera: 24.6% corresponde a timina (T), 31.7% a citosina (C), 31% a adenina (A) y 12.8% a guanina (G) (Figura 3). De igual manera se observó que existen 299 pares de bases idénticos, 33 transiciones y 16 transversiones, es decir, que se encuentran en una proporción 2:1. Lo anterior concuerda con lo que se ha visto que sucede para el mtDNA en general: el número de transiciones es mayor que las transversiones (Avice 1994).

Se obtuvo también la composición nucleotídica para cada miembro del género *Cyananthus* (Figura 4) y se determinó que el ND2 se comporta de manera similar tanto en este género como en todo el grupo de estudio. Respecto al número de cambios, para el género *Cyananthus* se observó que sólo *C. doubledayi* conserva la proporción 2:1 (transiciones/transversiones) mientras que *C. latirostris* presentó un mayor número de transversiones y *C. sordidus* presentó igual número de cambios (Figura 5).

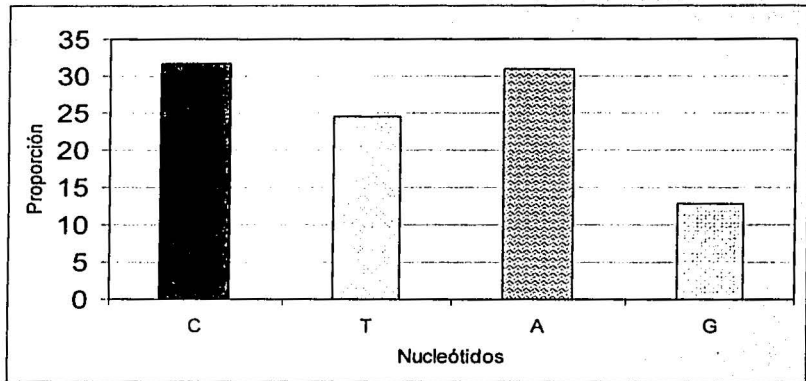


Figura 3. Composición nucleotídica del gen ND2 para todos los haplotipos (29).

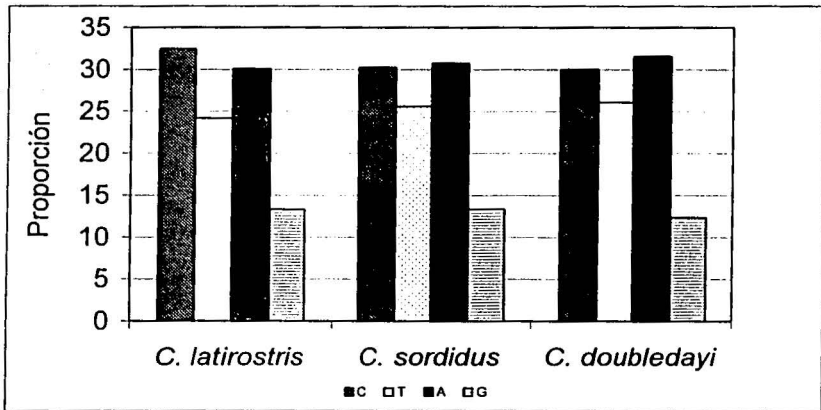


Figura 4. Composición nucleotídica del gen ND2 del género *Cyananthus*.

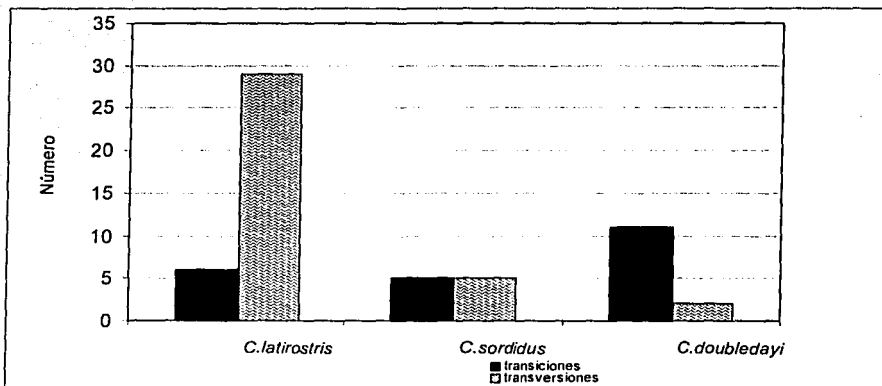


Figura 5. Número de transiciones y transversiones en el gen ND2 para las especies de *Cyananthus*.

2. Análisis de Distancia

Mediante el método de Evolución Mínima (Minimum Evolution) se obtuvo un solo árbol, el cual agrupa a los dos representantes de los vencejos en una rama basal (Figura 6) y a *Phaethornis longirostris* y el resto de los colibríes incluyendo el género *Cyananthus* en ramas posteriores. Dentro de este gran grupo se encuentra en una sola rama el género *Cyananthus* el cual a su vez presenta tres ramas claramente diferenciadas: (1) *C. sordidus*, (2) *C. doubledayi* y (3) *C. latirostris*. En esta última rama se agrupan ejemplares de Zacatecas, Jalisco, Michoacán, Querétaro, San Luis Potosí y Guanajuato.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Límites de especies dentro del complejo *Cyananthus latirostris* (Aves: Trochilidae)

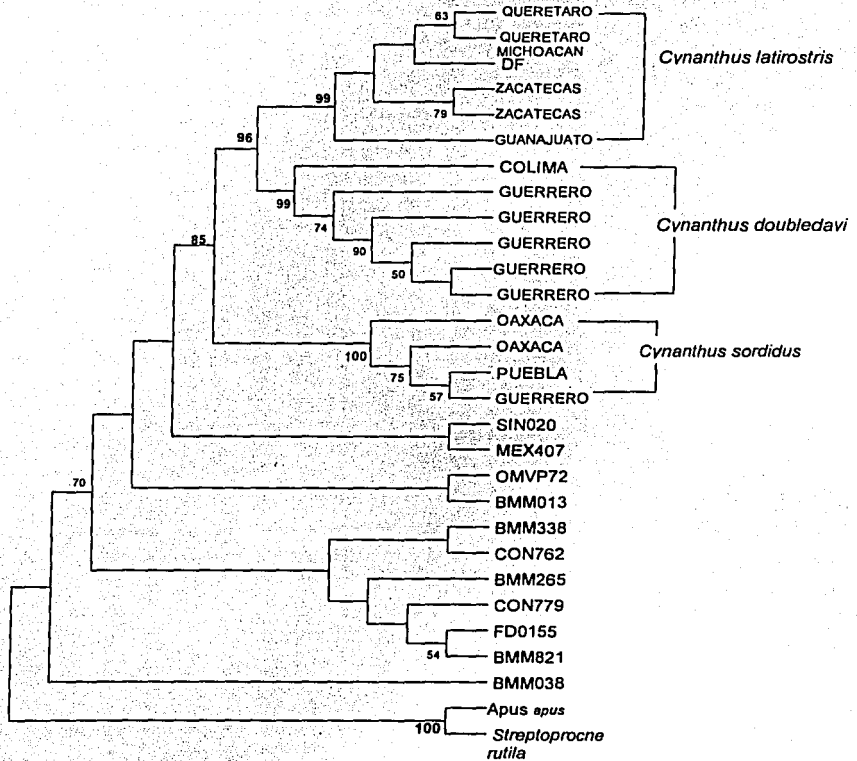


Figura 6. Árbol de distancia obtenido por el método de Evolución Mínima, los números en los nodos representan los valores de bootstrap (>50).

3. Análisis Cladísticos

Con el programa NONA (Goloboff 1993) se realizó una búsqueda heurística obteniendo como resultado 9 cladogramas igualmente parsimoniosos por lo que se buscó el cladograma de consenso de mayoría (no se muestra). Este cladograma es igual al anterior ya que también se distinguen tres clados dentro de *Cyananthus*: *C. sordidus*, *C. doubledayi* y *C. latirostris*. Con la opción de búsqueda de matraca (Ratchet) se obtuvieron 39 cladogramas, de igual manera se buscó el cladograma de consenso de mayoría (no ilustrado). En este cladograma también se distinguen los mismos tres clados del género *Cyananthus*.

Con el programa PAUP 4.0b (Swofford 2001) se obtuvieron 90 árboles mediante búsqueda heurística y se buscó el árbol de consenso de mayoría. El grupo externo se definió *a priori* (vencejos). Este árbol (figura 7) apoya la división entre *Phaetornithinae* y *Trochilinae* y agrupa en un gran clado al género *Cyananthus*. Dentro de este clado se observan tres subclados: (1) *C. sordidus*, (2) *C. doubledayi* y (3) un subclado no resuelto donde se encuentran los representantes de *C. l. propinquus*, *C. l. magicus* y *C. l. latirostris*.

4. Divergencia Genética

A partir de la matriz de distancia (Figura 8) se calculó el porcentaje de divergencia genética y se observó de la siguiente manera:

- (1) *Apodidae* vs. *Trochilidae* = 0.256715
- (2) *Trochilidae* vs. *Phaetornidae* = 0.10725
- (3) *Cyananthus* vs. *Trochilidae* + *Phaetornidae* = 0.10497
- (4) *Cyananthus latirostris* vs. *Cyananthus sordidus* = 0.06877
- (5) *Cyananthus latirostris* vs. *Cyananthus doubledayi* = 0.052027
- (6) *Cyananthus latirostris* vs. *C. l. magicus* = 0.033585
- (7) *Cyananthus latirostris* vs. *C. l. propinquus* = 0.028602

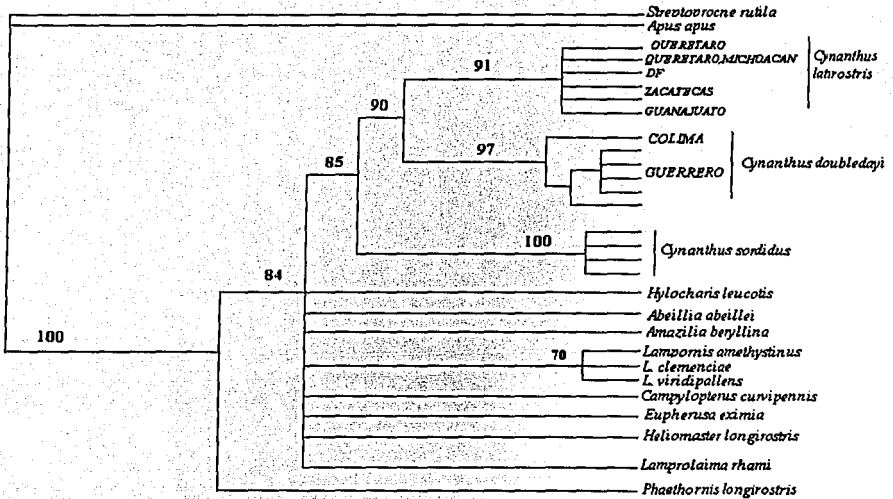


Figura 7. Árbol de parsimonia (consenso de mayoría) obtenido mediante las opciones TBR y ACCTRAN. L = 417, Ci = 0.4676, Ri = 0.6526. Los caracteres no se ordenaron y se les dio igual peso. Los números en los nodos representan los valores de bootstrap (>50).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	
1. <i>Azus azus</i>																													
2. <i>Streptoprocne rubra</i>	0.241																												
3. <i>Cyananthus latirostris latirostris</i>	0.246	0.341																											
4. <i>C. latirostris</i>	0.239	0.337	0.006																										
5. <i>C. latirostris</i>	0.243	0.332	0.009	0.003																									
6. <i>C. l. marginatus</i>	0.271	0.353	0.039	0.033	0.036																								
7. <i>C. l. marginatus</i>	0.316	0.398	0.081	0.075	0.078	0.096																							
8. <i>C. l. propinquus</i>	0.241	0.341	0.009	0.003	0.006	0.036	0.073																						
9. <i>C. latirostris</i>	0.249	0.355	0.067	0.061	0.064	0.097	0.128	0.058																					
10. <i>C. l. doubledayi</i>	0.252	0.367	0.077	0.070	0.074	0.107	0.135	0.068	0.030																				
11. <i>C. l. doubledayi</i>	0.243	0.356	0.070	0.064	0.067	0.100	0.134	0.068	0.030	0.006																			
12. <i>C. l. doubledayi</i>	0.251	0.356	0.070	0.064	0.067	0.100	0.127	0.061	0.030	0.006	0.006																		
13. <i>C. l. doubledayi</i>	0.247	0.352	0.073	0.066	0.070	0.103	0.131	0.064	0.041	0.023	0.023	0.023																	
14. <i>C. l. doubledayi</i>	0.248	0.362	0.073	0.067	0.070	0.104	0.131	0.064	0.026	0.003	0.003	0.003	0.020																
15. <i>Cyananthus sortidus</i>	0.273	0.385	0.114	0.107	0.111	0.143	0.178	0.098	0.126	0.126	0.133	0.125	0.124	0.126															
16. <i>C. sortidus</i>	0.268	0.380	0.110	0.104	0.107	0.139	0.174	0.094	0.122	0.122	0.129	0.122	0.121	0.122	0.003														
17. <i>C. sortidus</i>	0.259	0.372	0.113	0.106	0.110	0.142	0.178	0.096	0.125	0.125	0.132	0.124	0.123	0.125	0.006	0.003													
18. <i>C. sortidus</i>	0.296	0.383	0.131	0.125	0.128	0.147	0.193	0.115	0.144	0.144	0.151	0.143	0.142	0.144	0.026	0.023	0.027												
19. <i>Hylocichia leucost</i>	0.252	0.338	0.098	0.092	0.089	0.127	0.173	0.093	0.096	0.120	0.119	0.119	0.116	0.120	0.153	0.149	0.149	0.171											
20. <i>Abellia abellii</i>	0.259	0.346	0.146	0.140	0.136	0.174	0.214	0.137	0.148	0.155	0.154	0.154	0.151	0.155	0.162	0.159	0.147	0.181	0.126										
21. <i>Amazilia beryllina</i>	0.257	0.335	0.177	0.170	0.174	0.199	0.248	0.168	0.171	0.174	0.170	0.170	0.174	0.174	0.198	0.194	0.191	0.219	0.145	0.179									
22. <i>Phaethornis longirostris</i>	0.226	0.348	0.191	0.188	0.184	0.221	0.272	0.190	0.197	0.216	0.212	0.216	0.215	0.216	0.225	0.220	0.210	0.246	0.192	0.195	0.203								
23. <i>Lampornis amethystinus</i>	0.255	0.355	0.170	0.163	0.159	0.184	0.232	0.160	0.178	0.191	0.186	0.186	0.186	0.191	0.190	0.186	0.175	0.215	0.138	0.159	0.149	0.191							
24. <i>L. diemenicae</i>	0.256	0.347	0.175	0.168	0.164	0.198	0.246	0.166	0.197	0.200	0.200	0.200	0.195	0.200	0.192	0.188	0.173	0.216	0.140	0.161	0.171	0.196	0.110						
25. <i>L. viripallens</i>	0.255	0.343	0.165	0.158	0.154	0.187	0.243	0.152	0.159	0.166	0.166	0.166	0.169	0.166	0.159	0.155	0.147	0.181	0.127	0.159	0.149	0.217	0.090	0.085					
26. <i>Campylopterus curvipennis</i>	0.280	0.343	0.160	0.153	0.149	0.185	0.233	0.158	0.169	0.172	0.168	0.168	0.168	0.172	0.187	0.183	0.173	0.207	0.121	0.148	0.174	0.211	0.159	0.146	0.143				
27. <i>Euphonia scitula</i>	0.250	0.346	0.157	0.150	0.147	0.186	0.226	0.143	0.167	0.170	0.169	0.169	0.162	0.170	0.174	0.170	0.162	0.193	0.129	0.133	0.159	0.199	0.158	0.154	0.133	0.155			
28. <i>Psaltriparus longirostris</i>	0.269	0.369	0.161	0.154	0.151	0.193	0.222	0.156	0.159	0.187	0.186	0.186	0.178	0.187	0.166	0.162	0.155	0.190	0.144	0.157	0.166	0.192	0.147	0.165	0.151	0.179	0.145		
29. <i>Lampornis rhani</i>	0.225	0.341	0.148	0.141	0.137	0.185	0.208	0.135	0.153	0.153	0.153	0.156	0.148	0.148	0.153	0.145	0.141	0.138	0.167	0.127	0.134	0.150	0.148	0.128	0.120	0.125	0.153	0.146	0.125

Figura 8. Matriz de distancia de los veintinueve haplotipos diferentes que incluyen al género *Cyananthus* y grupos externos

TESIS CON
 VALIA DE CUBIEN

Límites de especies dentro del complejo *Cyananthus latirostris* (Aves: Trochilidae)

El grado de subdivisión de las poblaciones F_{st} es igual a 0.04495, la diversidad nucleotídica π (Cuadro 2) promedio es igual a 0.2094; la tasa promedio del flujo génico interpoblacional (Nm) es superior a 2 (7.9) dentro de los miembros del género *Cyananthus*, mientras que la diversidad de haplotipos es igual a 0.9643 para todos los individuos del género. El haplotipo con mayor distribución fue el QRO246 que corresponde a *Cyananthus latirostris*. El valor de F_{st} indica que existe flujo génico y que la población está moderadamente diferenciada (Zink y Blackwell-Rago 2000). La distribución "mismatch" observada es multimodal para los tres miembros del género *Cyananthus* (Figuras 9, 10 y 11) lo que sugiere que las muestras provienen de poblaciones en equilibrio demográfico (Schneider *et al.* 2000).

Taxón	<i>C. latirostris</i>	<i>C. sordidus</i>	<i>c. doubledayi</i>
π	0.037431	0.014898	0.010499

Cuadro 2. Valores de diversidad nucleotídica

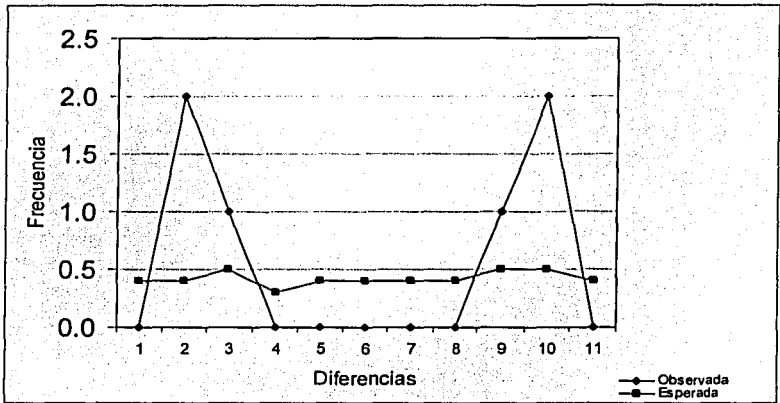


Figura 9. Distribución "mismatch" de *Cyananthus sordidus*.

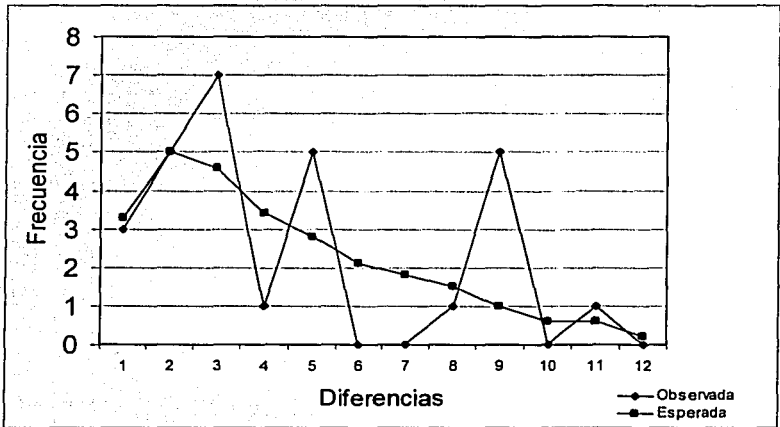


Figura 10. Distribución "mismatch" de *Cyananthus doubledayi*.

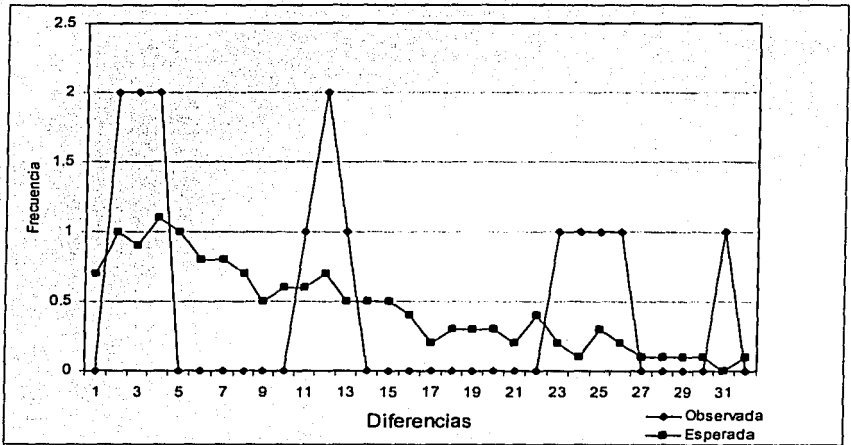


Figura 11. Distribución "mismatch" de *Cyananthus latrostris*.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

DISCUSIÓN

Los resultados de los análisis llevados a cabo con diferentes métodos apoyan la existencia de tres unidades diagnosticables independientes dentro del género *Cyananthus*. En los árboles obtenidos (figuras 6 y 7) las ramas donde claramente se distinguen estas tres unidades tienen valores de soporte muy altos (bootstrap > 95) además de presentar haplotipos únicos y diferentes (Apéndice 1).

En el árbol de distancia (figura 6) y de parsimonia (figura 7) se observa claramente que la unidad conformada por el género *Cyananthus* está resuelta. El alto valor de bootstrap que lo apoya (85) y el hecho de que ningún otro taxón haya quedado incluido en esta agrupación indican que el género es monofilético. Dentro de este género se observa, en los dos árboles, que se distinguen tres unidades: *Cyananthus sordidus*, *Cyananthus latirostris* y *Cyananthus doubledayi* con altos valores de soporte (bootstrap >90). Cabe señalar que un representante de Colima (CON843) se agrupó en una rama externa en los dos árboles a *C. doubledayi*. Esto amerita que se obtengan más secuencias de esta localidad ya que las descripciones de *C. doubledayi* lo restringen a los estados de Guerrero, Oaxaca y extremos suroeste de Chiapas. Es muy probable que al incluir más secuencias de Colima se corrobore que los ejemplares de esta zona corresponden a *C. latirostris* como ocurrió con los de Michoacán ya que morfológicamente son iguales.

Dentro de *Cyananthus latirostris* se agruparon ejemplares de Michoacán (todos con el mismo haplotipo de esta especie), de Zacatecas (dos de los cinco ejemplares tuvieron un haplotipo diferente) y Guanajuato (uno tuvo el mismo haplotipo de *C. latirostris* y el otro tuvo un haplotipo diferente). El hecho de que dos ejemplares de Zacatecas y uno de Guanajuato mostraron un haplotipo diferente puede deberse a que en unas zonas de los cromatogramas no se pudo determinar la base nucleotídica correspondiente por lo que se dejó como faltante. Además, sólo se obtuvieron dos ejemplares de Guanajuato por lo que también amerita obtener más ejemplares para incluir sus secuencias en los análisis.

Los árboles obtenidos con el programa NONA (Goloboff 1993) no se incluyeron debido a que la longitud de pasos es mayor (439) que el obtenido en el PAUP 4.0b (417) (Swofford 2001) a pesar de presentar topologías iguales.

Los valores calculados de divergencia genética reflejan, por un lado, que la mayor distancia ocurre entre las dos familias del orden Apodiformes como ya varios autores han propuesto (Sibley y Ahlquist 1990, Ornelas 1996, Schuchmann 1999, Johansson *et al.* 2001). A este valor le siguen, en orden decreciente, la división entre las subfamilias *Trochilinae* y *Phaethorninae* y la separación entre el género *Cyananthus* con el resto de los colibríes de la subfamilia *Trochilinae*.

Dentro del género, la mayor distancia ocurre entre *C. latirostris* y *C. sordidus* y la menor entre *C. latirostris* y los ejemplares de Guanajuato. Todos los ejemplares de Michoacán presentaron el mismo haplotipo que los de *C. latirostris* de Querétaro y San Luis Potosí (Apéndice 1) y morfológicamente son muy parecidos a esta especie, lo que sugiere que en realidad se trate de *C. latirostris* y no de una subespecie o un híbrido como Howell y Webb (1995) propusieron.

El valor de F_{st} obtenido para el género *Cyananthus* (0.04495), la reconstrucción filogenética de los haplotipos, así como la diferencia en el color del plumaje del macho en *Cyananthus doubledayi* sugieren que se trate como una especie, aparte de *C. latirostris*. Además, según el concepto filogenético de especie de Cracraft (1983, 1987, 1989) puede ser considerada como tal. Valores similares de F_{st} se han obtenido en otros trabajos (e.g. Omland *et al.* 2000, Zink y Blackwell-Rago 2000) donde también sugieren elevar a nivel de especie las subespecies o grupos de su estudio. Aunado a lo anterior, se encuentra el hecho de que las distribuciones "mismatch" obtenidas para cada especie del género *Cyananthus* son multimodales sugiriendo que las poblaciones se encuentran en equilibrio demográfico después de haber pasado probablemente por un cuello de botella (Schneider *et al.* 2000, Rogers 2002). Sin embargo, es probable que al aumentar el número de ejemplares de algunos miembros del complejo se pueda observar concordancia entre la distribución observada y la del modelo de expansión repentina (esperada)

entre las poblaciones de las especies de este género (e.g. Zink y Blackwell-Rago 2000, Zink *et al.* 2002).

El uso de genes mitocondriales como el ND2, es una gran herramienta en el esclarecimiento de las relaciones filogenéticas de las especies y en la determinación de los límites de especies de diferentes complejos ya que al evolucionar muy rápido provee una buena resolución (García-Moreno *et al.* 1999a, Klicka *et al.* 2000) para taxones de reciente aparición como se sugiere es el grupo de los colibríes (Bleiweiss 1998a y b). El ND2 es más variable que el ND3 y el citocromo b (Johnson y Sorenson 1998, Klicka *et al.* 2000, Cicero y Johnson 2001). Sin embargo, Sorenson (2003), al hacer una revisión de algunos trabajos con mtDNA, sugiere y recomienda el uso del gen ND2 ya que es el tercero más variable después de la ATPasa 8 y ND6 y menciona que el citocromo b provee más ruido que señal filogenética a pesar de su gran tamaño.

Cabe mencionar que aunque el uso de un fragmento de un solo gen ha dado muy buena resolución y soporte además de ser variable para el género *Cyananthus*, es muy importante incluir más genes como el ND3 o incluso genes nucleares que aporten más información para corroborar los datos obtenidos en el presente trabajo y así evitar también construir un árbol de genes solamente en lugar de uno de especies (Nichols 2001).

Al reconocer como especie a *Cyananthus doubledayi* aumenta el número de especies endémicas a México (aproximadamente 250), particularmente a las tierras bajas del suroeste de México (Peterson y Navarro 2000). Esta zona del país es la más rica en endemismos debido a su compleja topografía y diversidad de hábitats pero no solo lo es para las aves sino también para otros grupos taxonómicos (Peterson y Navarro 2000, García-Trejo 2002). A pesar de ser una zona donde se distribuye alrededor del 40% de las especies endémicas al país (Peterson y Navarro 2000) no se cuenta con estrategias de conservación que permitan asegurar la permanencia de las especies endémicas, sólo se cuenta con pocas reservas pero no son suficientes.

Cyananthus doubledayi no está bajo alguna categoría de riesgo según la NOM-059-ECOL-2001 (SEMARNAT 2002). Sin embargo, se requiere de estudios que permitan saber si podría pertenecer a alguna de esas categorías debido a que en las localidades visitadas solo se observaron de 1-6 individuos por día de este taxón (Apéndice I).

La NOM-059-ECOL-2001 (SEMARNAT 2002) solo lista a *C. l. lawrencei*, endémica a las Islas Tres Marías, en la categoría de Sujeta a Protección Especial, esto significa que es una población que podría llegar a encontrarse amenazada por factores que inciden negativamente en su viabilidad, por lo que se recomienda propiciar su recuperación y conservación de poblaciones de especies asociadas. Si se reconociera también a este taxón como especie al realizar los análisis necesarios, se estaría incrementando nuevamente el número de especies endémicas a México, en particular al Oeste del país enfatizando la importancia que esta zona es un sitio rico en endemismos como ya otros autores han propuesto (Peterson y Navarro 2000, García-Trejo 2002). Para ello se sugiere obtener muestras de este taxón y analizar los datos que se obtengan de ellas.

CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos se proponen los siguientes límites de especie para el género *Cyananthus*, sugiriendo la existencia de tres especies dentro del género *Cyananthus* (Figura 12):

Taxón	Endemismo	Área de distribución
<i>Cyananthus sordidus</i>	Endémica a la Cuenca del Balsas	Michoacán, Guerrero, Oaxaca, Morelos y Puebla
<i>Cyananthus doubledayi</i>	Endémica a la costa suroeste de México	Costa de Guerrero, Oaxaca y extremo suroeste de Chiapas
<i>Cyananthus latirostris</i>	Cuasiendémica a México	Sur de Arizona y Nuevo México en E.U. al sur desde Sonora al norte de Guerrero, hacia el interior del país en Guanajuato, Querétaro, Hidalgo, San Luis Potosí, Distrito Federal, Estado de México, Puebla, Nuevo León, Tamaulipas y Veracruz

Cuadro 3. Distribución de las tres especies del género *Cyananthus* reconocidas por el presente trabajo.

Los resultados obtenidos corroboran la monofilia del género *Cyananthus* con valores de bootstrap > 85. En los cuatro árboles obtenidos *Hylocharis leucotis* aparece como su grupo hermano, sin embargo, a pesar de ser morfológicamente similar a *Cyananthus latirostris*, diversas autoridades taxonómicas (Peters 1945, AOU 1998, Schuchmann 1999) reconocen a *Cyanophaea bicolor* y *Thalurania ridgwayi* como sus especies hermanas. Desafortunadamente, no se obtuvieron secuencias de estas dos especies.

El gen mitocondrial ND2 mostró ser un marcador informativo para el esclarecimiento de las unidades de estudio de *C. latirostris* y *C. sordidus*, sin embargo, se recomienda incluir secuencias de otro gen como el ND3 para corroborar los datos obtenidos. Se recomienda obtener una muestra más representativa del género *Cyananthus* a lo largo de su rango de distribución particularmente de Colima, Michoacán, Guanajuato y la parte sur de Arizona para poder determinar si existe alguna estructura dentro de las poblaciones (Schneider *et al.* 2000) y saber qué es lo que pasa con la variación genética intrapoblacional mediante el uso de otros marcadores moleculares como microsatélites.

De igual manera se recomienda obtener muestras del taxón de las Islas Marías ya que debido a la diferencia en el color del plumaje del macho (garganta verde) y su aislamiento geográfico se espera que se compruebe la existencia de cuatro especies dentro del género *Cyananthus*.

Navarro y Peterson (1999) reconocen cuatro especies para el género *Cyananthus*: *C. sordidus*, *C. doubledayi*, *C. lawrencei* y *C. latirostris*, sin embargo, para esta última reconocen aún las subespecies *latirostris*, *magicus*, *propinquus* y *toroi* (Cuadro 1). En contraste con ellos, en el presente trabajo se reconocen tres especies para el género *Cyananthus*: *C. sordidus*, *C. doubledayi* y *C. latirostris* y en el caso de ésta, no se reconocen sus subespecies debido a que la mayoría de ellas presentó el mismo haplotipo, a que los resultados de divergencia genética lo apoya y a que el concepto filogenético de especie (Cracraft 1983, 1987, 1989) utilizado no las reconoce.

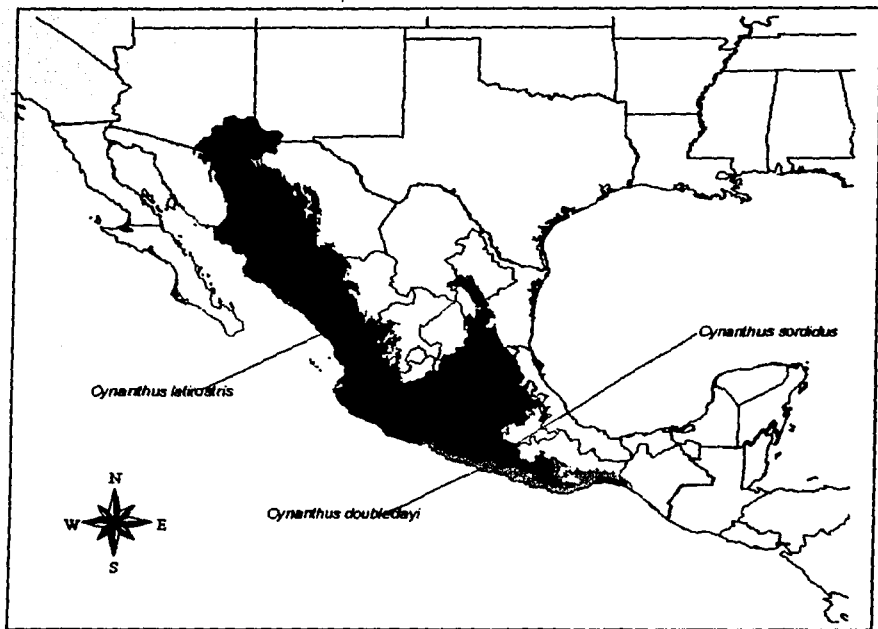


Figura 12. Mapa de distribución de las tres especies reconocidas en el presente trabajo para el género *Cyananthus*.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

LITERATURA CITADA

- Aleixo, A. 2002. Molecular systematics and the role of the "Várzea"- "Terra-firme" ecotone in the diversification of *Xyphorhynchus* woodcreepers (Aves: Dendrocolaptidae). *Auk* 119(3):621-640.
- American Ornithologists' Union. 1998. Check-list of North American Birds. 7th ed. Washington, D.C.
- Arizmendi, M. C. y J. F. Ornelas. 1990. Hummingbirds and their floral resources in a Tropical dry forest in Mexico. *Biotropica* 22:177-180.
- Avise, J. C., 1994. Molecular Markers, Natural History and Evolution. Chapman and Hall. USA.
- Berlioz, J. 1937. Note sur une collection des oiseaux du Mexique. *Bulletin Museum D'Histoire Naturelle* 9:170-175.
- Binford, L. C. 1985. Re-evaluation of the "Hybrid" hummingbird *Cyananthus sordidus* x *C. latirostris* from Mexico. *Condor* 87 (1):148-150.
- Binford, L. C. 1989. A Distributional Survey of the Birds of the Mexican State of Oaxaca. *Ornithological Monographs* 43:1-418.
- Bleiweiss, R. 1990. Ecological causes of clade diversity in hummingbirds: a neontological perspective on the generation of diversity. Pp. 354-380. *In*: Causes of Evolution (R. M. Moss and W. D. Allmon, ed.) Univ. Chicago Press, Chicago.
- Bleiweiss, R., J. A. W. Kirsch y F. J. Lapointe. 1994. DNA-DNA hybridization-based phylogeny for "Higher" Nonpasserines: Reevaluating a key portion of the Avian Family Tree. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 3(3): 248-255.

- Bleiweiss, R., J. A. W. Kirsch y J. C. Matheus. 1997a. DNA hybridization evidence for subfamily structure among hummingbirds. *Auk* 111:8-19.
- Bleiweiss, R., J. A. W. Kirsch y J. C. Matheus. 1997b. DNA hybridization evidence for the principal lineages of hummingbirds (Aves: Trochilidae). *Molecular Biology and Evolution* 12:325-343.
- Bleiweiss, R. 1998a. Tempo and mode of hummingbird evolution. *Biological Journal of the Linnean Society* 65:63-76.
- Bleiweiss, R. 1998b. Origin of hummingbird faunas. *Biological Journal of the Linnean Society* 65:77-97.
- Bleiweiss, R. 1998c. Relative-rate Tests and Biological Causes of Molecular Evolution in hummingbirds. *Molecular Biology and Evolution* 15(5):481-491.
- Bleiweiss, R. 1998d. Slow rate of molecular evolution in high-elevation hummingbirds. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 95:612-616.
- Boucard, A. 1895. *Genera of hummingbirds*. Parry and Son, London.
- Cicero, C. y N. K. Johnson. 2001. Higher-Level Phylogeny of New World Vireos (Aves: Vireonidae) based on sequences of multiple mitochondrial DNA genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 20(1):27-40.
- Clements, K. M., B. M. Wiegmann, C. E. Sorenson, C. F. Smith, P. A. Neese y R. M. Roe. 2000. Genetic variation in the *Myzus persicae* complex (Homoptera: Aphididae): Evidence for a single species. *Annals of the Entomological Society of America* 93: 31-46.
- Cracraft, J. 1983. Species concepts and speciation analysis. *Current Ornithology* 1:159-187.

- Cracraft, J. 1987. Species concepts and the ontology of evolution. *Biology and Philosophy* 2:63-80.
- Cracraft, J. 1989. Speciation and its ontology: the empirical consequences of alternative species concepts for understanding patterns and processes of differentiation. pp:28-59. *En*: D. Otte y J. A. Endler (comps.). *Speciation and its consequences*. Library of Congress. USA.
- Davis, J. I. 1993. Character Removal as a Means for Assessing Stability of Clades. *Cladistics* 9 (2):201-210.
- Dawood, A., A. Channing y J. P. Bogart. 2002. A molecular phylogeny of the Frog Genus *Tomopterna* in Southern Africa: examining Species Boundaries with mitochondrial 12S rRNA sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 22(3):407-413.
- DeFilippis, V. R. y W. S. Moore. 2000. Resolution of Phylogenetic Relationships among Recently Evolved Species as a Function of Amount of DNA Sequence: An Empirical Study Based on Woodpeckers (Aves: Picidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 16(1):143-160.
- Ehrlich, P.R., D. S. Dobkin y D. Wheye. 1988. *The Birder's Handbook*. Simon & Schuster, Inc. USA. 785p.
- Espinosa de los Monteros, A. 1998. Phylogenetic relationships among the Trogons. *Auk* 115(4):937-954.
- Friedman, H., L. Griscom y R.T. Moore. 1950. *Distributional Check-list of the Birds of Mexico. Part I. Pacific Coast Avifauna* 29:1-202.
- Friesen, V. L., D. J. Anderson, T. E. Stevens, H. Jones y E. A. Schreiber. 2002. Molecular support for species status of the Nazca booby (*Sula granti*). *Auk* 119(3): 870-826.

Límites de especies dentro del complejo *Cyanthus latirostris* (Aves: Trochilidae)

- García-Moreno, J., P. Arctander y J. Fjeldsá. 1999a. Strong diversification at the treeline among *Metallura* Hummingbirds. *Auk* 116(3):702-711.
- García-Moreno, J., P. Arctander y J. Fjeldsá. 1999b. A Case of Rapid Diversification in the Neotropics: Phylogenetic Relationships among *Cranioleuca* Spinetails (Aves, Furnariidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 12(3):273-281.
- García-Moreno, J., J. Ohlson y J. Fjeldsá. 2001. Mitochondrial DNA Sequences Support Monophyly of *Hemispingus* Tanagers. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 21(3): 424-435.
- García-Trejo, E. A. 2002. Análisis de los Patrones de Endemismo de aves en el Oeste de México. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM.
- Gerwin J. A. y R. M. Zink. 1989. Phylogenetic patterns in the genus *Heliodoxa* (Aves: Trochilidae): an allozymic perspective. *Wilson Bulletin* 101: 525-544.
- Gerwin, J. A. y R. M. Zink. 1998. Phylogenetic patterns in the Trochilidae. *Auk* 115(1):105-118.
- Gill, F. B. 1982. Might there be a resurrection of the subspecies?. *Auk* 99: 598-599.
- Gill, F. B. y J. A. Gerwin. 1989. Protein relationships among Hermit hummingbirds. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences Philadelphia* 141:409-421.
- Goloboff, P. A. 1993. NONA ver. 2.0. Programa y documentación. Ithaca, New York
- Good, D. A. 1994. Species limits in the genus *Gerrhonotus* (Squamata: Anguinae). *Herpetological Monographs* 8:180-202.
- Gould, J. 1861. An introduction to the Trochilidae, or family of hummingbirds. Published by the author, London.

- Graves, G. R. 1986. Systematics of the gorgeted woodstars (Aves: Trochilidae: Acestrura). *Proceedings of the Biological Society of Washington* 99:218-224.
- Hackett, S. J. 1996. Molecular phylogenetics and biogeography of tanagers in the genus *Ramphocelus* (Aves). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 5:368-382.
- Hasancin, A. W. Schroeder, O. Rotman y R. Kuehn. Mitochondrial genomes of Apodidae and indications of their evolution. *Inédito*.
- Hernández-Baños, B. E. 1998. Filogenia del género *Eupherusa* Gould (Aves: Trochilidae). Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias, UNAM.
- Hillis, D.M. 1987. Molecular versus Morphological approaches to Systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18:23-42.
- Hinkelmann, C. y K. L. Schuchmann. 1997. Phylogeny of the hermit hummingbirds (trochilidae: Phaethornithinae). *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 32: 142-163.
- Howell, S. N. G. y S. Webb. 1995. *A Guide to the Birds of Mexico*. Oxford University Press. 851p.
- Isler, M. L., P. R. Isler y B. M. Whitney. 1999. Species limits in Antbirds (Passeriformes: Thamnophilidae): the *Myrmotherula surinamensis* complex. *Auk* 116(1):83-96.
- Johnsgard, P. A. 1983. *The Hummingbirds of North America*. Smithsonian Institution Press. Washington, D.C.
- Johansson, V. S., T. J. Parsons, M. Irestedt y P. G. P. Ericson. 2001. Clades within the higher land birds evaluated by nuclear DNA sequences. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* 39: 37-51.

- Johnson, K. P. y M. D. Sorenson. 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, K. P. y S. M. Lanyon. 1999. Molecular systematics of the grackles and allies, and the effect of additional sequence (cyt b and ND2). *Auk* 116:759-768.
- Johnson, K. P. y D. Clayton. 2000. A molecular phylogeny of the dove genus *Zenaidura*: mitochondrial and nuclear sequences. *Condor* 102:864-870.
- Klicka, J., R. M. Zink, J. C. Barlow, W. B. McGillivray y T. J. Doyle. 1999. Evidence supporting the recent origin and species status of the Timberline Sparrow. *Condor* 101:577-588.
- Klicka, J., K. P. Johnson y S. M. Lanyon. 2000. New World Nine-primaried Oscine relationships: constructing a mitochondrial DNA framework. *Auk* 117(2):321-336.
- Klicka, J., A. J. Fry, R. M. Zink y C. W. Thompson. 2001. A cytochrome-b perspective on *Passerina* Bunting relationships. *Auk* 118(3):611-623.
- Kumar, S., K. Tamura, I.B. Jakobsen y M. Nei. 2001. MEGA 2.0: Molecular Evolutionary Genetics Analysis software. Arizona State University, Tempe, Arizona, USA.
- Lanyon, S. M. y K. E. Omland. 1999. A molecular phylogeny of the Blackbirds (Icteridae): Five lineages revealed by cytochrome-b sequence data. *Auk* 116(3):629-639.
- Lara, C. 1995. Ecología de la Conducta de forrajeo del colibrí oreja violeta-verde (*Colibri thalassinus*): implicaciones en el robo de néctar. Tesis de Licenciatura (Biología). Universidad Autónoma de Puebla, Puebla.
- Lara, C. y J. F. Ornelas. 1998. Forrajeo de artrópodos por dos colibríes mexicanos en condiciones de aviario. *Ornitología Neotropical* 9:41-50.

- Li, W. y D. Graur. 1991. *Fundamental of Molecular Evolution*. Sinauer Associates, Inc. USA.
- López De Aquino, S. 2003. Análisis de la distribución ecológica y geográfica de las aves endémicas y bajo alguna categoría de riesgo del estado de Querétaro, México. Tesis de Licenciatura (Biología). Universidad Autónoma de Puebla, Puebla.
- Martínez del Río, C. 1990. Sugar preferences in Hummingbirds: the influence of subtle chemical differences in food choice. *Condor* 92(4):1022-1030.
- Matson, R. H. 1984. Applications of electrophoretic data in Avian systematics. *Auk* 101:717-729.
- Mayr, E. 1942. *Systematics and the origin of species*. Columbia University Press, Nueva York.
- Mayr, E. 1969. The biological meaning of species. *Biological Journal of the Linnean Society* 1:311-320.
- Mayr, E. 1982. Of what use are subspecies? *Auk* 99: 593-595.
- McKittrick, M. y R. M. Zink. 1988. Species concepts in ornithology. *Condor* 90:1-14.
- Mittermeier, R. A. y C. Goettsch de M. 1992. La importancia de la diversidad biológica de México. Pp. 63-73. En: México ante los retos de la biodiversidad (J. Sarukhán y R. Dirzo, eds.). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D. F.
- Montes de Oca, R. 1875. *Ensayo Ornitológico de los Troquílidos o colibríes de México*. Biblioteca Nacional, Fondo Reservado, UNAM, México.
- Montgomerie, R. D. y C. L. Gass. 1981. Energy limitation of Hummingbird populations in Tropical and Temperate communities. *Oecologia* 50(2):162-165.

- Montgomerie, R. D. 1984. Nectar extracting by hummingbirds: response of different floral characters. *Oecologia* (63):229-236.
- Moore, R. T. 1939. A new race of *Cyananthus latirostris* from Guanajuato. *Proceedings of the Biological Society of Washington* 53:23-29.
- Morrone, J. J. 2000. El lenguaje de la cladística. Dirección General de Publicaciones y Fomento Editorial, UNAM. México.
- Navarro, S. A. G. y H. Benítez. 1993. Patrones de riqueza y endemismo de las aves. *Ciencias* 7:45-54.
- Navarro, S. A. G. y A. T. Peterson. 1999. Comments on the taxonomy of the genus *Cyananthus* (Swainson), with a restricted type locality for *C. doubledayi*. *Bulletin of British Ornithologists' Council* 119(2):109-112.
- Navarro, S. A. G. y A. T. Peterson. (en revisión). An alternative Species taxonomy of the Birds of Mexico.
- Nichols, R. 2001. Gene trees and species trees are not the same. *Trends in Ecology and Evolution* 16(7):358-364.
- Nieto-Montes de Oca, A. y J. E. Llorente-Bousquets. 1994. Caracteres moleculares en los métodos de la sistemática moderna. Pp. 157-205. *En: Taxonomía Biológica*. Llorente y Luna (comps.) Ediciones Científicas Universitarias, UNAM; Fondo de Cultura Económica. México.
- Nixon, K.C. 1999. The parsimony ratchet, a new method for rapid parsimony analysis. *Cladistics* 15: 407-414.

- Omland, K. E., S. M. Lanyon y S. J. Fritz. 1999. A Molecular Phylogeny of the New World Orioles (*Icterus*): The Importance of Dense Taxon Sampling. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 12(2):224-239.
- Omland, K., C. L. Tarr, W. I. Boarman, J. M. Marzluff y R. C. Fleischer. 2000. Cryptic genetic variation and paraphyly in ravens. *Proceedings of the Royal Society, London B*. 267: 2475-2482.
- Ornelas, R. J. F. 1984. Contribución al conocimiento de la Familia Trochilidae en la República Mexicana. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Aguascalientes.
- Ornelas, J. F. 1996 Origen y Evolución de los Colibríes. *Ciencias* 42: 38-47.
- Ornelas, J. F., C. González y J. Uribe. 2002. Complex vocalizations and aerial displays of the Amethyst-throated Hummingbird (*Lampornis amethystinus*). *Auk* 119(4):1141-1149.
- Ornelas, J. F., A. Espinosa de los Monteros y L. Jiménez. Manuscrito inédito. Diversificación de colibríes del género *Amazilia*: análisis filogenéticos usando datos morfológicos, moleculares y acústicos.
- Parra, V., F. Vargas y L. E. Eguiarte. 1993. Reproductive biology, pollen and seed dispersal and neighborhood size in hummingbird-pollinated *Echeverria gibbiflora* (Crassulaceae). *American Journal of Botany* (80):153-159.
- Perring, T. M., A. D. Cooper, R. J. Rodríguez, C. A. Farrar y T. S. J. Bellows. 1993. Identification of a whitefly species by genomic and behavioral studies. *Science* 259: 74-77.
- Peters, J. L. 1945. Check-list of the Birds of the World. Vol. V. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.
- Peterson, R. T. y E. L. Chalif. 1989. Aves de México. Ed. Diana, México.

- Peterson, A. T. y A. Navarro. 2000. Western Mexico: a significant centre of avian endemism and challenge for conservation action. *Cotinga* 14 (2000):42-46.
- Prado-Herrera, B. C. 1998. Alimentación complementaria de los colibríes (Familia: Trochilidae. Aves: Trochiliformes) a base de artrópodos: una correlación morfológica. Tesis de Licenciatura. ENEP Iztacala, UNAM.
- Ridgway, R. 1911. The Birds of North and Middle America. U. S. Natural Museum Bulletin 50: 367-377.
- Rogers, A. R. y H. Harpending. 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular Biology and Evolution* 9:552-569.
- Rogers, A. R. 2002. The Theoretical Mismatch Distribution. *Lecture Notes on Gene Genealogies*: 30-46.
- Rojas-Soto, O. R. 1998. Variación Geográfica de las poblaciones de *Toxostoma curvirostre* (Mimidae) de las zonas áridas de Norteamérica. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias, UNAM.
- Rzhetsky, A. y M. Nei. 1993. Theoretical foundation of the Minimum-Evolution method of Phylogenetic Inference. *Molecular Biology and Evolution* 10(5):1073-1095.
- Saitou, N. y M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4(4):406-425.
- Salvin, O. y F. D. Godman. 1889. Notes on Mexican Birds. *Ibis* 6: 232-243.
- Scheffer, S. J. 2000. Molecular evidence of cryptic species within the pea leafminer *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae). *Journal of Economic Entomology* 93: 1146-1151.

Limites de especies dentro del complejo *Cynanthus latirostris* (Aves: Trochilidae)

Scheffer, S. J. y B. M. Wiegmann. 2000. Molecular Phylogenetics of the Holly Leafminers (Diptera: Agromyzidae: *Phytomyza*): Species limits, Speciation and Dietary specialization. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 17(2):244-255.

Schneider, S. D. Roessly y L. Excoffier. 2000. Arlequin ver. 2.000: a software for population genetics data analysis. Genetics and Biometry Laboratory. University of Geneva, Switzerland. URL: <http://lgb.unige.ch/arlequin>

Schuchmann, K.L. 1999. Family Trochilidae (Hummingbirds) pgs. 468-535. En: Handbook of the Birds of the World. Vol. 5. Barn-owls to Hummingbirds. (Del Hoyo, E. A. Elliot y J. Sargatal, eds). Lynx Edicions, Barcelona.

SEMARNAT 2002. Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2001, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio. Lista de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación.

Sibley C. G., K. W. Corbies, J. E. Ahlquist y A. Ferguson. 1974. Birds.pp: 89-176. In: C. A. Wright (ed.) Biochemical and immunological taxonomy of animals. Academic Press, New York.

Sibley, C. G. y J. E. Ahlquist. 1990. Phylogeny and Classification of Birds. A Study in Molecular Evolution. Yale University Press, U.S.A. 976p.

Sibley, C. G. y B. L. Monroe. 1990. Distribution and Taxonomy of Birds of the World. U.S.A. Yale University Press. 1111 p.

Sibley, D. A. 2000. The Sibley Guide to Birds. National Audubon Society. Knopf, Inc. 544 p.

Simon, E. 1921. Histoire naturelle des Trochilidae (Synopsis et catalogue). Encyclopedie Roret, Paris.

- Sites Jr., J. W. y K. A. Crandall. 1997. Testing species boundaries in Biodiversity studies. *Conservation Biology* 11(6):1289-1297.
- Sites Jr., J. W. y J. C. Marshall. 2003. Delimiting species: a Renaissance issue in Systematic Biology. En prensa.
- Slatkin, M. 1991. Inbreeding coefficients and coalescence times. *Genetical Research* 58:167-175.
- Slickas, B., I. B. Jones, S. R. Derrickson y R. C. Fleischer. 2000. Phylogenetic relationships of micronesian White-eyes based on mitochondrial sequence data. *Auk* 117(2):355-365.
- Sorenson, M. D. 2003. Avian mtDNA primers. <http://people.bu.edu/msoren/Birds.mt.Primers.pdf>
- Stiles, F. G. 1983. Systematics of the southern forms of *Selasphorus* (Trochilidae) *Auk* 110:311-325.
- Storer, R. W. 1982. Subspecies and the study of geographic variation. *Auk* 99: 599-601.
- Swofford, D. L. 2001. PAUP* 4.0 beta Versión 8. Phylogenetic Analysis Using Parsimony, Sinauer Associates, Inc., Smithsonian Institution.
- Thompson, J. D., T. J. Gibson, F. Plewniak, F. Jeanmougin y D. G. Higgins, 1997. Clustal X. Program computer.
- Torres-Chávez, M. G. 1992. Distribución altitudinal de las aves en la Sierra de Juárez, Oaxaca, México. Tesis Profesional, Facultad de Ciencias, UNAM.
- Torres-Chávez, M. G. y A. G. Navarro. 2000. Los colibríes de México, brillo de la biodiversidad. *Biodiversitas*. 28 (5):

Límites de especies dentro del complejo *Cyananthus latirostris* (Aves: Trochilidae)

Walsh P. S, D.A. Metzger y R Higuchi 1991. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR based typing from forensic material. *BioTechniques* 10:4.

Wiley, E. O. 1978. The evolutionary species concept reconsidered. *Systematic Zoology* 27:17-26.

Zimmer, J. T. 1950-1953. Studies of Peruvian birds. American Museum of Natural History Novitates No.1449, 1450, 1463, 1474, 1475, 1513, 1540, 1595 y 1604.

Zink, R. M. 1988. Evolution of Brown towhee: allozymes, morphometrics and species limits. *Condor* 90:72-82.

Zink, R. M. y R. C. Blackwell-Rago, 2000. Species limits and recent population history in the Curve-billed Tanager. *Condor* 102:881-886.

Zink, R. M., S. Rohwer, S. Drovetski, R. C. Blackwell-Rago y S. L. Farrell. 2002. Holartic Phylogeography and Species limits of Three-toed Woodpeckers. *Condor* 104:167-170.

Zusi, R. L. y Bentz. 1982. Variation of a muscle in hummingbirds and swifts and its systematic implication. *Proceedings of the Biological Society of Washington* 95:412-420.

APÉNDICE I. Número de catálogo de campo, museos, estados y localidades de las muestras utilizadas en el presente trabajo. MZFC: Museo de Zoología Facultad de Ciencias, UNAM; FMNH: Field Museum of Natural History, Chicago, E.U; Gene Bank y haplotipo al que corresponde cada ejemplar.

Haplotipo	Taxón	"Forma"	Catálogo	Museo	Estado	Localidad
1	<i>Cyananthus latirostris</i>	magicus	CONACYT 395	MZFC	Zacatecas	Rancho Chahucisco. 6 Km SO Jalpa
2	<i>Cyananthus latirostris</i>	magicus	CONACYT 387	MZFC	Zacatecas	Rancho Chahucisco. 10 Km W Jalpa
3	<i>Cyananthus latirostris</i>	latirostris	QRO 012	MZFC	Querétaro	San Miguel Pama
	<i>Cyananthus latirostris</i>	latirostris	QRO 053	MZFC	Querétaro	Presa Zmapan. 4 km NW Tequila
	<i>Cyananthus latirostris</i>	latirostris	QRO 204	MZFC	Querétaro	Rancho 99
	<i>Cyananthus latirostris</i>	latirostris	QRO 246	MZFC	Querétaro	La Florida
	<i>Cyananthus latirostris</i>	latirostris	QRO 421	MZFC	Querétaro	Higuerillas. 5 Km antes
	<i>Cyananthus latirostris</i>	latirostris	HGO-SLP 077	MZFC	San Luis Potosí	El Mezquitil, 3 Km SW Santa María Acapulco
	<i>Cyananthus latirostris</i>	magicus	CONACYT 368	MZFC	Zacatecas	Rancho Chahucisco. 6 Km SO Jalpa
	<i>Cyananthus latirostris</i>	magicus	CONACYT 427	MZFC	Zacatecas	Rancho Chahucisco. 6 Km SO Jalpa
	<i>Cyananthus latirostris</i>	magicus	CONACYT 428	MZFC	Zacatecas	Rancho Chahucisco. 6 Km SO Jalpa
	<i>Cyananthus latirostris</i>	toroi	CONACYT 875	MZFC	Michoacán	Cobisa, Las Haciendas
	<i>Cyananthus latirostris</i>	toroi	CONACYT 1061	MZFC	Michoacán	Presía Infernito, 1.5 Km N Campamento CFE
	<i>Cyananthus latirostris</i>	toroi	CONACYT 1062	MZFC	Michoacán	Presía Infernito, 1.5 Km N Campamento CFE
	<i>Cyananthus latirostris</i>	toroi	CONACYT 1092	MZFC	Michoacán	Presía Infernito, 1.5 Km N Campamento CFE
	<i>Cyananthus latirostris</i>	toroi	CONACYT 1093	MZFC	Michoacán	Presía Infernito, 1.5 Km N Campamento CFE
	<i>Cyananthus latirostris</i>	toroi	CONACYT 1099	MZFC	Michoacán	Presía Infernito, 1.5 Km N Campamento CFE
	<i>Cyananthus latirostris</i>	toroi	CONACYT 1102	MZFC	Michoacán	Presía Infernito, 1.5 Km N Campamento CFE
	<i>Cyananthus latirostris</i>	propinquus	CONACYT 1565	MZFC	Guanajuato	Tinajas de Pastores, Yuriria
	<i>Cyananthus latirostris</i>	magicus	CONACYT 1567	MZFC	Jalisco	El Charlie, Autlán
	<i>Cyananthus latirostris</i>	magicus	CONACYT 1568	MZFC	Jalisco	El Charlie, Autlán
4	<i>Cyananthus latirostris</i>	latirostris	394365 CH1	FMNH	Querétaro	2 Km S Estación Bernal
5	<i>Cyananthus latirostris</i>	latirostris	CONACYT 1025	MZFC	DF	Coyocacán, Facultad de Ciencias
6	<i>Cyananthus latirostris</i>	propinquus	CONACYT 1566	MZFC	Guanajuato	Tinajas de Pastores, Yuriria
7	<i>Cyananthus latirostris</i>	magicus	CONACYT 843	MZFC	Colima	Tepames, Las Cuevas
8	<i>Cyananthus latirostris</i>	doubledayi	CONACYT 896	MZFC	Guerrero	Tecpan, Fracc. Laguna Nuxco
	<i>Cyananthus latirostris</i>	doubledayi	CONACYT 933	MZFC	Guerrero	Tecpan, Fracc. Laguna Nuxco
	<i>Cyananthus latirostris</i>	doubledayi	CONACYT 936	MZFC	Guerrero	Tecpan, Fracc. Laguna Nuxco
9	<i>Cyananthus latirostris</i>	doubledayi	CONACYT 902	MZFC	Guerrero	Tecpan, Fracc. Laguna Nuxco
10	<i>Cyananthus latirostris</i>	doubledayi	CONACYT 904	MZFC	Guerrero	Tecpan, Fracc. Laguna Nuxco
11	<i>Cyananthus latirostris</i>	doubledayi	CONACYT 988	MZFC	Guerrero	San Luis Acatlán, 2 Km Ne de El Carmen
12	<i>Cyananthus latirostris</i>	doubledayi	CONACYT 991	MZFC	Guerrero	San Luis Acatlán, 2 Km Ne de El Carmen
13	<i>Cyananthus sordidus</i>		OMVP 733	MZFC	Oaxaca	Yucunino, Cerro Piedra Larga
14	<i>Cyananthus sordidus</i>		OMVP 747	MZFC	Oaxaca	Cerro Piedra Larga
15	<i>Cyananthus sordidus</i>		PUE 57	MZFC	Puebla	Venia Salada, 8 Km S Corchán
16	<i>Cyananthus sordidus</i>		UAG 13	MZFC	Puebla	Iguala, Mexcaltepec
	<i>Cyananthus sordidus</i>		OMVP 872	MZFC	Oaxaca	Districto de Teotlán, 3 km SE San Juan Quotolepec

continuación

Grupos Estemos					
17. <i>Hylocharis leucotis</i>	leucotis	SIN 020	MZFC	Sinaloa	El Bani
18. <i>Abeilla abellei</i>	abellei	OMVP 0072	MZFC	Oaxaca	Sierra de Huautla, Distrito Teotlán, Puento de Ferro
19. <i>Phaenomis superciliosus</i>		BMM 038	MZFC	Guerrero	El Ins
20. <i>Amazilia beryllina</i>		BMM 265	MZFC	Oaxaca	Sierra de Huautlán, Rio Salado 10 km norte San Gabriel Maltepec
21. <i>Lampornis amelhylinus</i>		CONACYT 779	MZFC	Oaxaca	Puerto La Soledad
22. <i>Lampornis clemenciae</i>		FD0155	MZFC	Estado México	km 20 de la carretera Ocuilán Cuemavaca
23. <i>Lampornis viridipallens</i>		BMM 821	MZFC	Chiapas	Volcán Tacaná, Chiquitule
24. <i>Haiomaster knigrosotis</i>		BMM 336	MZFC	Estado México	km 14 de la carretera Ocuilán Cuemavaca
25. <i>Campyllopterus curvipennis</i>		MEX 080	MZFC	Veracruz	Sierra Santa Marna
26. <i>Lamprolaima rhani</i>		CONACYT 762	MZFC	Oaxaca	Puerto La Soledad
27. <i>Eupherusa eximia</i>		BMM 013	MZFC	Guerrero	El Ins
28. <i>Apus apus</i>		AF 543535	Gene Bank	ND	ND
29. <i>Streptoprocne rufila</i>		OMVP 742	MZFC	Oaxaca	Cerro Piedra Larga

Apéndice 2. Secuencia del fragmento secuenciado del gen ND2 para los 16 haplotipos diferentes correspondientes al género *Cynanthus* y 13 de los grupos externos. Únicamente se presentan los números de catálogo de los haplotipos, para consultar la especie y localidad ver Apéndice 1.

```

AF5435 ATG AAT CCC TAC GCC AAA CTA ATT TTC ACC ATA AGC CTA CTC TTA GGT ACA ACC ATA ACA ATC TCC AGC AAC CAC TGA
OMV742 ... .C ... .. .G. ... ..G ..G ... .. T...T ... G.. .A ... .. .G ... ..T ... ..G ... ..
394365 ... .C ... ..T ... ..T. T.. CA ... .. T... .. G.A ... ..A ... ..G. .C .C ... ..T ... ..G. ... ..
QRO246 ... .C ... ..T ... ..T.. CA ... .. T... .. G.A ... ..A ... ..G. .C .C ... ..T ... ..G. ... ..
CO1025 ... .C ... ..T ... ..T.. CA ... .. T... .. G.A ... ..A ... ..G. .C .C ... ..T ... ..G. ... ..
CON387 ... .C ... ..T ... ..T.. CA ... .. T... .. G.A ... ..A ... ..G. .C .C ... ..T ... ..G. ... ..
CON395 ... .C ... ..T ... ..T.. CA ... .. T... .. G.A ... ..A ... ..G. .C .C ... ..T ... ..G. ... ..
CO1566 ... .C ... ..T ... ..T.. CA ... .. T... .. G.A ... ..A ... ..G. .C .C ... ..T ... ..G. ... ..
CON843 ... .C ... ..T ... ..T.. CA ... .. T...T ..T .. A.A C. .A ... ..G. .C .C ... ..T ... ..G. ... ..
CON902 ... .C ... ..T ... ..T.. CA ... ..T.T ..T .. A.A C. .A ... ..G. .C .C ... ..T ... ..G. ... ..
CON904 ... .C ... ..T ... ..T.. CA ... ..T.T ..T .. A.A C. .A ... ..G. .C .C ... ..T ... ..G. ... ..
CON936 ... .C ... ..T ... ..T.. CA ... ..T.T ..T .. A.A C. .A ... ..G. .C .C ... ..T ... ..G. ... ..
CON988 ... .C ... ..T ... ..T.. CA ... ..G ..T ..T .. A.A C. C.A ... ..G. .C .C ... ..T ... ..G. ... ..
CON991 ... .C ... ..T ... ..T.. CA ... ..T.T ..T .. A.A C. .A ... ..G. .C .C ... ..T ... ..G. ... ..
PUE057 ... .C ... ..T ... ..T.. CA ... ..T.G ..T .. A.A C. .A ... ..G. .C .C ... ..T ... ..G. ... ..
UAG013 ... .C ... ..T ... ..T.. CA ... ..T.G ..T .. A.A C. .A ... ..G. .C .C ... ..T ... ..G. ... ..
OMV733 ... .C ... ..G ..T ..T .. A.A C. .A ... ..G. .C .C ... ..T ... ..G. ... ..
OMV747 ... .C ... ..T ... ..T.. CA ... ..T.G ..T .. A.A C. .A ... ..G. .C .C ... ..T ... ..G. ... ..
SIN020 ... .C ... ..T ... ..T.. CA ... ..G ..T ..T .. C.A C. .A ... ..G. .C .C ... ..T ... ..G. ... ..
OMVP72 ... .C ..G ... ..T ... ..T.. CA ... ..T.G ..T .. G.A C. T.A ... ..G. .C .C ... ..T ... ..G. ... ..
BMM265 -- .C ..T ... ..T ... ..T.. CA ... ..CTT ..T ..T ..C.A G.C. .A ... ..G. .C .C ... ..T ... ..G. ... ..
BMM038 -- .C ... ..T ... ..T.. G.G.A ... ..CT..T ..T ..T.. C. .A ... ..G. .C .C ... ..T ... ..G. ... ..
CON779 -- .C ... ..T ... ..T.. CA ... ..CTT ..T ..T ..T.A.G.C. .A ... ..G. .C .C ... ..T ... ..G. ... ..
FDO155 ... .C ... ..T ... ..T.. CA ... ..TAT ... ..T.ACG C. .A ... ..G. .C .C ... ..T ... ..G. ... ..
BMM821 ... .C ... ..T ... ..T.. CA ... ..T.T ..G ..T ..T.A.A.C. .A ... ..G. .C .C ... ..T ... ..G. ... ..
MEX080 ... .C ..G ... ..T ... ..T.. CA ... ..T..C. ... ..T.A.G.C.G. .A ... ..G. .C .C ... ..T ... ..G. ... ..
BMM013 ... .C ... ..T ... ..T.. CG ..T ..T ..T ..A.A.C. .G ... ..G. .T.C.C. .C .T ..T ..G. ... ..
BMM338 ... .C ..T ... ..C.T ... ..T.. CA ... ..T.G.C. .G ... ..G. .C .C ... ..T ... ..G. ... ..
CON762 ... .C ... ..T ... ..T.. CA ... ..TGT ... ..T ..T ..A.A.C. .A ... ..G. .C .C ... ..T ... ..G. ... ..

```

**TESIS CON
FALTA DE ORIGEN**

AF5435 ATA ATA GCC TGA ACA GGG CTA GAA ATC AAC ACC CTA GCC ATT ATT CCC CTC ATC GCA AAA CAC CAC CAC CCA CGA GCT
 OMV742 ... CT. ... C .A ... T ... T.A .G CA. ... CT .T T. ... T T. ... T G. ... C
 394365 ... TC. ... G.C .A .T .T ... G ... C .C ... T T. ... TC. ... C
 QR0246 ... TC. ... G.C .A .T ... G ... C .C ... T T. ... TC. ... C
 C01025 ... TC. ... G.C .A .T ... G ... C .C ... T T. ... TC. ... C
 CON387 ... TC. ... G.C .A .T ... G ... C .C ... T T. ... TC. ... C
 CON395 ... TC. ... G.C .A ... T ... GGG .A .C .C ... T T. ... TC. ... C
 C01566 ... TC. ... G.C .A .T ... G ... C .C ... T T. ... TC. ... C
 CON843 ... TC. .T ... G.C ... T ... C ... T T. ... TC. ... T ... C
 CON902 ... TC. .T ... G.C ... T ... C ... T T T. ... TC. ... T ...
 CON904 ... TC. ... G.C ... T ... C ... T T T. ... TC. ... T ...
 CON936 ... TC. .T ... G.C .A .T ... C ... T T T. ... TC. ... T ...
 CON988 ... TC. .T ... G.C ... T ... C ... T T T. ... TC. ... G .T ...
 CON991 ... TC. .T ... G.C ... T ... C ... T T T. ... TC. ... T ...
 PUE057 G.. TC. ... G.C .A .T ... C .C ... T T. ... TC. .T ... T ...
 UAG013 G.. TC. ... G.C .A .T ... C .C ... T T. ... TC. .T ... T ...
 OMV733 G.. -C. ... G.C .A .T ... C .C ... T T. ... TC. .T ... T ...
 OMV747 ... TC. ... G.C .A .T ... C .C ... T T T. ... TC. .T ... T ...
 SIN020 ... TCG .T .G G.C .A .T ... T ... C .C ... T T T.C ... TC. ... C ... C
 OMVP72 ..G TC. .T ... G.T .A .T ... T ... C ... T ... T ... TC. .T ... C ... T.C
 BMM265 ... TC. ... G.C .A .C ... C .C ... T T .A ... TC. ... T .C ... C
 BMM038 ..GT .C .T .G .T ... C .C ... T T T. ... G T. ... C
 CON779 G.G TC. ... G.C .A .T ... C ... A .T T T. .G TC. ... C ... C
 FD0155 G.T TC. ... G.C .A .T ... T ... C .C ... T T .C .G TC. ... C ... C
 BMM821 GC. TC. ... G.C .A .T ... C .C ... T T T. ... TC. ... T ... C
 MEX080 ... GCC ... G.C .A .T ... T ... C .C ... T T. ... TC. ... T .G .C
 BMM013 ... TCCG G.T .A .T ... C .C ... T T. ... TC. ... C ...
 BMM338 G.. TC. ... G.C .A .C ... T ... C .C .T ... T T. ... TC. ... T ... C
 CON762 G.G TC. ... C .A .T ... C .C ... T T T. ... TC. ... C ... C

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

AF5435 ATC GAA GCT GCA ATC AAA TAT TTC CTT ACC CAA GCA GCC GCC TCA ACA CTA CTC CTA TTC TCA AGT ACA ATC AAT GCT
 OMV742 ..TGC .T ... T .A GAAG ... A .G ... C .A ... CAC
 394365 ..T .G ... T. .T ... C ... GT. .G .T .T .T .C .C ... A .G ... C .T.C
 QR0246 ..T .G ... T. .T ... C ... GT. .G .T .T .T .C .C ... A .G ... C .T.C

CO1025 ..T..G...T...T...C...GT..G..T..T..T..C..C...A..G...C..T...C
 CON387 ..T..G...T...T...C...GT..G..T..T..T..C..C...A..G...C..GG...C
 CON395 ..T..G...T...T...C...GT..G..T..T..T..C..C..GGT..A..G...TCC..TC..TC...C..A
 CO1566 ..T..G...T...T...C...GT..G..T..T..T..C..C...A..G...C..T...C
 CON843 ..T...T...T...C..G..C..GTT..G..T..T..T..C..C...A...C..T...C..C
 CON902 ..T..G...C..T...T...C...GTT..G..T..T..T..C..C..T..A...C..T...C..C
 CON904 ..T..G...T...T...C...GTT..G..T..T..T..C..C..T..A...C..T...C..C
 CON936 ..T..G...T...T...C...GTT..G..T..T..T..C..C..T..A...C..T...C..C
 CON988 ..T..G...T...T...C...GT..G..T..T..T..C..C..T..A...C..T...C..C
 CON991 ..T..G...T...T...C...GTT..G..T..T..T..C..C..T..A...C..T...C..C
 PUE057 ...G..A..T...T...C...GT..G..C..T..T..T..C..T..A...T..G...T...C
 UAG013 ...G..A..T...T...C...GT..G..C..T..T..T..C..T..A...T..G...T...C
 OMV733 ...G..A..T...T...C...GT..G..C..T..T..T..C..T..A...T..G...T...C
 OMV747 ...G..A..T...T...C...GT..G..C..T..T..T..C..T..A...T..G...T...C
 SIN020 ..T...A...G..C...C..GT...T..T..T..C..C...A...C..T..T...C
 OMV972 ..T...A...T...C...GTA...T..T..T..C..C..T..A...C..T..T...C
 BMM265 ..T...A...G..C...C..GT...C..T..T..T..C..G..A..T...G...C..T...C
 BMM038 ...A...C...A..GT..G...T..T...T..T..T...C...C...
 CON779 ..T...A...C...GT...T..T...C..T..T..A..T...C..TG..T...C
 FD0155 ...A...A...A...GT...T..T...C..T..T..A..G...T...C...C
 BMM821 ..T...A...G...GT...T..T...C..T..C..A...T...C...C
 MEX080 ...A...T...C..T..A..CTG...T..T...T..T..T...C..T..T...C
 BMM013 ..T...A...C..T...GT...T..T..T..C..C..G..A...C..T...C..C
 BMM338 ..T...A...C..GT...T..T..T...A...C...C..T...C...C
 CON762 ...A...C...GT...T..T..T..C..C..T...T...C...

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

AF5435 TGG TCC TCT GGA CAA TGA GAC ATC ACC CAA TTA AAC CAC CCC ATC GCA TGT ACA CTA TTA ACA ACA GCA ATT GCA ATA
 OMV742 ..A..A..A...T...T...C...T...G..T...C...
 394365 ..A..CA..A...G...C...T...A..CA..T...CA..CTG...C...C...C...
 QRO246 ..A..CA..A...G...C...T...A..CA..T...CA..CTG...C...C...C...
 CO1025 ..A..CA..A...G...C...T...A..CA..T...CA..CTG...C...C...C...
 CON387 ..A..CA..A...CG...T...T...C...T...A..CA..T...C..CTG...C...C...C...
 CON395 ..A..CA..A...G...T..T..T..C..TCT...T..CA..T...CA..CTG..T..C...C...C...
 CO1566 ..A..CA..A...G...T...C...T...A..CA..T...CA..CTG..T..C...C...C...
 CON843 ..A..CA..A...T..T...C...T...A..CA..T...CA..CTG..T..C...C...C...

CON902A. A.AT .T ... C. .TA .CA T. . CA CTG T. . C. .TC
 CON904A. A.AT .T ... C. .TA .CA T. . CA CTG T. . C. .TC
 CON936A. A.AT .T ... C. .TA .CA T. . CA CTG T. . C. .TC
 CON988 ..A .A. A.AT .C. .TA .CA T. . CA CTG T. . C. .TC
 CON991A. A.AT .T ... C. .TA .CA T. . CA CTG T. . C. .TC
 PUE057 ..A CAT A.AGT .G C.A .CG T. . CA TT T. C. .C.G.
 UAG013 ..A CAT A.AGT .G C.A .CG T. . CA TT T. C. .C.G.
 OMV733 ..A CAT A.AGT .G C.A .CG T. . CA TT T. C. .C.G.
 OMV747 ..A CAT A.AGT .G C.A .CT T. . CA TT T. C. .C.G.
 SIN020 ..A CA. A.AGT .C. .TA .CA T. . CA CTG T. . C. .C
 OMVP72 ..A CA. A.AGT .G C.A .CA T. . CC CT T. . C. .TC .C
 BMM265 ..A AA. A.AT .T ... C.T .A T. . CC .TG .T C. .TC
 BMM038 ..A CA. A.AT .C.A .CA T.C .CC TT. .CCC
 CON779 ..A CA. A.AT .C.A .CA T. . CC CT T. . C. .CC
 FDO155 ..A .A. A.AG .G .T ... TT ... C.A .CA T. . CC CT T. . C. .C
 BMM821 ..A CA. A.AT .C.A .CA T. . CC CT T. . G .C .C .G.
 MEX080 ..A CA. A.AGT .C. .TA .CA T. . CC CTC T. .C .C .TT .C .G
 BMM013 ..A .AT A.AT .C.CA .CA T. . CC TT. .C .C .CC
 BMM338 ..A CAT A.AC. .G .T. .A .CA T. . CA TT. .C .G .CC
 CON762 ..A CA. A.AG .TC. .G.A .CA T. . C. TT. T. C.T .CC

AF5435 AAA CTC GGA TTA GTC CCA TTC CAC TTC TGA TTT CCA GAA

OMV742T ... C. .G GGC A.T .CA .T CTG A.
 394365T .CGC
 QR0246T .CGC
 CO1025T .C C. .GC
 CON387T .CG .TC A.C
 CON395T .C .G .G G.C .C
 CO1566T .CGC
 CON843T .TGC
 CON902T .TGC
 CON904T .TGC
 CON936T .TGC
 CON988T .TGC
 CON991T .TGC

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

PUE057 ... T C A G ... T ... C ...
 UAG013 ... T C G ... T ... C ...
 OMV733 ... T C G ... T ... C ...
 OMV747 ... T C G ... T CT GAT -CC A...
 SIN020 ... C C G ... C ...
 OMVP72 ... T T C A ... C ...
 BMM265 ... C A C ... C ...
 BMM038 ... A C C A ... C ...
 CON779 ... C C T G C ... T ... C ...
 FD0155 ... A C C G C ... C ...
 BMM821 ... C C G C ... C ...
 MEX080 ... C C G C ... C ...
 BMM013 ... A C C A ... C ...
 BMM338 ... T C C A C ... T ... C ...
 CON762 ... C C A C ... C ...

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

ESTA TESIS NO SALE
 DE LA BIBLIOTECA