



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS

BIOLOGÍA EVOLUTIVA

**Variación genética de las poblaciones mexicanas de *Habia rubica* (Aves:
Cardinalidae)**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

SANDRA MARISOL RAMÍREZ BARRERA

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: Dra. Blanca Estela Hernández Baños
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

COMITÉ TUTOR: Dr. Juan Pablo Jaramillo Correa
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR: Dr. Luis Antonio Sánchez González
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

MEXICO, D.F. DICIEMBRE, 2015



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS

BIOLOGÍA EVOLUTIVA

**Variación genética de las poblaciones mexicanas de Habia rubica (Aves:
Cardinalidae)**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTROA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

SANDRA MARISOL RAMÍREZ BARRERA

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: Dra. Blanca Estela Hernández Baños
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

COMITÉ TUTOR: Dr. Juan Pablo Jaramillo Correa
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR: Dr. Luis Antonio Sánchez González
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

MEXICO, D.F. DICIEMBRE, 2015



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

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

OFICIO FCIE/DEP/838/15

ASUNTO: Oficio de Jurado

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

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **21 de septiembre de 2015** se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en el campo de conocimiento de **Biología Evolutiva** del (la) alumno (a) **RAMÍREZ BARRERA SANDRA MARISOL** con número de cuenta **301220576** con la tesis titulada "**VARIACIÓN GENÉTICA DE LAS POBLACIONES MEXICANAS DE *Habia rubica* (AVES: CARDINALIDAE)**", realizada bajo la dirección del (la) **DRA. BLANCA ESTELA HERNÁNDEZ BAÑOS**:

Presidente: DRA. ELLA GLORIA VÁZQUEZ DOMÍNGUEZ
Vocal: DR. MARK EARL OLSON
Secretario: DR. JUAN PABLO JARAMILLO CORREA
Suplente: DR. JUAN JOSÉ MORRONE LUPI
Suplente: DR. LUIS ANTONIO SÁNCHEZ GONZÁLEZ

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

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 23 de noviembre de 2015

M. del Coro Arizmendi
Dra. María del Coro Arizmendi Arriaga
Coordinadora del Programa



MCAA/MJFM/ASR/grf*

AGRADECIMIENTOS

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM.

A la Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para la realización de los estudios de posgrado. Al proyecto IN-215614 del PAPIIT por la beca otorgada para la obtención de grado.

A mi tutora la Dra. Blanca Estela Hernández Baños.

A los miembros del jurado, el Dr. Juan Pablo Jaramillo Correa y el Dr. Luis Antonio Sánchez González.

AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

A mi familia y amigos por todo.

Al Biólogo Alejandro Gordillo Martínez del Museo de Zoología "Alfonso L. Herrera" de la Facultad de Ciencias de la UNAM.

ÍNDICE

RESUMEN.....	
ABSTRACT.....	
I.INTRODUCCIÓN.....	1
<i>La especie Habia rubica</i>	7
II.MÉTODO.....	10
<i>Muestreo</i>	10
<i>Trabajo de laboratorio</i>	11
<i>Análisis filogenéticos</i>	12
<i>Diversidad y estructura genética</i>	13
<i>Tiempos de divergencia</i>	13
III.RESULTADOS.....	14
IV.DISCUSIÓN.....	31
V.CONCLUSIONES.....	38
LITERATURA CITADA.....	36
APÉNDICE I.....	43
APÉNDICE II.....	50

LISTA DE FIGURAS Y TABLAS

Figura 1. Rutas migratorias hipotéticas entre bosques del Atlántico y el Amazonas.....	6
Figura 2. Mapa de distribución de las subespecies de <i>Habia rubica</i>	8
Figura 3. Mapa de distribución y puntos de colecta de las poblaciones de <i>Habia rubica</i>	11
Figura 4. Hipótesis filogenética y red de haplotipos del marcador molecular ND2.....	16
Figura 5. Hipótesis filogenética obtenida con secuencias de marcadores nucleares.....	19
Figura 6. Hipótesis filogenética obtenida con secuencias concatenadas.....	20
Figura 7. Curvas de distribución Mismatch para ocho filogrupos mitocondriales.....	23
Figura 8. Tiempos de divergencia obtenidos con secuencias de ND2.....	29
Figura 9. Tiempos de divergencia obtenidos con secuencias concatenadas.....	30
Tabla 1. Oligonucleótidos específicos utilizados para amplificar marcadores nucleares y mitocondriales.....	12
Tabla 2. Modelos de evolución obtenidos para cada marcador molecular.....	12

Tabla 3. Filogrupos mitocondriales y características del rango para ND2	22
Tabla 4. Matriz de diferencias pareadas (F_{ST}) entre filogrupos identificados con ND2.....	24
Tabla 5. Sumario de AMOVA entre filogrupos identificados con ND2.....	26
Tabla 6. Sumario de diversidad para los marcadores nucleares.....	27

RESUMEN

Las especies neotropicales poseen una compleja historia de diversificación. Ésta se encuentra influenciada por factores geográficos, ecológicos, climáticos y geológicos que actúan sobre los linajes y modelan los patrones de distribución de sus poblaciones. La filogeografía analiza los patrones y procesos que determinan esta distribución geográfica de los linajes genéticos. En este trabajo se exploró la estructura genética de las poblaciones de *Habia rubica* (Red-crowned Ant-tanager) utilizando secuencias de cinco marcadores moleculares (*ND2*, *ACO1-19*, *MUSK*, *FGB-15* y *ODC*), cubriendo el área de distribución de la especie, desde México hasta Sudamérica. Con estos datos se obtuvieron estimados de diversidad y estructura genética, hipótesis filogenéticas de Mr. Bayes y análisis de tiempos de divergencia. La hipótesis filogenética de marcadores moleculares concatenados muestra que esta especie se encuentra conformada por dos clados principales, uno que incluye las poblaciones de Mesoamérica y otro que incluye las poblaciones de Sudamérica. Dentro de estos clados se reconocen siete filogrupos principales cuyos límites tienen una correspondencia clara con algunas discontinuidades geográficas importantes, como el Istmo de Tehuantepec en México, la Cordillera de Talamanca e Istmo de Panamá en Centroamérica y el corredor diagonal de vegetación seca de Sudamérica (regiones Chaco, Cerrado, Caatinga). La coincidencia entre la estructura genética de estos filogrupos y la compleja estructura fisiográfica de Mesoamérica describe una historia de diversificación más activa y compleja hacia el norte de la distribución de esta especie. Por otro lado, en Sudamérica se encuentra una marcada separación de dos filogrupos que separa las poblaciones que habitan los bosques de lluvia en el oeste sudamericano (bosques del Amazonas) y las poblaciones que habitan los bosques tropicales del este (bosques del Atlántico) y noroeste sudamericano. Debido a que los procesos que dieron origen a la diversidad neotropical son aún discutidos, la historia evolutiva de la especie *Habia rubica* puede estar asociada a factores como los cambios climáticos y de vegetación ocurridos durante el Neógeno y Cuaternario.

ABSTRACT

The Neotropical species have a complex history of diversification as result of the influence of many geographical, ecological, climatic, and geological factors on the lineages and that are determinant in the distribution patterns of their populations. Phylogeography analyzes the patterns and processes that determine this geographic distribution of the genetic lineages. In this work we explored the genetic structure of *Habia rubica* populations in order to carry out a hypothesis about their evolutionary history and processes of diversification. We undertook a multilocus analysis using sequences of five molecular markers (*ND2*, *ACO1-19*, *MUSK*, *FGB-15* and *ODC*), covering the distribution area of the species, from Mexico to South America. With these data, we got estimates of diversity and genetic structure, phylogenetic hypothesis with Mr. Bayes and analysis of divergence times. The phylogenetic hypothesis of concatenated molecular markers shows that this species is made up by two principal clades, the first for Mesoamerican populations and the second is formed by South American populations. Within these clades we recognize seven principal phylogroups whose limits have a clear correspondence with some important geographical discontinuities, like the Isthmus of Tehuantepec in Mexico, the Cordillera de Talamanca and the Isthmus of Panama on Central America and the dry vegetation diagonal on South America (Chaco, Cerrado and Caatinga). The coincidence between the genetic structure of these phylogroups and the complex physiographic structure of the Mesoamerican region describes a history of diversification more active and complex to the north of the distribution of this species. On the other hand, on the South American we see a marked separation of two phylogroups between the populations that inhabit the rain forests from west of South America (Amazon forest) and the populations that inhabit the dry forests from east (Atlantic forests) and the northwest of South American. Because the processes that gave rise to the neotropical diversity yet they are discussed, the evolutive history of the species *Habia rubica* may be associated to different factors like climatic changes and vegetation occurring during Neogene and Quaternary.

I. INTRODUCCIÓN

La filogeografía es una disciplina de la biología evolutiva que se encarga de buscar patrones de variación geográfica dentro de la diversidad genética de las poblaciones naturales, en un contexto histórico (Gutiérrez-García y Vázquez-Domínguez 2012), debido a ello, el enfoque principal de esta disciplina es intraespecífico. Dado que las especies muestran una estructura genética poblacional que es resultado de la acción de diversos procesos históricos, ecológicos y demográficos, además de eventos únicos (Avice *et al.* 1987, Avice 2000), la filogeografía contribuye a descifrar cómo es que estos procesos han actuado sobre las poblaciones, en función de la distribución espacio-temporal que presentan sus genealogías actualmente (Avice *et al.* 1987, Avice 2000; Crisp *et al.* 2001, Posada *et al.* 2006, Grehan 2011). Esta búsqueda de los patrones y procesos que han moldeado la genealogía de las especies permite integrar elementos como el tiempo de diferenciación entre linajes y el papel de algunas características fisiográficas como ríos, montañas y fallas, que pudieran estar o haber estado actuando como barreras o corredores al flujo génico para explicar cómo éstos modelaron la distribución actual de los linajes o grupos de especies (Moritz *et al.* 2000, Gutiérrez-García y Vázquez-Domínguez 2011).

Estos estudios filogeográficos han llevado al desarrollo de las principales ideas acerca de la historia de la diversificación de los grupos biológicos en diferentes regiones de la tierra (Moritz *et al.* 2000, Gutiérrez-García y Vázquez-Domínguez 2011). Uno de los ejemplos más ampliamente discutidos es el origen evolutivo de las especies neotropicales. Sobre esto existen al menos dos hipótesis (Rull 2008). La primera postula que las especies neotropicales modernas se surgieron como resultado de cambios paleogeográficos ocasionados por la deriva continental, ocurrida durante el periodo Paleógeno (~65 Ma) o incluso antes (Hewitt 2000, Colinvaux y de Oliveira 2001, Willis y Niklas 2004, Nores 2004). Esta reorganización paleogeográfica dio origen a diversas características fisiográficas tales como la orogenia Andina, al cierre del Istmo de Panamá o a la inundación de las cuencas de los ríos Orinoco y Amazonas, producida por mares epicontinentales (Nores 2004, Bush y Hooghiemstra 2005); todos estos eventos pudieron promover la especiación por vicarianza. La segunda hipótesis postula un origen más reciente producido por los ciclos glaciales-interglaciares ocurridos durante el Pleistoceno (periodo Cuaternario, hace 2.5 millones de años), que promovieron condiciones ambientales más frías y más secas en los trópicos, una aridez de las tierras bajas neotropicales que favoreció la fragmentación de los bosques lluviosos. Estos fragmentos debieron haberse distribuido dentro de una extensa zona de desiertos y/o sabanas, promoviendo la especiación (Whitmore y Prance 1987, Hooghiemstra y van del Hammen 1998, Hewitt 2000, Bennett 2004). Esta hipótesis ha sido ampliamente criticada debido a la escasez de un registro palinológico que la sustente (Colinvaux *et al.* 2001, Bush y de Oliveira 2006), el bajo apoyo obtenido en modelos de simulación para escenarios de sabana en la región amazónica durante el Último Máximo Glacial, (Cowling *et al.* 2001, Mayle *et al.* 2004) y al hecho de que datos genéticos de animales asociados a bosques de lluvia muestran un origen anterior al Pleistoceno (Moritz *et al.* 2000, Glor *et al.* 2001). Sin embargo, actualmente el origen de la fauna neotropical se asume como una mezcla compleja de especies y linajes intra-específicos que se originaron en diferentes tiempos como respuesta a cambios paleogeográficos y climáticos, que produjeron diversos mecanismos de especiación o tendencias de diversificación ocurridos durante los periodos Neógeno-Cuaternario (Zink *et al.* 2004, Bush 2005, Rull 2006, 2008). Esta idea parece coincidir mejor con la evidencia obtenida a partir de datos moleculares, donde se concluye que los linajes del Neotrópico han diversificado a diferentes tasas y tiempos (Weir 2006).

El proceso de diversificación de las especies se encuentra fuertemente influenciado por eventos como la tectónica de placas y el cambio climático que promueven la especiación por

vicarianza, además de aquellos procesos de especiación promovidos por eventos de dispersión. Los efectos de los cambios paleogeográficos del Mioceno y el Plioceno sobre las tendencias de especiación se relacionan con la formación y desaparición de barreras y puentes, que influyen e incluso cambian los patrones de migración y aislamiento que favorecen la vicarianza (Coyne y Orr 2004, Rull 2008). De hecho, el mismo proceso de reorganización de las placas tectónicas que dio origen a la Cordillera Andina terminó promoviendo la formación de un puente terrestre que uniría a Sudamérica con Norteamérica, hace aproximadamente 7 a 3.5 Ma (Webb 1991, Quijano-Abril *et al.* 2014, Suárez-Atilano *et al.* 2014). Este puente es conocido hoy día como el Istmo de Panamá y su formación dio origen a uno de los eventos de migración terrestre más y mejor conocidos de la historia biológica, el Gran Intercambio Biótico Americano, sucedido entre 3.1 y 2.5 Ma (Coates y Obando 1996, Cavers *et al.* 2003, Webb 2006, Woodburne 2010, Gutiérrez-García y Vázquez-Domínguez 2012, Quijano-Abril *et al.* 2014, Suárez-Atilano *et al.* 2014). Este evento permitió que varias especies terrestres ampliaran su distribución, promoviendo la radiación de numerosos linajes (Quijano-Abril *et al.* 2014), y significó también el surgimiento de una barrera geográfica para las especies marinas (Hewitt 2000). Algunos estudios biogeográficos realizados con flora (Raven y Axelrod 1974), fauna (Savage 1982) y registros palinológicos (Graham 1999) indican que antes de que concluyera la formación del puente de Panamá hubo numerosos eventos de dispersión, principalmente de Sudamérica hacia Norteamérica, en un periodo entre hace 5 y 3 Ma (Coney 1982). Más aún, se ha postulado que algunos eventos de dispersión aún más antiguos habrían tenido lugar debido a la existencia de un Arco Volcánico originado en la época del Paleoceno tardío (periodo Paleógeno), que sería responsable de la formación de Costa Rica y Panamá (Echeverry y Morrone 2013) o bien, por el cruce de numerosas especies terrestres a través del mar, principalmente en dirección sur-norte (Webb 2006, Woodburne 2010).

La emergencia gradual de Centroamérica desde un conjunto de islas hacia un puente terrestre ha facilitado no solo la migración y la colonización de especies de flora y fauna originarias del norte y sur del continente, sino el surgimiento de numerosas especies endémicas (Gutiérrez-García y Vázquez-Domínguez 2012). Uno de los eventos de mayor influencia fue, sin duda, las numerosas invasiones de angiospermas que provenían de Sudamérica y que fueron modificando la composición vegetal de la zona hoy conocida como Centroamérica (Burnham y Graham 1999). Estos eventos de dispersión muy probablemente fueron realizados a través de una cadena de islas que a su vez producirían aislamientos sucesivos de poblaciones establecidas en la península proto-Mesoamericana. El aislamiento pudo haber sido promovido además por factores importantes que limitarían la dispersión de los organismos tales como las corrientes marinas del sur y el clima más templado del norte (Savage 1982). Un segundo factor que pudo haber promovido el aislamiento geográfico en esta región fue el carácter cíclico de las fluctuaciones climáticas del Pleistoceno, ocurridas entre 1.6 y 0.01 Ma y cuya influencia sobre la flora mesoamericana causó la fragmentación de una extensa área de bosque tropical que comenzó a restringir la distribución de muchas especies que quedaron confinadas en poblaciones refugio. Esto sucedió principalmente en la región comprendida entre Guatemala y el noroeste de Colombia, durante el Último Máximo Glacial (Toledo 1982, Leyden 1984, Islebe y Hooghiemstra 1997, Hewitt 2000).

Hoy en día la zona geográfica comprendida entre el oeste de Panamá, al norte del Istmo, y el sur de México es conocida como Mesoamérica (García-Moreno *et al.* 2006, León-Paniagua *et al.* 2007). Es un complejo topográfico conformado por numerosas cadenas montañosas que han promovido el aislamiento y la especiación (Cracraft y Prum 1988), por lo cual Mesoamérica es considerada también uno de los centros de biodiversidad más importantes de la Tierra (Myers *et al.* 2000, Myers 2003, Mittermeier *et al.* 2005), producto también de su complejo ensamble de biotas afines a las regiones biogeográficas neártica de Norteamérica y neotropical de

Sudamérica. Esta región cuenta con una gran heterogeneidad de ecosistemas que son resultado de una topografía altamente fragmentada (Coates y Obando 1996), donde la distribución y composición de la flora y fauna han estado fuertemente influenciadas por eventos de origen tanto climático como geológico (Burnham y Graham 1999). Esta heterogeneidad geológica y ambiental tiene por lo tanto el potencial de producir gran cantidad de patrones filogeográficos intra-específicos influenciados por la compleja historia geológica y biogeográfica, por los cíclicos cambios en el clima, la vegetación y el nivel del mar, junto a procesos orogénicos que actúan de manera más constante, como la historia de la tectónica de placas que genera el levantamiento de las cadenas montañosas (Iturralde-Vinent 2006, Arbeláez-Cortés *et al.* 2010). La complejidad geológica de la región por la presencia de estas cadenas, así como de tierras bajas, lagos, ríos y la actividad volcánica, además de la dinámica climática histórica dominada por la alternancia de huracanes, sequías e inundaciones, conformaron un conjunto de corredores y barreras que afectan la dispersión, aislamiento, migración, extinción y diversificación de la biota en diferentes escalas espacio-temporales (Savage 1982, Bermingham y Martin 1998, Burnham y Graham 1999, Cavers *et al.* 2003, Bryson *et al.* 2011, Gutiérrez-García y Vázquez-Domínguez 2012). Algunos datos moleculares sugieren que las especies de plantas características de bosque en Centroamérica tuvieron eventos de especiación entre las épocas del pre-Pleistoceno-Pleistoceno, mientras que las especies de Sudamérica se originaron casi exclusivamente en las épocas del pre-Pleistoceno (mediados del Mioceno hacia Plioceno); es decir, que las especies centroamericanas son aparentemente de origen más reciente (Pennington *et al.* 2004).

Hacia el norte de Mesoamérica se encuentra la frontera entre las regiones biogeográficas neártica y neotropical, conocida como Zona de Transición Mexicana (ZTM). Ésta se localiza en el centro de México (Suárez-Atilano *et al.* 2014) y está conformada principalmente por tres accidentes geográficos (Savage 1982): 1) la falla y vía marítima del Istmo de Tehuantepec, surgida en el sur de México hace aproximadamente 3 Ma (Castoe *et al.* 2009) y reconocida como barrera geográfica importante para los taxa de tierras altas (Marshall y Liebherr 2000) y como conexión entre las costas Mexicanas del Pacífico y el Golfo de México para taxa de tierras bajas (Huidobro *et al.* 2006); 2) la Faja Volcánica Transmexicana (FVT), una cadena volcánica que se extiende a través del centro de México y que se formó en diferentes etapas, comenzando en el lado oeste hace 23 Ma y finalizando en el lado este hace 2.5 Ma (Ferrusquía-Villafraña 1993, Becerra 2005); aunque su desarrollo más importante tuvo lugar entre 7 y 10 Ma (Marshall y Liebherr 2000, Rosas-Elguera *et al.* 2003). Esta es una de las características geográficas más importantes de México, debido al complejo desarrollo geológico que presenta, por lo que ha sido reconocida como una de las principales barreras históricas para numerosos taxa (Bryson *et al.* 2011). 3) La Sierra Madre Occidental situada en el noroeste de México. Ésta se originó durante el Mioceno y tuvo su desarrollo más importante durante los últimos 5 Ma (Riddle y Hafner 2006). Las tres características geográficas mencionadas, forman los límites de la llamada ZTM y su profundo impacto como barreras biogeográficas es reconocido en muchos estudios recientes (Marshall y Liebherr 2000, Devitt 2006). Presentan además una impresionante conjunción de taxa, que incluyen insectos, peces, anfibios, reptiles, aves y mamíferos, habitantes de tierras altas y bajas, todos con una marcada estructura filogeográfica modelada a través de estas barreras. Varios de estos estudios presentan un patrón emergente de historia vicariante dentro de taxa ampliamente distribuidos en Mesoamérica (Bryson *et al.* 2011).

La historia biogeográfica de Sudamérica se encuentra marcada por la influencia que tuvo la formación de la Cordillera de los Andes. Éste fue un evento crucial con gran efecto sobre el clima regional y tuvo largo impacto sobre la evolución del paisaje y los ecosistemas del norte de Sudamérica incluyendo la Amazonia (Hoorn 1993, Hoorn *et al.* 2010, Insel *et al.* 2010; Poulsen *et al.* 2010). El levantamiento del centro y el norte de los Andes fue un proceso no sincronizado

causado por el reacomodo de las placas tectónicas (Hoorn *et al.* 2010). Al principio, la subducción de las placas situadas a lo largo del margen del Océano Pacífico causaron un levantamiento montañoso situado en el centro de los Andes durante el periodo Paleógeno (65-33 Ma; Poulsen *et al.* 2010). A continuación, una ruptura de la placa del Pacífico y el choque posterior de las nuevas placas (Cocos, Nazca y Antártica) con las placas de Sudamérica y el Caribe, dieron como resultado un intenso proceso de formación montañosa en la parte norte de los Andes que ocurrió durante la transición de las épocas Oligoceno-tardío al Mioceno-temprano (~33 a 23 Ma, periodos Paleógeno-Neógeno). No obstante, el levantamiento montañoso más intenso sucedió hacia la mitad del Mioceno tardío y el Plioceno temprano (~12-4.5 Ma, periodo Neógeno; Hoorn *et al.* 2010, Quijano-Abril *et al.* 2014).

Paralelo al levantamiento de la cordillera de los Andes, se desarrolló un gran humedal de lagos superficiales y pantanos hacia el oeste de la Amazonia formando un nuevo sistema acuático conocido como "Sistema Pebas" hace aproximadamente 23 a 10 millones de años (Hoorn *et al.* 2010). Este progreso de la formación montañosa de los Andes superó una elevación crítica de ~2000 metros, lo que ocasionó un incremento en la precipitación hacia el lado este. El acoplamiento entre los efectos de la tectónica de placas y los procesos climáticos promovieron un levantamiento adicional, erosión y abastecimiento de agua y sedimento (Insel *et al.* 2010, Poulsen *et al.* 2010). Sin embargo, este flujo de sedimento hacia las tierras bajas del Amazonas no fue continuo y es posible que existieran cuencas intra-montañosas y montañas capturando este flujo por periodos de millones de años en pulsos de deposición hacia el este (Hoorn *et al.* 2010).

Hace aproximadamente 10 millones de años, tiempo que coincide con el descenso del nivel del mar, el levantamiento del norte de los Andes fraccionó la Amazonia, propiciando posibles eventos de especiación alopátrica (Quijano-Abril *et al.* 2014). Los sedimentos Andinos alcanzaron la costa del Atlántico a través del sistema Amazónico en un intervalo de tiempo entre hace 10 a 7 millones de años cuando el río Amazonas se formó completamente (Figueiredo *et al.* 2009, 2010). Los humedales del Amazonas cambiaron así de un sistema lacustre a un sistema fluvial llamado "Acre" (Hovikoski *et al.* 2007, Latrubesse *et al.* 2010). Posteriormente, las llanuras de inundación de este sistema fueron dominadas por pastos, lo que ocasionó la desaparición de los humedales entre 7 y 2.5 millones de años atrás (Richardson *et al.* 2001, Erkens *et al.* 2007). A partir de entonces la Amazonia occidental ya tendría las características del paisaje tal como lo conocemos hoy (Hoorn *et al.* 2010).

Esta conformación Amazónica, resultado de la historia geológica y climática de la región, representa en sí misma una barrera geográfica a la dispersión de diversos grupos de organismos hacia ambos lados del río Amazonas (Hayes y Sewlal 2004). Existen análisis que apoyan fuertemente la predicción de que la sección más amplia del río Amazonas, situada al este, representa una gran barrera para la dispersión de las aves paserinas, en comparación con la región oeste, que es más angosta (Hayes y Sewlal 2004). Por su parte, Mayr (1942) hipotetizó explícitamente que los ríos de la Amazonia pudieron haber "dado los primeros pasos hacia la especiación" de la fauna neotropical; mientras que Sick (1967) discutió las formas vicariantes (subespecies o razas geográficas) de las aves "sobre lados opuestos de ciertos ríos" y postuló que los ancestros de las aves de la Amazonia "vivieron en un tiempo cuando el área aún no estaba dividida por grandes ríos como en la actualidad". Este proceso es descrito en la "hipótesis de barrera rivereña" que postula que la formación de los grandes ríos del Amazonas, hace aproximadamente 5 Ma, fragmentó las poblaciones de aves que antiguamente se distribuían de forma continua, dentro de unidades aisladas donde la diferenciación ocurrió en alopatria (*e.g.* Sick 1967, Haffer 1974, Capparella 1988, 1991, Ribas *et al.* 2012). Se ha llegado a demostrar que los ríos de la Amazonia tienen alta efectividad como un impedimento al flujo de genes en

aves (Capparella 1988, 1991, Smith *et al.* 2014) y roedores (Patton *et al.* 1994), aún entre poblaciones divididas por el río, que presentan alta diferenciación genética. El escaso conocimiento sobre la dinámica y origen de estos biomas ha incentivado la realización de diferentes estudios relacionados con la historia tectónica de las áreas geográficas en donde se encuentran actualmente y con la biología de las especies que lo habitan (Pennington *et al.* 2000, 2004, 2009; Padilla y Halffter 2007, Caetano *et al.* 2008).

Los bosques de lluvia de la cuenca Amazónica y los bosques tropicales del Atlántico (mata Atlántica) son dos de los dominios morfoclimáticos más importantes de Sudamérica (Ab'Saber 1977) y juntos constituyen una de las áreas tropicales más diversas del mundo. Ambos bosques se encuentran separados por una faja diagonal de vegetación seca, más abierta que incluye la región geográfica de Chaco, distribuido en el norte de Argentina, este de Bolivia y Paraguay y las ecorregiones de Cerrado y Caatinga distribuidas en el centro y norte de Brasil respectivamente. Este corredor de vegetación seca ha sido considerado una importante barrera para la migración de especies entre las dos regiones del bosque del Amazonas y el Atlántico (Por 1992). A pesar de que ambas regiones parecen ampliamente aisladas, los mapas de vegetación más actuales muestran que los bosques de galería y bosques distribuidos en parche constituyen una red interconectada (Oliveira-Filho y Ratter 1995). Hay amplia evidencia que apoya la hipótesis sobre la existencia de un antiguo contacto entre los bosques de ambas regiones a través de esta franja de vegetación seca (Por 1992, Oliveira *et al.* 1999, Costa 2003, Auler *et al.* 2004, Wang *et al.* 2004). Para explicar este contacto entre regiones se sugieren tres rutas principales (Figura 1), la primera, surgida durante el Mioceno medio a tardío y correría a través de la actual región de Cerrado y Mato Grosso en Brasil y a través de las sabanas de Chaco de Bolivia y Paraguay como consecuencia de los eventos geotectónicos ocurridos durante el periodo Neógeno (Hulka *et al.* 2006; Roddaz *et al.* 2006). La segunda ruta aparentemente sería más reciente y ocurriría durante el Plioceno y Pleistoceno, a través de las actuales regiones de Cerrado y Caatinga en el noreste de Brasil (Por 1992, Costa 2003, Auler *et al.* 2004, Wang *et al.* 2004) como resultado de la expansión del bosque de galería durante los cambios climáticos del Cuaternario.

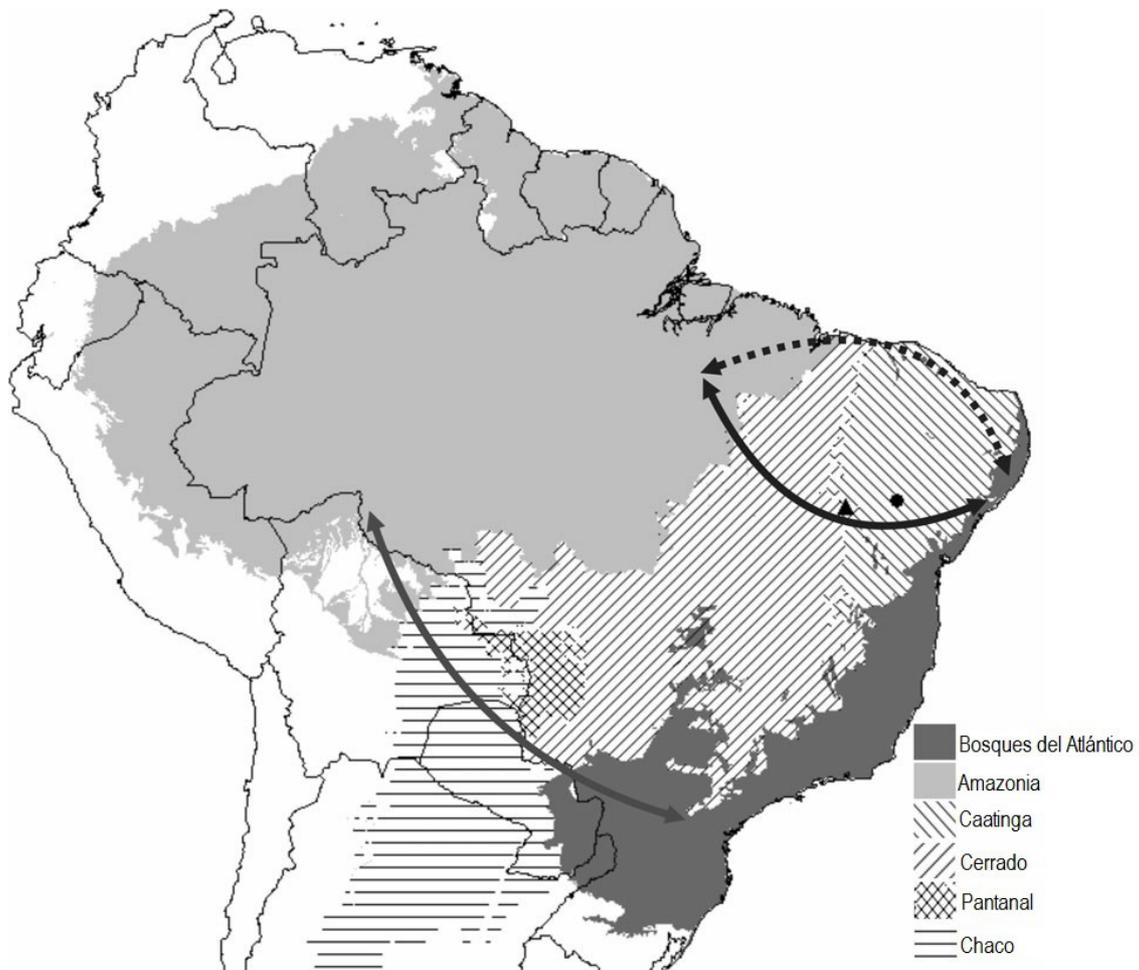


Figura 1. Rutas históricas hipotéticas de conectividad entre los bosques del Atlántico y la cuenca Amazónica. La línea gris representa la ruta de contacto más antigua. Las líneas negras representan las rutas de contacto recientes, donde la línea punteada es la ruta menos común. Imagen tomada y modificada de Batalha-Filho *et al.* (2013).

Existen datos sobre la alta tasa de especiación en el Neotrópico durante los últimos 2.6 millones de años, cuando los cambios climáticos fueron el factor medioambiental más importante (Rull 2008). La estructura genética de las poblaciones y especies ha sido conformada principalmente por los ciclos climáticos del periodo Cuaternario (Hewitt 2000). Esta interpretación de la estructura genética actual necesita ser considerada como resultado de diversas interacciones de tipo biológico, geográfico y de ajustes climáticos a los que han sido sometidos los organismos (Hewitt 2000). Se ha reconocido que, a nivel de biotas enteras, en las tierras bajas de América tropical algunos factores dinámicos como la temperatura, la precipitación y el nivel del mar, las interacciones entre ellos y la compleja topografía de la región, ejercen una gran influencia como agentes que contribuyen al proceso de especiación y estructuración genética. Aunque existe un gran debate sobre la cronología de dicha influencia, pues algunos estudios sugieren que mientras los cambios climáticos del Pleistoceno son considerados uno de los factores de mayor influencia para la especiación (Noonan y Gaucher 2005, Rull 2006), mucha de la diversidad de las especies tropicales se originó antes del Pleistoceno (Hewitt 1996, Hewitt 2000, Zarza *et al.* 2008).

La especie Habia rubica (Red-crowned Ant-tanager).

El género *Habia* pertenece al grupo de las llamadas aves oscines o canoras. Éstas representan el segundo linaje más diverso de aves del continente americano, solo después de la diversidad que presenta la radiación del grupo de las suboscines sudamericanas (Barker *et al.* 2004). Debido a que las oscines presentan un rango de distribución muy amplio y en consecuencia son un grupo ecológicamente muy diverso, su clasificación, basada en caracteres esencialmente morfológicos, ha derivado en numerosos conflictos taxonómicos (Klicka *et al.* 2000, 2007) y diferentes clasificaciones han sido propuestas. De esta manera, mientras la taxonomía clásica registra alrededor de 823 especies clasificadas dentro de 200 géneros que se agrupan en las cinco tribus, Icterini (mirlos y especies relacionadas), Parulini (Parulidos), Emberizini (gorriones), Thraupini (tangaras) y Cardinalini (cardenales y gorriones de pico ancho), (Sibley y Monroe 1990). El desarrollo de estudios filogenéticos moleculares ha brindado a los taxónomos una amplia gama de caracteres que pueden ser utilizados para explorar las relaciones filogenéticas mediante el uso de técnicas como el análisis de secuencias de DNA (Tamura *et al.* 2011). Estas nuevas revisiones taxonómicas indican que las aves oscines cuentan con alrededor de ~832 especies clasificadas dentro seis familias que son: Cardinalidae, Emberizidae, Icteridae, Parulidae, Passerellidae y Thraupidae, que conforman los subclados mayores de la filogenia (Barker *et al.* 2015). Ambas clasificaciones confirman la monofilia entre las tribus y/o familias de oscines. No obstante, existe una gran cantidad de especies cuya posición taxonómica dentro de estas clasificaciones es aún incierta (Klicka *et al.* 2000).

Uno de estos casos de posición taxonómica reciente apoyada en datos moleculares es el de la especie *Habia rubica* (Vieillot 1817). Aunque ha sido clasificada tradicionalmente como miembro de la familia de las tangaras verdaderas (Thraupidae, Howell y Webb 1995, AOU 1998, Hilty 2011), la evidencia molecular indica que este género se encuentra más estrechamente relacionado con la familia Cardinalidae, a la que actualmente pertenece (Chesser *et al.* 2009). Dichos análisis basados en datos moleculares de DNA mitocondrial y nuclear (Cytb, Burns 1997; Cytb y ND2, Klicka 2007; Cytb, ND2, RAG1, ACOI-I9, FGB-I5 y MB-I2, Barker *et al.* 2015; COI, Cytb, FIB5 y VLDL9R, Lavinia *et al.* 2015) revelan también que la especie *Habia rubica* está más estrechamente relacionada con las especies del género *Chlorothraupis*, con las que forma una relación monofilética, que con el resto de las especies del género *Habia* (*Habia fuscicauda*, *Habia gutturalis*, *Habia atrimaxilaris* y posiblemente *Habia cristata*), por lo que este grupo podría considerarse parafilético a nivel de género.

De distribución exclusivamente americana, *Habia rubica* es una especie altamente polítipica con marcada variación geográfica e individual dentro de la cual se han descrito 17 subespecies (Hilty 2011). Su área de distribución va desde el centro de México hasta el noreste de Argentina y sureste de Brasil, en un rango de altitud entre los 500 y los 2250 msnm (Hilty 2011). El dimorfismo sexual en esta especie está determinado por diferencias en la coloración, el tamaño y el peso. Los machos presentan un plumaje que va desde el tono rosado al rojizo oscuro; miden entre 17 y 19 cm y pesan entre 27.7 y 42.9 g. Las hembras presentan una coloración que va desde el gris al café oliva y pesan entre 22.5 y 37 g. (Howell y Webb 1995, AOU 1998, Hilty 2011). De acuerdo con el *Handbook* de las Aves del Mundo (del Hoyo *et al.* 2011), las diferencias entre subespecies se encuentran principalmente en el gradiente de coloración que presenta el plumaje en las partes superiores e inferiores del cuerpo entre poblaciones. Dicha clasificación morfológica indica que cinco de las 17 subespecies se encuentran distribuidas entre el este y oeste de México hasta el norte de Centroamérica, dos en el centro y sur de Centroamérica y diez en las zonas este, oeste y noroeste de Sudamérica (Figura 2).

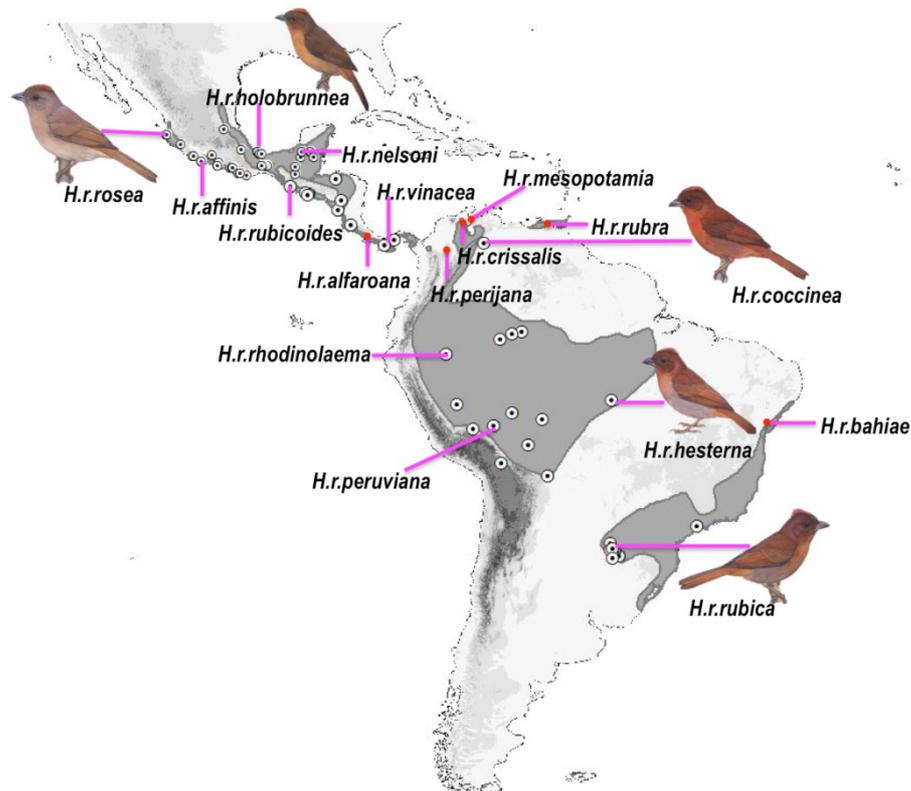


Figura 2. Área de distribución de las subespecies descritas dentro de la especie *Habia rubica* (Vieillot 1817). ArcView GIS v3.2 (ESRI 1999). Imágenes tomadas y modificadas de del Hoyo et al. (2011). Los puntos rojos representan subespecies no muestreadas en este trabajo.

La distribución geográfica de cada una de las subespecies se describe a continuación. Del lado oeste de México se encuentran dos subespecies, ***Habia rubica rosea*** (Nelson 1898) y ***Habia rubica affinis*** (Nelson 1897). Ambas presentan una coloración rosa pálido y se distribuyen sobre la vertiente del Pacífico, la primera abarcando los estados de Nayarit, Jalisco y Guerrero, mientras que la segunda está restringida al suroeste de Oaxaca. En el lado este de México se encuentran tres subespecies, ***Habia rubica holobrunnea*** (Griscom 1930), distribuida sobre la vertiente del Golfo de México, desde el sur de Tamaulipas hasta el noreste de Oaxaca; ***Habia rubica nelsoni*** (Ridgway 1902), que se localiza en la Península de Yucatán, en el sureste de México y ***Habia rubica rubricoides*** (Lafresnaye 1844), que se distribuye en el sur-centro de México, desde Puebla y este de Oaxaca hasta Tabasco y Chiapas. Esta subespecie se extiende hacia los países del norte de Centroamérica desde Guatemala y Belice hasta Honduras, El Salvador y posiblemente Nicaragua. Estas tres subespecies son de coloración rojiza con ligeras variaciones en la tonalidad de la cabeza, el dorso, la garganta y partes inferiores (Hilty 2011).

En Centroamérica se reconocen dos subespecies más, ***Habia rubica alfaroana*** (Ridgway 1905), cuya distribución se restringe al noroeste de Costa Rica (provincia de Guanacaste) y ***Habia rubica vinacea*** (Lawrence 1867), que se encuentra desde la vertiente del Pacífico en Costa Rica, en la Península de Nicoya, hacia el este de Panamá, hasta la provincia de Darién. Ambas subespecies son morfológicamente semejantes a la subespecie *rubricoides* descrita más arriba (Hilty 2011).

En el noroeste de Sudamérica se encuentran cinco subespecies, *Habia rubica perijana* (Phelps y Phelps Jr 1957), de la Sierra de Perijá situada entre Venezuela y Colombia; *Habia rubica coccinea* (Todd 1919), distribuida sobre la base de los Andes en el oeste de Venezuela (al sur del estado Lara), adyacente a la porción del norcentro de Colombia. *Habia rubica crissalis* (Parkes 1969), del noreste de Venezuela, en las montañas de la frontera entre los estados Anzoátegui y Sucre. *Habia rubica rubra* (Vieillot 1819), distribuido en Trinidad. *Habia rubica mesopotamia* (Parkes 1969), del este de Venezuela, en la región del río Yuruaní (lado este del estado de Bolívar). Estas subespecies presentan una coloración rojiza relativamente oscura, con el pecho color rojo coral que es más pálido hacia las partes inferiores (Hilty 2011).

En el oeste de Sudamérica se reconocen tres subespecies más: *Habia rubica rhodinolaema* (Salvin y Godman 1883), del este de los Andes en Colombia (desde el sur del Meta hasta Caquetá), noroeste de Brasil, este de Ecuador y noreste de Perú; *Habia rubica peruviana* (Taczanowski 1884), distribuida en el este de Perú, oeste de Brasil y norte de Bolivia (hacia el sur hasta Santa Cruz) y *Habia rubica hesterna* (Griscom y Greenway 1937), distribuida desde el centro de Brasil hasta el sur del Río Amazonas (al este del río Xingu, desde el sur hasta el norte de Mato Grosso). Estas subespecies son descritas ligeramente más pálidas casi rosadas hacia la parte de la garganta y el pecho con las partes inferiores color gris (Hilty 2011).

Por último se describen dos subespecies en el lado este de Sudamérica, *Habia rubica bahiae* (Hellmayr 1936), del noreste y centro-este de Brasil, y en el sureste de la bahía Alagoas. Y *Habia rubica rubica* (Vieillot 1817), del este de Paraguay, sureste de Brasil (desde el sur de Minas Gerais y sur de Espírito Santo hasta Río Grande del Sur) y noreste de Argentina (en la provincia de Misiones). Ésta es la subespecie nominal (tipo) descrita de color rojo marrón pálido en la parte superior, la corona color escarlata delimitada por una línea negra. La zona de la garganta, y frecuentemente el pecho, son de color rojo más brillante. Los costados son color gris. El iris es marrón oscuro. El pico es oscuro en la parte de la maxila y más pálido en la mandíbula (Hilty 2011).

El estudio más reciente sobre *Habia rubica* ha revelado que esta especie se encuentra conformada por al menos cuatro filogrupos que corresponden con las poblaciones del oeste de México (1), este de México-norte de Centroamérica (2), este de Sudamérica (3) y oeste de Sudamérica (4). Dichos filogrupos fueron identificados a partir de datos moleculares de DNA nuclear (FIB5, VLDL9R) y mitocondrial (COI, Cyt-b), (Lavinia et al 2015). Sin embargo dicho estudio carece de muestras representativas de las poblaciones mesoamericanas y algunas sudamericanas, en particular de las poblaciones del oeste de México, este-oeste del norte de Centroamérica, Panamá y noroeste de Sudamérica. Estas poblaciones son importantes para recuperar una hipótesis mejor resuelta sobre la historia evolutiva de la especie. Así, en este estudio se incluyen once subespecies de *Habia rubica*, exceptuando la subespecie endémica de Costa Rica *H. r. alfaroana*, cuatro subespecies de distribución aislada de Venezuela (*H. r. perijana*, *H. r. crissalis*, *H. r. mesopotamia*), la subespecie *H. r. rubra* de Trinidad y la subespecie *H. r. bahiae* del noreste de Brasil (subespecies con punto rojo en Figura 2).

OBJETIVOS

Objetivo general

Identificar patrones de variación genética dentro y entre las poblaciones de *Habia rubica* utilizando secuencias de DNA nuclear y mitocondrial.

Objetivos particulares

- Obtener una hipótesis filogeográfica para las poblaciones de la especie *Habia rubica*, basada en caracteres moleculares de origen nuclear y mitocondrial.
- Obtener valores de diversidad y estructura genética dentro y entre poblaciones de *Habia rubica*.
- Obtener estimados de tiempos de divergencia para la especie *Habia rubica* y proponer una hipótesis acerca de su proceso de diversificación.

II. MÉTODO

Muestreo.

Este proyecto contó con 144 secuencias del gen mitocondrial NADH deshidrogenasa subunidad 2 (ND2, 1041 pb). De ellas, 125 pertenecen a individuos de *Habia rubica* provenientes de México (51), Guatemala (4), El Salvador (9), Honduras (3), Nicaragua (5), Costa Rica (1), Panamá (8), Perú (12), Bolivia (9), Paraguay (13), Brasil (8), Argentina (3) y Venezuela (1); (Figura 3). El grupo hermano fue representado por 16 secuencias de las especies *Chlorothraupis olivacea* (3), *Chlorothraupis carmioli* (9) y *Chlorothraupis stolzmani* (4) distribuidas en Panamá, Ecuador, Perú y Bolivia. El grupo externo fue representado por 3 secuencias de las especies *Habia fuscicauda* (1), *Habia atrimaxilaris* (1) y *Habia gutturalis* (1). La elección del grupo hermano y el grupo externo está basada en la publicación sobre las relaciones filogenéticas de la familia Cardinalidae (Klicka *et al.* 2007).

Las secuencias del marcador mitocondrial ND2 se obtuvieron mediante la amplificación y secuenciación de 99 muestras provenientes de las colecciones ornitológicas albergadas en los siguientes museos: **MZFC**, Museo de Zoología de la Facultad de Ciencias de la UNAM (44); **LSUMNH**, Museo de Historia Natural de la Universidad del Estado de Louisiana (21); **UWBM**, Museo Burke de la Universidad de Washington (14); **KUNHM**, Museo de Historia Natural de la Universidad de Kansas (20). Adicionalmente se contó con 41 secuencias de este mismo gen proporcionadas directamente por el Dr. John Klicka (UWBM) y con cuatro secuencias más obtenidas del GenBank (Klicka *et al.* 2007, Barker *et al.* 2012). La procedencia de cada muestra y sus respectivos datos de colecta se incluyen en el Anexo I.

Una vez obtenido el árbol filogenético mitocondrial (ver abajo), se delimitó un segundo muestreo de 37 individuos representativos de los grupos genéticos (clados) encontrados a lo largo de la distribución geográfica de la especie (Figura 3). Para este subgrupo fueron amplificados adicionalmente cuatro marcadores nucleares, dos intrones ligados al sexo de los genes *Aconitasa I* (*ACO1-I9*, 852 pb) y el receptor específico de músculo Tirosina Kinasa (*MUSK*, 576 pb) y dos intrones autosómicos de los genes *Ornitina Descarboxilasa* (*ODC*, 711 pb) y *Beta-Fibrinogeno* (*FGB-I5*, 577pb).

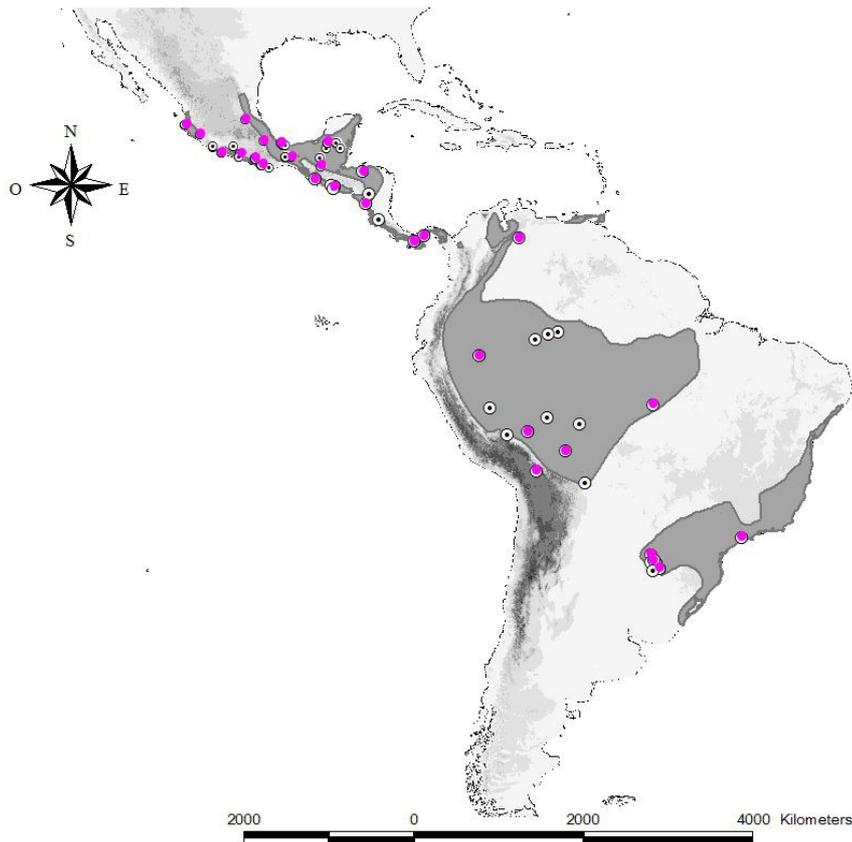


Figura 3. Mapa de distribución y puntos de colecta de las poblaciones de *Habia rubica* para el gen mitocondrial ND2 (puntos blancos y rosas) e intrones nucleares (puntos rosas). ArcView GIS v3.2 (ESRI 1999).

Trabajo de laboratorio.

Se extrajo el DNA genómico utilizando el kit DNeasy (Qiagen, Valencia, CA, USA), siguiendo las especificaciones del fabricante. Posteriormente fueron amplificados los marcadores moleculares antes mencionados por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando oligonucleótidos específicos (Tabla 1).

La amplificación se realizó en un volumen de reacción de 12.5µl utilizando el siguiente programa de termociclación: un ciclo de desnaturalización a 94°C por 10 minutos, seguido de 40 ciclos a 94°C por 30 segundos, 45 segundos a la temperatura específica de alineamiento por gen (ver Tabla 1) y 2 minutos a 72°C, terminando con una extensión a 72°C por 10 minutos. Los productos de PCR fueron enviados a secuenciar a la High-Throughput Genomics Unit (Universidad de Washington, Seattle, WA). Las secuencias obtenidas fueron alineadas y editadas manualmente utilizando el software Sequencher v4.8 (Gen Codes Corporation) y Clustal X v2.0 (Larkin *et al.* 2007). Este último alineamiento sirvió para diseñar diferentes matrices de análisis (marcador por marcador y concatenados) y transformarlas a formatos específicos para cada programa.

Origen	Región	Oligos	Secuencia (5' - 3')	Temperatura de	Fuente
--------	--------	--------	---------------------	----------------	--------

				alineamiento	
Mitocondrial	ND2	H6313	CTC TTA TTT AAG GCT TTG AAG GC	54°C	Sorenson <i>et al.</i> 1999
		L5219	CCC ATA CCC CGA AAA TGA TG	54°C	Sorenson <i>et al.</i> 1999
Nuclear	MUSK	MUSK-I3F	CTT CCA TGC ACT ACA ATG GGA AA	56°C	Kimball <i>et al.</i> 2009
		MUSK-I3R	CTC TGA ACA TTG TGG ATC CTC AA	56°C	Kimball <i>et al.</i> 2009
Nuclear	ACOI-I9	ACOI-I9F	CTG TGG GAA TGC TGA GAG ATT T	60°C	Kimball <i>et al.</i> 2009
		ACOI-I9R	CTG CAG CAA GGC ACA ACA GT	60°C	Kimball <i>et al.</i> 2009
Nuclear	FGB-I5	Fib5F	CGC CAT ACA GAG TAT ACT GTG ACA T	60°C	Kimball <i>et al.</i> 2009
		Fib6R	GCC ATC CTG GCG ATT CTG AA	60°C	Kimball <i>et al.</i> 2009
Nuclear	ODC	ODCF	GAC TCC AAA GCA GTT TGT CGT CTC AGT GT	65°C	Primmer <i>et al.</i> 2002
		ODCR	TCT TCA GAG CCA GGG AAG CCA CCA CCA AT	65°C	Primmer <i>et al.</i> 2002

Tabla 1. Oligonucleótidos específicos utilizados en este proyecto para amplificar marcadores nucleares y mitocondriales.

Análisis filogenéticos.

Se diseñaron tres matrices diferentes a partir de las cuales se obtuvo una hipótesis filogenética. La primera incluyó 144 secuencias del marcador mitocondrial ND2, la segunda fue conformada por las secuencias concatenadas de los marcadores nucleares ACOI-I9, MUSK, FGB-I5 y ODC para 37 individuos, y la tercera incluyó las secuencias concatenadas de los marcadores nucleares junto al marcador mitocondrial ND2 (37 individuos). Estas dos últimas matrices se concatenaron de manera particionada para poder fijar modelos de evolución independientes para cada marcador molecular. Estos modelos de evolución fueron estimados con el programa JModelTest v3.8 (Posada 2008) y seleccionados de acuerdo con el criterio de información de Akaike (AIC: Akaike 1973). El sumario de características por marcador molecular utilizadas en este y otros análisis se especifica en la tabla 2.

Cada filogenia fue estimada utilizando el criterio de inferencia bayesiana (IB) con el programa Mr. Bayes v3.2 (Ronquist *et al.* 2012). El análisis se corrió empleando cuatro cadenas markov montecarlo metrópolis (MCMC), una fría y tres calientes, con diez millones de iteraciones tomando muestras cada 250 generaciones. Posteriormente se eliminaron los primeros dos millones de árboles generados como *burn-in* (20%).

Marcador molecular	Modelo evolutivo	nst	Tasa de evolución
ND2	TrN+I+G	6	Gamma
ACOI-I9	TIM2+G	6	Gamma
MUSK	TrN+G	6	Gamma
FGB-I5	HKY+G	2	Gamma
ODC	TrN	6	Equal

Tabla 2. Modelos de evolución obtenidos para cada marcador molecular. JModelTest v3.8 (Posada 2008).

Posteriormente se estimó la relación de los haplotipos de la especie utilizando el programa Network v4.6 (Bandelt *et al.* 1999). Esta red fue estimada considerando los agrupamientos genéticos obtenidos en la filogenia mitocondrial, empleando un algoritmo Median-Joining. Estos agrupamientos genéticos en adelante serán nombrados como **filogrupos** (*i.e.* poblaciones, grupos de poblaciones) para hacer una distinción entre éstos y los clados que los contienen.

Diversidad y estructura genética.

Para estimar los estadísticos de diversidad se establecieron previamente los grupos genéticos identificados en la filogenia mitocondrial, para posteriormente obtener información sobre el número de haplotipos (H), el número de sitios segregantes (S), el índice de diversidad haplotípica (Hd) y el índice de diversidad nucleotídica (π) de cada agrupamiento. Las secuencias de los intrones nucleares fueron caracterizadas estimando valores de diversidad genética como el número de sitios monomórficos, sitios polimórficos, *gaps* y datos ausentes. Esto se realizó con el programa DnaSP v5.0 (Librado y Rozas 2009).

También se estimaron los estadísticos F_s (Fu 1997) y D (Tajima 1989), con el objetivo de poner a prueba la hipótesis de cambios demográficos históricos (crecimiento poblacional). Los valores de F_s son utilizados para identificar fluctuaciones demográficas bajo una hipótesis de evolución neutral. Este estadístico se caracteriza por presentar valores negativos altos cuando hay un exceso de mutaciones recientes (Fu 1997). Por su parte, la D de Tajima es un estadístico que puede ser asumido como indicador de crecimiento poblacional cuando los valores estimados resultan negativos y significativos (Hedrick 2011). Para ambos estadísticos se utilizó el programa DnaSP v5.0 (Librado y Rozas 2009) estimando valores de significancia mediante el algoritmo de coalescencia con mil réplicas. Se obtuvieron también curvas de distribución del número de diferencias entre cada par de haplotipos (distribución *mismatch*, Harpending *et al.* 1998). Se estimó el índice de significancia *raggedness* (valor r , Harpending *et al.* 1994) en DnaSP v5.0 (Librado y Rozas 2009). Esto se realizó para comparar las fluctuaciones demográficas históricas, probando hipótesis de expansión poblacional a partir de poblaciones de tamaño constante y en crecimiento. Los histogramas obtenidos usualmente presentan una distribución multimodal en muestras tomadas de una población en equilibrio demográfico, mientras que la distribución de las poblaciones que han sufrido una reciente expansión demográfica es generalmente unimodal (Hernández-Baños *et al.* 2007, Harpending 1994). Los valores de significancia de dichas hipótesis son estimados mediante el valor de *raggedness* (valor r), que es una cuantificación del *smoothness*, es decir, de la tendencia a formar distribuciones unimodales típicos de las poblaciones en expansión. Así, un valor bajo de este índice indica que la población se encuentra en expansión, mientras que un valor alto de este índice indica que las poblaciones corresponden con un modelo de población estacionaria (Harpending 1994).

La estructura genética se analizó mediante la estimación de diferencias pareadas del índice de diferenciación de Wright (F_{ST}), entre los clados obtenidos en la filogenia mitocondrial. Este análisis se realizó con el programa Arlequin v3.5 (Excoffier y Lischer 2010). Para poder corroborar si la distribución geográfica de los individuos tiene alguna influencia sobre el patrón de distribución de la variación genética se realizaron también Análisis de Varianza Molecular (AMOVA). Para ello se utilizó el programa Arlequin v3.5 (Excoffier y Lischer 2010) realizando distintas particiones entre filogrupos, para poder inferir bajo qué estructura es posible explicar el mayor porcentaje de variación genética.

Tiempos de divergencia.

La estimación de los tiempos de divergencia se realizó de dos maneras, la primera utilizando la matriz completa de 144 secuencias del marcador mitocondrial ND2 y la segunda utilizando la matriz concatenada y particionada con los cinco marcadores moleculares (ND2, *ACO1-I9*, *MUSK*, *FGB-I5*, *ODC*). Este análisis se realizó con el programa BEAST v1.8 (Drummond *et al.* 2012) utilizando los modelos de sustitución obtenidos con el programa JModelTest v3.8 (Posada 2008; Tabla 2). Se fijó un proceso de especiación *Yule* (Yule 1924) como prior del árbol, en conjunto con un modelo logarítmico normal de reloj molecular relajado no correlacionado (Drummond *et*

al. 2006). Las tasas de divergencia evolutiva por marcador molecular se fijaron de la siguiente manera: 1.25×10^{-2} sustituciones/sitio/Ma (2.5% de cambio entre linajes por millón de años) para el gen mitocondrial ND2 (Smith y Klicka 2010); 1.35×10^{-3} sustituciones/sitio/Ma (2.7% de cambio entre linajes por millón de años) para los intrones autosómicos *ODC* y *FGB-I5* (Ellegren 2007) y 1.45×10^{-3} sustituciones/sitio/Ma (2.9% de cambio entre linajes por millón de años) para los intrones ligados al sexo *ACO-I9* y *MUSK* (Ellegren 2007). La calibración del árbol filogenético obtenido se realizó tomando en cuenta dos dataciones geológicas. La primera, utilizada para el nodo que separa los clados de Mesoamérica y Sudamérica, fue el cierre del Istmo de Panamá estimado entre 3.1 y 4.0 Ma (Daza *et al.* 2010, Smith y Klicka 2010), y la segunda fue el levantamiento de la Cordillera de Talamanca en Costa Rica, estimado entre 2.5 a 3.9 Ma (Marshall y Liebherr 2000, Daza *et al.* 2010); esta última se estableció para el nodo que separa el clado compuesto por los filogrupos del Golfo de México, Sureste de México-Noreste de Centroamérica y el Noroeste de Centroamérica, del filogrupo formado por las poblaciones de Panamá. Adicionalmente, se utilizó una calibración secundaria sobre la edad estimada para la divergencia entre la especie *Habia rubica* y las especies del género *Chlorothraupis* hace aproximadamente 5 Ma (Barker *et al.* 2015).

Para este análisis de tiempos de divergencia se especificó una distribución normal y una desviación estándar logarítmica de 1.0 en todos los casos. El análisis fue realizado con 100 millones de iteraciones con un muestreo cada 1,000 generaciones. Posteriormente, utilizando el programa TRACER v1.6 (Rambaut *et al.* 2013) se confirmaron valores aceptables de mezcla y estabilidad de verosimilitud mediante el tamaño efectivo adecuado del muestreo (ESS), estimado en valores superiores a las 200 unidades por parámetro. Después, utilizando las herramientas disponibles en el paquete de BEAST V. 1.8 (LogCombiner v1.8.0), se fijó un *burn-in* del 25% de los árboles obtenidos. Finalmente, con TreeAnnotator (BEAST v. 1.8) se sumaron los valores de probabilidad posterior de los árboles obtenidos para elegir el árbol con los valores de apoyo estadístico más alto en los clados por medio de Maximum Clade Credibility (MCC).

III. RESULTADOS

Análisis filogenéticos.

Las hipótesis filogenéticas obtenidas a partir de las tres matrices descritas en el método presentan diferentes grados de resolución de acuerdo a lo esperado por la forma de evolución de cada marcador molecular; sin embargo, existe en las tres topologías una correspondencia clara entre los clados recuperados y algunas de las principales características geográficas que podrían estar actuando como barreras al flujo génico entre las poblaciones de esta especie.

Filogenia mitocondrial.

Esta hipótesis filogenética presenta la topología con mayor resolución a nivel de filogrupos (Figura 4). En este árbol se identifican tres clados principales; el primero incluye las poblaciones mexicanas distribuidas sobre la vertiente del Pacífico mexicano, el segundo incluye las poblaciones distribuidas sobre la vertiente del Golfo de México y el sureste de México hasta Panamá, y el tercero comprende las poblaciones distribuidas en Sudamérica. Estos tres clados presentan una estructura genética profunda que en total separa ocho filogrupos bien diferenciados.

La nomenclatura empleada para delimitar estos filogrupos es la siguiente: **a.** *Pacífico mexicano norte*, grupo de poblaciones norteñas de la vertiente del Pacífico distribuidas en los estados de Jalisco y Colima; **b.** *Pacífico mexicano sur*, grupo de poblaciones distribuidas en los estados de Michoacán, Guerrero y suroeste de Oaxaca; **c.** *Golfo de México*, grupo de poblaciones distribuidas desde el sur de Tamaulipas hasta el noreste de Oaxaca; **d.** *Sureste de México-Noreste de Centroamérica*, grupo que incluye las poblaciones de Campeche, Quintana Roo y Chiapas en México, hasta Honduras, Nicaragua y Costa Rica en Centroamérica; **e.** *Noroeste de Centroamérica*, grupo que incluye las poblaciones de Guatemala y El Salvador; **f.** *Panamá*, grupo conformado únicamente por poblaciones de este país; **g.** *Oeste de Sudamérica*, grupo de poblaciones distribuidas en localidades de Bolivia, oeste de Brasil y Perú; **h.** *Este-Noroeste de Sudamérica*, grupo formado por poblaciones distribuidas en localidades de Paraguay, sureste de Brasil, noreste de Argentina y Venezuela.

Red de haplotipos.

En la red de haplotipos obtenida con secuencias del marcador mitocondrial ND2 se recuperaron ocho grupos que corresponden con los filogrupos obtenidos en la filogenia mitocondrial. Por esta razón fueron nombrados con la misma nomenclatura de acuerdo con la correspondencia geográfica que presentan (Figura 4). En esta red se observa que los filogrupos del Pacífico mexicano, *Golfo de México*, *Sureste de México-Noreste de Centroamérica* y *Noroeste de Centroamérica* están separados por 30 pasos mutacionales y se conectan con siete haplotipos reconstruidos (hipotéticos), necesarios para establecer las conexiones entre las redes. Estos haplotipos reconstruidos forman una reticulación (conexión circular) entre ellos, una característica propia de la baja resolución que existe entre secuencias que son genéticamente muy similares. Además, puede ser el resultado de una falta de muestreo, es decir, que no se ha logrado representar toda la diversidad genética que existe entre estas poblaciones. Esta conclusión es apoyada también por los valores bajos de probabilidad posterior obtenidos para este clado en la hipótesis filogenética mitocondrial (PP=0.53, Figura 4), lo que indica un grado alto de incertidumbre para esta relación.

Otra separación importante se encuentra entre los filogrupos de Centroamérica con respecto a los de Sudamérica. Esta relación cuenta con 45 pasos mutacionales y también conecta haplotipos hipotéticos que pueden ser señal de una falta de muestreo en las poblaciones de esta región. El filogrupo *Oeste de Sudamérica* es un caso singular, pues aunque la relación entre los haplotipos de esta zona es estable, se requiere una gran cantidad de haplotipos hipotéticos (doce) para conectar esta red con el filogrupo *Este-Noroeste de Sudamérica*. Entre estos dos filogrupos se encuentran 41 pasos mutacionales. En este caso también se puede encontrar concordancia con la hipótesis filogenética mitocondrial, donde el valor de probabilidad posterior para el clado Sudamericano es bajo (PP=0.59, Figura 4). Una mención aparte merece la relación recuperada dentro del filogrupo *Este-Noroeste de Sudamérica*. Esta relación es interesante ya que fue recuperada también mediante los análisis de filogenia descritos anteriormente y en la red de haplotipos se encuentra dada por 29 pasos mutacionales.

RESULTADOS CON SECUENCIAS DE DNA MITOCONDRIAL ND2

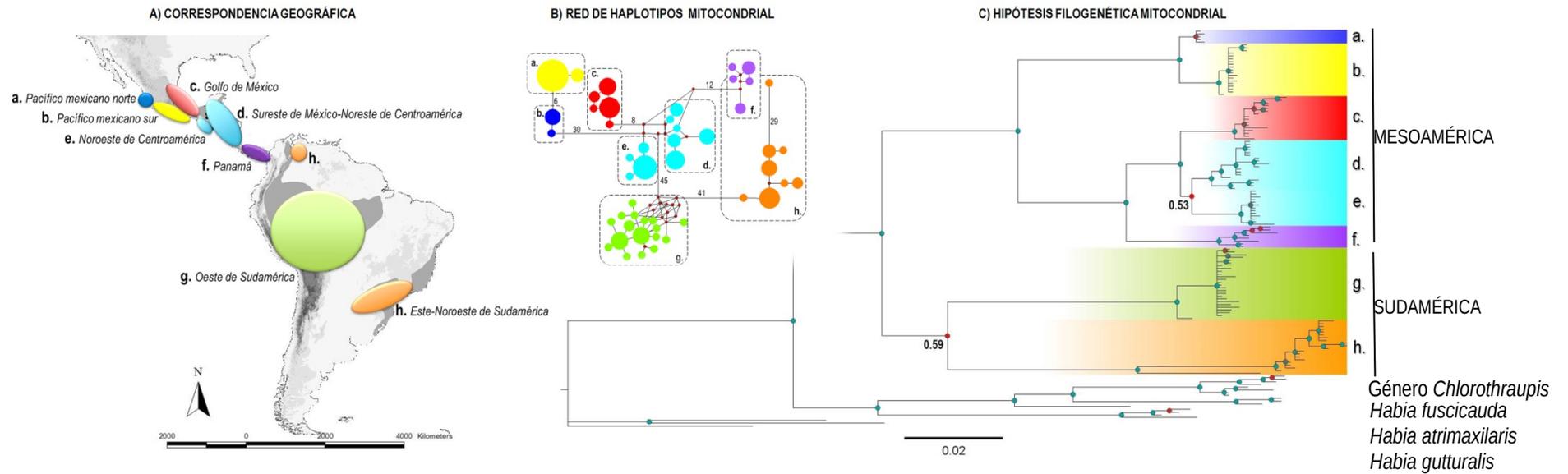


Figura 4. Resultados obtenidos con secuencias del marcador mitocondrial ND2. **A)** Mapa de distribución y filogrupos identificados dentro de las poblaciones de *Habia rubica*. ArcView GIS v3.2 (ESRI 1999); **B)** Red de haplotipos obtenida con Network v4.6 (Bandelt et al. 1999), los números en las líneas indican el número de pasos mutacionales entre filogrupos; **C)** Hipótesis filogenética obtenida con Mr. Bayes v3.2 (Ronquist et al. 2012).

Subespecies.

En cuanto a la correspondencia entre los filogrupos recuperados en la filogenia mitocondrial (Figura 4) y las unidades taxonómicas descritas a partir de caracteres morfológicos en esta especie (subespecies) se tiene que dicha relación es baja. Por ejemplo, en la región del Pacífico mexicano, el filogrupo *Pacífico mexicano norte* está compuesto por poblaciones que coinciden con la distribución más norteña de la subespecie *H. r. rosea* en los estados de Jalisco y Colima, y el filogrupo *Pacífico mexicano sur* incluye poblaciones cuya distribución coincide con las subespecies *H. r. rosea* desde Michoacán hasta Guerrero y *H. r. affinis* del oeste de Oaxaca.

Para la región que abarca la vertiente del Golfo de México, el sureste de México y el norte de Centroamérica, el filogrupo *Golfo de México* coincide completamente con la distribución descrita para la subespecie *H. r. holobrunnea* desde el sur de Tamaulipas hasta el noreste de Oaxaca. El filogrupo que incluye las poblaciones distribuidas en el sureste de México, Honduras, Nicaragua y Costa Rica (filogrupo: *Sureste de México-Noreste de Centroamérica*), incluye poblaciones de las subespecies *H. r. nelsoni* y *H. r. rubicoides*. El filogrupo que incluye poblaciones distribuidas en Guatemala y El Salvador (filogrupo: *Noroeste de Centroamérica*), coincide con la distribución descrita para las poblaciones de la subespecie *H. r. rubicoides* y finalmente, el filogrupo *Panamá*, coincide con la descripción geográfica de la subespecie *H. r. vinacea*.

Para la región sudamericana, el filogrupo *Este-Noroeste de Sudamérica* coincide con la distribución de las subespecies *H. r. rubica* del este de Paraguay, sureste de Brasil y noreste de Argentina y *H. r. coccinea* distribuida sobre la base de los Andes en el oeste de Venezuela. La correspondencia entre el filogrupo *Oeste de Sudamérica* y la(s) posible(s) subespecie(s) que incluye es más compleja de identificar. Esto se debe a que la región cuenta con al menos tres subespecies que se distribuyen de manera simpátrica en la región. Estas subespecies son *H. r. peruviana*, del este de Perú, oeste de Brasil y norte de Bolivia; *H. r. rhodinolaema*, del este de los Andes de Colombia, noreste de Brasil, este de Ecuador y noreste de Perú y *H. r. hesterna*, del centro de Brasil sobre el río Amazonas (Hilty 2011). Por lo tanto, no fue posible relacionar este filogrupo con alguna subespecie particular.

Finalmente, todas las reconstrucciones filogenéticas obtenidas en este trabajo recuperan una relación monofilética entre la especie *Habia rubica* y las especies del género *Chlorothraupis*, un resultado reportado en estudios previos (Burns 1997, Klicka *et al.* 2007, Barker *et al.* 2015, Lavinia *et al.* 2015). Sin embargo, la relación que guarda este clado con respecto de las especies *H. fuscicauda*, *H. atrimaxilaris* y *H. gutturalis* aún necesita ser revisado.

Filogenia nuclear.

En este árbol se pueden reconocer tres clados principales que se corresponden con las regiones de México, Centroamérica y Sudamérica (Figura 5). Estos tres clados están compuestos por cinco filogrupos claramente diferenciados. La nomenclatura empleada para delimitar estos filogrupos es la siguiente: **a.** *México*, que incluye las poblaciones del Pacífico mexicano, Golfo de México y sureste de México; **b.** *Norte de Centroamérica*, que incluye las poblaciones de Honduras, Nicaragua, Guatemala y El Salvador; **c.** *Panamá*, que incluye las poblaciones de este país; **d.** *Oeste de Sudamérica*, que incluye las poblaciones de Bolivia, oeste de Brasil y Perú y **e.** *Este-Noroeste de Sudamérica*, que incluye las poblaciones de Paraguay, sureste de Brasil, noreste de Argentina y Venezuela. Esta estructura básica podría estar representando los eventos de divergencia más antiguos, a partir de los cuales se originarían los haplotipos mitocondriales más recientes (ver discusión).

Filogenia concatenada.

En esta topología se identifican tres clados principales que corresponden con las regiones geográficas del Pacífico mexicano, Golfo de México hasta Centroamérica, y Sudamérica (Figura 6). Dentro de estos clados se identifican siete filogrupos con la siguiente nomenclatura: **a.** *Pacífico mexicano norte*; **b.** *Pacífico mexicano sur* y **c.** *Golfo de México*, que corresponden con las mismas poblaciones identificadas en la hipótesis filogenética mitocondrial; **d.** *Sureste de México-Norte de Centroamérica*, que incluye las poblaciones de Campeche, Quintana Roo y Chiapas en México, Honduras y Nicaragua como en la filogenia mitocondrial, más Guatemala y El Salvador; **e.** *Panamá*, **f.** *Oeste de Sudamérica*, y **g.** *Este-Noroeste de Sudamérica*, que corresponden con las poblaciones identificadas en la filogenia mitocondrial. Esta topología refleja las relaciones filogenéticas más estables, pues los valores de probabilidad posterior que apoyan cada uno de los clados y filogrupos son cercanos a 1.0. Aunque esta topología es bastante similar a la encontrada con DNA mitocondrial, la diferencia más significativa entre ambos árboles es que los datos concatenados presentan menor resolución para identificar la divergencia entre las poblaciones del sureste de México, Honduras y Nicaragua respecto a Guatemala y El Salvador; es decir, entre las poblaciones del norte de Centroamérica.

RESULTADOS CON SECUENCIAS DE DNA NUCLEAR *ACO1-9*, *MUSK*, *FGB-15*, *ODC*.

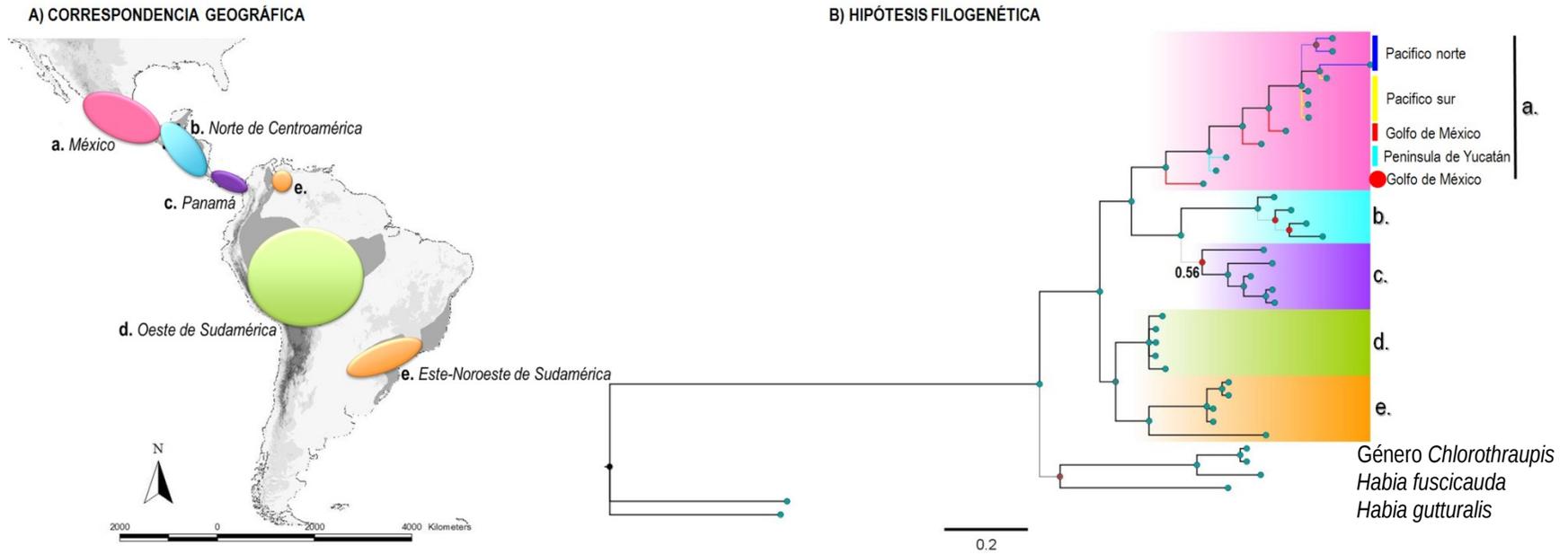


Figura 5. Resultados obtenidos con secuencias de los marcadores nucleares *ACO1-19*, *MUSK*, *FGB-15* y *ODC*. A) Mapa de distribución y filogrupos identificados dentro de las poblaciones de *Habia rubica*. ArcView GIS v3.2 (ESRI 1999); B) Hipótesis filogenética obtenida con Mr. Bayes v3.2 (Ronquist *et al.* 2012).

RESULTADOS CON SECUENCIAS DE DNA NUCLEAR Y MITOCONDRIAL *ACO1-9*, *MUSK*, *FGB-15*, *ODC*, *ND2*.

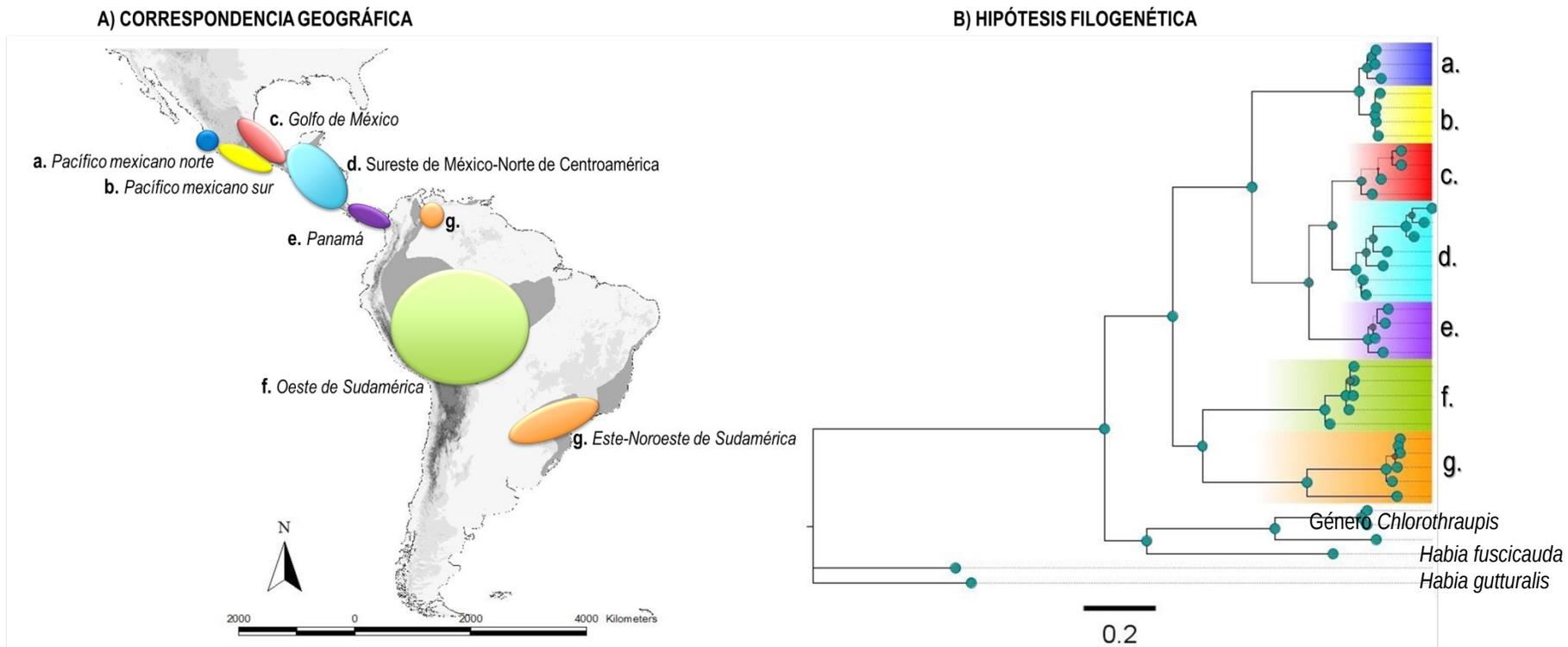


Figura 6. Resultados obtenidos con secuencias de los marcadores nucleares y mitocondrial concatenados (*ACO1-9*, *MUSK*, *FGB-15*, *ODC*, *ND2*). A) Mapa de distribución y filogrupos identificados dentro de las poblaciones de *Habia rubica*. ArcView GIS v3.2 (ESRI 1999); B) Hipótesis filogenética obtenida con BEAST v1.8 (Drummond *et al.* 2012).

Diversidad y estructura genética mitocondrial.

En la tabla 3 se resumen los valores de diversidad genética para los filogrupos identificados; el número de haplotipos encontrados es en general bajo, con excepción del filogrupo *Oeste de Sudamérica*. Los valores de diversidad haplotípica oscilaron entre 0.28 y 0.93. Los valores de diversidad nucleotídica se encontraron entre 0.0006 y 0.001 y el índice de diferenciación general fue de 0.94525. Los estadísticos de crecimiento poblacional, D de Tajima y F de Fu, sugieren que las únicas poblaciones que se ajustan a este modelo son las que se incluyen en los filogrupos del *Oeste de Sudamérica* ($p < 0.01$ y $p < 0.02$) y *Este-Noroeste de Sudamérica* ($p < 0.05$ y 0.02). El resto de los filogrupos se ajustaron a una dinámica de tamaño poblacional constante.

Las curvas de distribución mismatch indicaron que los filogrupos *Pacífico mexicano norte*, *Pacífico mexicano sur*, *Golfo de México* y *Noroeste de Centroamérica* podrían encontrarse en expansión (Figura 7). Sin embargo este resultado no presenta valores de significancia aceptables (en todos los casos se tiene que, $r > 0.05$) y no apoya lo encontrado en los valores de F de Fu y D de Tajima. Estas gráficas no mostraron coincidencia con la hipótesis de crecimiento poblacional de los filogrupos *Oeste de Sudamérica* y *Este-Noroeste de Sudamérica*, pues sus histogramas presentan una distribución multimodal y el índice de *raggedness* es significativo ($r < 0.02$ y $R < 0.03$ respectivamente).

La matriz de diferencias pareadas del Índice de diferenciación de Wright (F_{ST}) mostró valores superiores a 0.9 en la mayoría de las comparaciones entre filogrupos y clados (Tabla 4). Los valores más bajos de diferenciación se observaron entre las poblaciones del *Golfo de México* y el *Sureste de México-Noreste de Centroamérica* (**0.82788**), las poblaciones del *Sureste de México-Noreste de Centroamérica* y *Panamá* (**0.81159**) y las poblaciones del *Sureste de México-Noreste de Centroamérica* y el *Noroeste de Centroamérica* (**0.80624**). Por otra parte, el valor más alto de diferenciación se encontró entre las poblaciones del *Pacífico mexicano sur* y el *Noroeste de Centroamérica* (0.99013).

Filogrupo	N	Haplotipos	Diversidad haplotípica	Diversidad nucleotídica	Sitios segregantes	D de Tajima	Valor de significancia	F y Li D* de Fu	Valor de Significancia
<i>Pacífico mexicano norte</i>	5	2	0.40000	0.00044	1	-0.81650	P>0.10	-0.81650	P>0.10
<i>Pacífico mexicano sur</i>	19	2	0.28070	0.00031	1	-0.77799	P>0.10	-0.57360	P>0.10
<i>Golfo de México</i>	16	5	0.73333	0.00108	3	-0.34679	P>0.10	-0.70630	P>0.10
<i>Sureste de México-Noreste de Centroamérica</i>	18	6	0.82353	0.00414	10	0.33984	P>0.10	0.45503	P>0.10
<i>Noroeste de Centroamérica</i>	13	4	0.52564	0.00065	3	-1.43714	P>0.10	-1.35316	P>0.10
<i>Panamá</i>	8	5	0.85714	0.00395	9	-0.04534	P>0.10	0.13900	P>0.10
<i>Oeste de Sudamérica</i>	26	17	0.93538	0.00311	24	-2.20278	**P<0.01	-3.20159	**P<0.02
<i>Este-Noroeste de Sudamérica</i>	20	8	0.83684	0.00646	38	-2.06341	*P<0.05	-3.27526	**P<0.02
TOTAL	125	49	0.96374	0.04303	138	1.46535	P>0.10	0.78080	P>0.10
F_{ST}= 0.94525									

Tabla 3. Filogrupos mitocondriales y características del rango para el marcador molecular ND2. DnaSP v5.0 (Librado y Rozas 2009). En negritas, los valores de significancia que indican crecimiento poblacional.

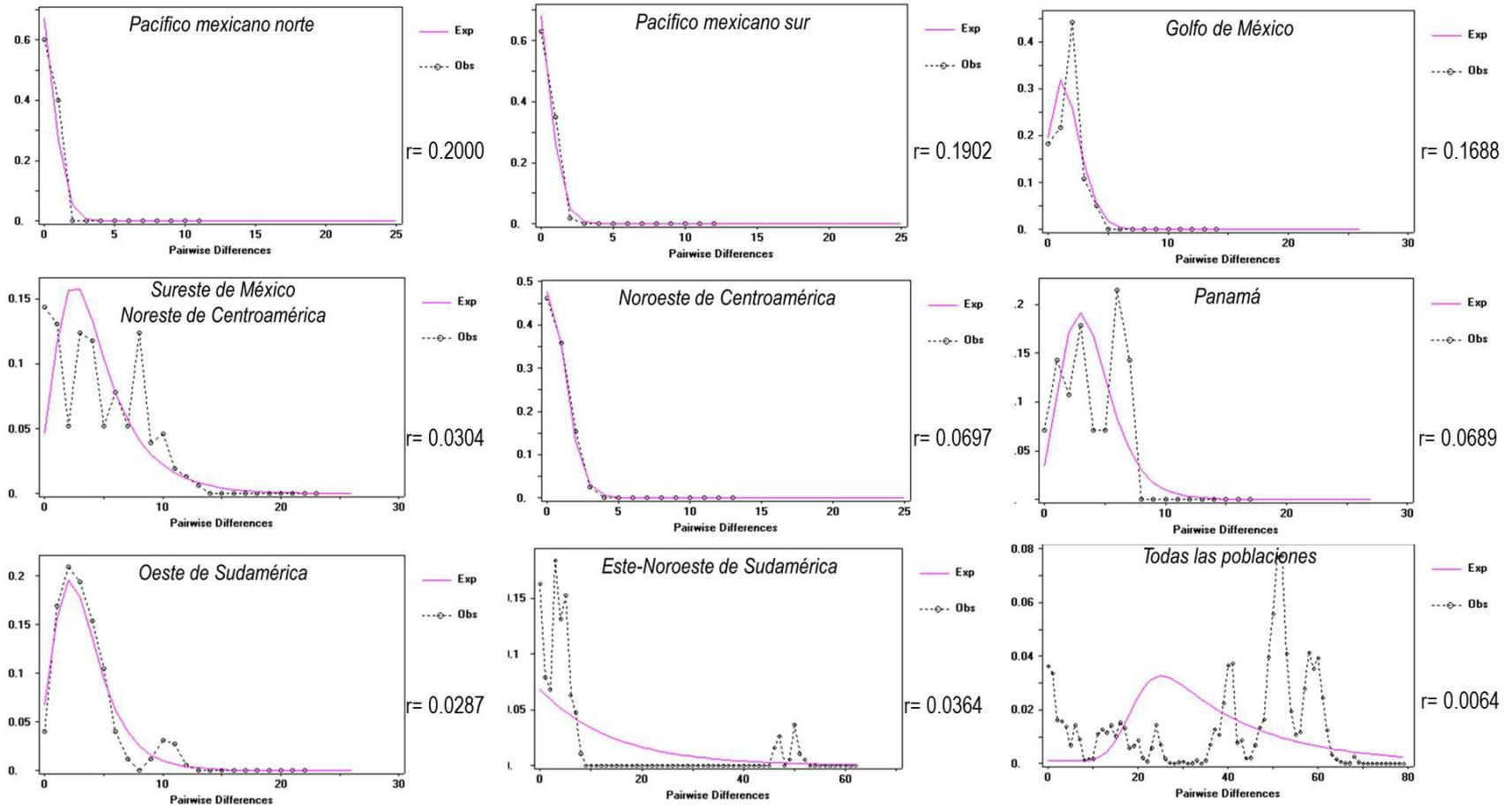


Figura 7. Curvas de distribución Mismatch para los ocho filogrupos mitocondriales. Valores de significancia (r =raggedness). DnaSP v5.0 (Librado y Rozas 2009).

Filogrupos	Pacífico mexicano norte	Pacífico mexicano sur	Golfo de México	Sureste de México-Noreste de Centroamérica	Noroeste de Centroamérica	Panamá	Oeste de Sudamérica	Este-Noroeste de Sudamérica
<i>Pacífico mexicano norte</i>	0.00000							
<i>Pacífico mexicano sur</i>	1 0.95222	0.00000						
<i>Golfo de México</i>	0.97730	0.98488	0.00000					
<i>Sureste de México-Noreste de Centroamérica</i>	0.91817	0.95219	0.82788	0.00000				
<i>Noroeste de Centroamérica</i>	0.98522	<u>0.99013</u>	0.95152	0.80624	0.00000			
<i>Panamá</i>	0.94797	0.97543	0.92521	0.81159	0.92795	0.00000		
<i>Oeste de Sudamérica</i>	0.95778	0.96987	0.95864	0.93829	0.96033	0.94988	0.00000	
<i>Este-Noroeste de Sudamérica</i>	0.92217	0.94779	0.92841	0.90846	0.92708	0.91476	3 0.91556	0.00000

Clado 1 Pacífico mexicano; **Clado 2** Golfo de México hasta Panamá; **Clado 3** Sudamérica.

Tabla 4. Matriz de diferencias pareadas (F_{ST}) entre filogrupos y clados identificados con el marcador molecular ND2. Arlequin v3.5 (Excoffier y Lischer 2010).

El Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) permitió determinar qué fuentes de variación explican mejor la distribución de la variación genética. El primer análisis (Tabla 5a), indicó que la variación genética de la especie para el gen mitocondrial ND2 se encuentra explicada en un 94.31% por la diferencia que hay entre los filogrupos identificados en la filogenia. Mientras que 5.69% de la variación genética se encuentra explicada por la comparación entre los individuos dentro de los filogrupos.

También se realizaron análisis adicionales de varianza molecular, agrupando los filogrupos de acuerdo con los clados recuperados (*i.e.* Pacífico Mexicano, Golfo de México hasta Panamá y Sudamérica); (Tabla 5b). Este análisis de varianza repartió el porcentaje de variación de la siguiente manera, la comparación entre grupos (clados) explica el 49.47% de la variación, la comparación entre poblaciones dentro de los grupos (filogrupos) explica el 45.57% y la comparación entre individuos dentro de los filogrupos explica el 4.97%.

Adicionalmente, se consideró a las poblaciones de Panamá como un grupo separado del clado centroamericano (AMOVA no incluida). Este resultado muestra que el filogrupo *Panamá* es significativamente distinto del clado formado por los filogrupos *Golfo de México*, *Sureste de México-Noreste de Centroamérica* y *Noroeste de Centroamérica*, pues el porcentaje de variación de las comparaciones entre grupos es más alto que las comparaciones dentro de los grupos. Los valores de significancia en todas las pruebas son de $P < 0.05$.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Componentes de Varianza	Porcentaje de Variación	Valor de Significancia
a) Ocho filogrupos mitocondriales					
Entre poblaciones	7	2262.903	21.10470	94.31	0.00000 +/- 0.00000
Dentro de las poblaciones	117	149.097	1.27434	5.69	
Total	124	2412.000	22.37904		
Índice de fijación F_{ST} : 0.94306					
b) Tres clados					
Entre grupos	2	1429.698	12.68837	49.47	0.00978 +/- 0.00259
Entre poblaciones dentro de los grupos	5	833.204	11.68775	45.57	0.00000 +/- 0.00000
Dentro de las poblaciones	117	149.097	1.27434	4.97	0.00000 +/- 0.00000
Total	124	2412.000	25.65045		
Índice de fijación F_{ST} : 0.94306					

Tabla 5. Sumario de AMOVA entre filogrupos y clados identificados con el marcador molecular ND2. Arlequin v3.5 (Excoffier y Lischer 2010).

Diversidad genética del DNA nuclear.

Se obtuvieron entre 37 y 39 secuencias de cuatro marcadores nucleares, dos intrones ligados al cromosoma Z (*ACOI-19* y *MUSK*) y dos intrones autosómicos (*FGB-15* y *ODC*). Estos marcadores fueron analizados de manera independiente para obtener valores de diversidad que se detallan en la Tabla 6. La proporción de sitios polimórficos es comparativamente menor en los marcadores nucleares que en el marcador mitocondrial ND2. El porcentaje de sitios variables en estos marcadores es en general más bajo (*MUSK*, 9.37%; *ACOI-19*, 13.14%; *FGB-15*, 10.39% y *ODC*, 6.47%) en comparación con el porcentaje de sitios variables del marcador ND2 (24.8%), incluido en esta tabla con fines comparativos. Otra característica importante de los marcadores nucleares es la baja presencia de más de dos variantes por sitio, algo que podría estar asociado a la baja tasa de cambio que presentan y que explicaría por qué las genealogías nucleares reflejan cambios evolutivos más antiguos que las mitocondriales.

Marcador	Individuos	Secuencias	No. Sitios	Sitios monomórficos	Sitios polimórficos	Más de 2 variantes	Gaps	Datos ausentes
ND2	125	125	1041	782	259	229	-	-
ACOI-19	38	76	852	452	112	8	7	281
MUSK	39	78	576	181	54	2	4	337
FGB-15	38	76	577	236	60	4	2	279
ODC	39	78	711	584	46	1	8	73
NUCLEARES	37	74	2716	1733	268	17	20	695

Tabla 6. Sumario de diversidad para los marcadores nucleares utilizados en este estudio. DnaSP v5.0 (Librado y Rozas 2009).

Tiempos de divergencia.

Los tiempos de divergencia obtenidos con secuencias mitocondriales (Figura 8) y concatenadas (nucleares y mitocondrial, Figura 9) presentan valores de divergencia similares entre filogrupos. Por lo anterior, los resultados de ambos árboles se explican de manera simultánea, reportando primero el tiempo promedio estimado para los datos mitocondriales (mtDNA) seguido del promedio estimado con datos concatenados (concatDNA). Los valores en los intervalos de confianza se retomarán más adelante durante la discusión.

El tiempo estimado de divergencia entre el clado *Habia rubica-Chlorothraupis* y el clado del género *Habia* se encuentra entre 4.92 y 7.28 millones de años (Ma), (mtDNA/concatDNA, según los datos mitocondriales y concatenados respectivamente). Posteriormente se identifica la divergencia entre la especie *Habia rubica* y el género *Chlorothraupis* datado entre 4.45 y 5.04 Ma (mtDNA/ concatDNA). La historia de diversificación dentro de la especie *Habia rubica* comenzaría con la divergencia entre los clados de Mesoamérica y Sudamérica, la cual se estimó entre 3.59 y 3.56 Ma (mtDNA/ concatDNA). Los eventos de diversificación dentro de los clados de estas dos regiones parecen haber sucedido de manera casi simultánea. Por un lado, dentro del clado de Mesoamérica, la primera divergencia se encuentra entre los clados del Pacífico mexicano y el Golfo de México hasta Centroamérica datado entre 3.25 y 3.08 Ma (mtDNA/ concatDNA). La separación entre los filogrupos del *Pacífico mexicano sur* y el *Pacífico mexicano norte* fue datada entre 1.76 y 0.72 Ma (mtDNA/ concatDNA). Dentro del clado formado por los filogrupos del centro-sureste de México y Centroamérica podemos identificar una nueva divergencia que separa el clado formado por los filogrupos del *Golfo de México*, *Sureste de México-Noreste de Centroamérica* y *Noroeste de Centroamérica* del filogrupo de *Panamá* hace 2.98 a 2.81 Ma (mtDNA/ concatDNA).

Dentro del clado formado por los filogrupos del norte de Centroamérica se identifican dos eventos de divergencia en la topología obtenida con DNA mitocondrial. El primero que separa las poblaciones de Guatemala y El Salvador (*Noroeste de Centroamérica*) del clado formado por los filogrupos de la región del *Golfo de México* y el *Sureste de México-Noreste de Centroamérica* datado hace 2.24 Ma (mtDNA). Y el segundo que separa estos últimos dos filogrupos datado hace 1.95 Ma (mtDNA). Dentro de la topología obtenida con datos concatenados se identifica un único evento de divergencia entre los filogrupos de *Golfo de México* y *Sureste de México-Norte de Centroamérica* (Campeche, Quintana Roo y Chiapas en México, Honduras, Nicaragua, Guatemala y El Salvador) datado hace 2.12 Ma (concatDNA). Finalmente, los filogrupos del *Oeste de Sudamérica* y *Este-Noroeste de Sudamérica* presentan un único evento de divergencia en ambas topologías, que fue datada entre 2.95 y 2.86 Ma (mtDNA/ concatDNA) y que coincide con el primer evento sucedido entre las poblaciones del norte de Centroamérica y Panamá.

RESULTADOS CON SECUENCIAS DE DNA MITOCONDRIAL ND2

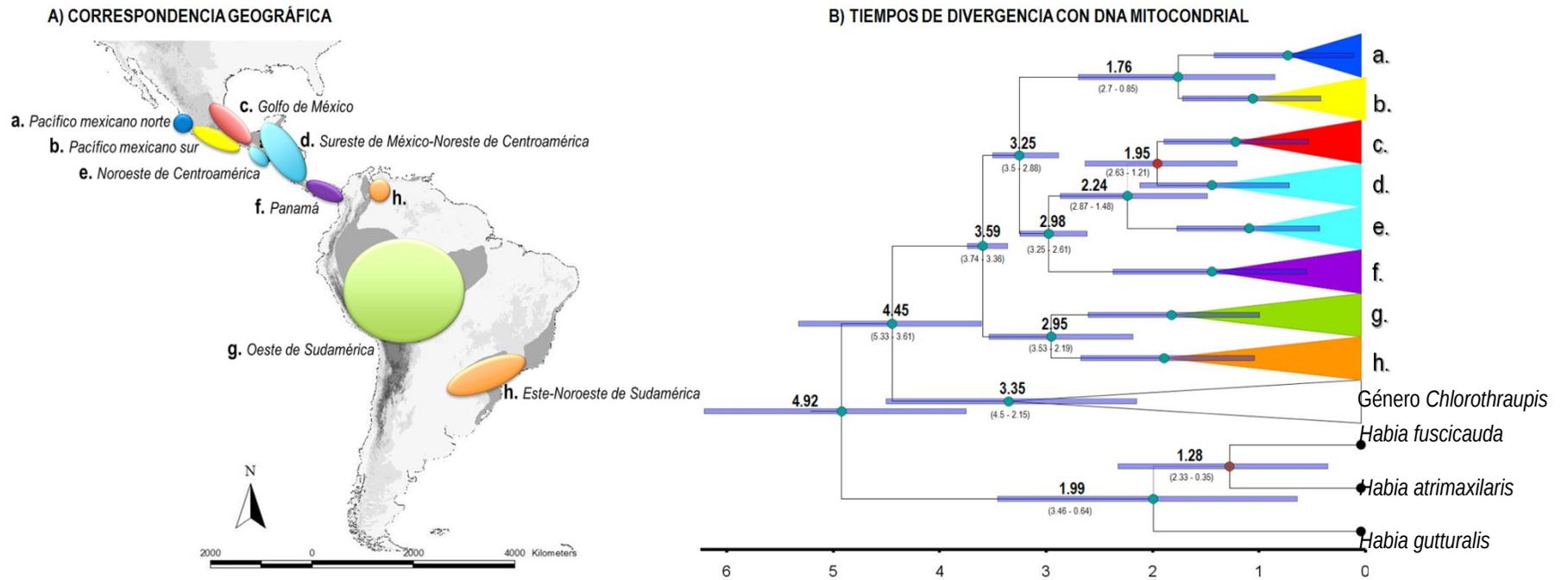


Figura 8. Resultados obtenidos con secuencias del marcador mitocondrial ND2. **A)** Mapa de distribución y filogrupos identificados dentro de las poblaciones de *Habia rubica*. ArcView GIS v3.2 (ESRI 1999); **B)** Tiempos de divergencia obtenidos con BEAST v1.8 (Drummond et al. 2012).

RESULTADOS CON SECUENCIAS DE DNA NUCLEAR Y MITOCONDRIAL *ACO1-9*, *MUSK*, *FGB-15*, *ODC*, *ND2*.

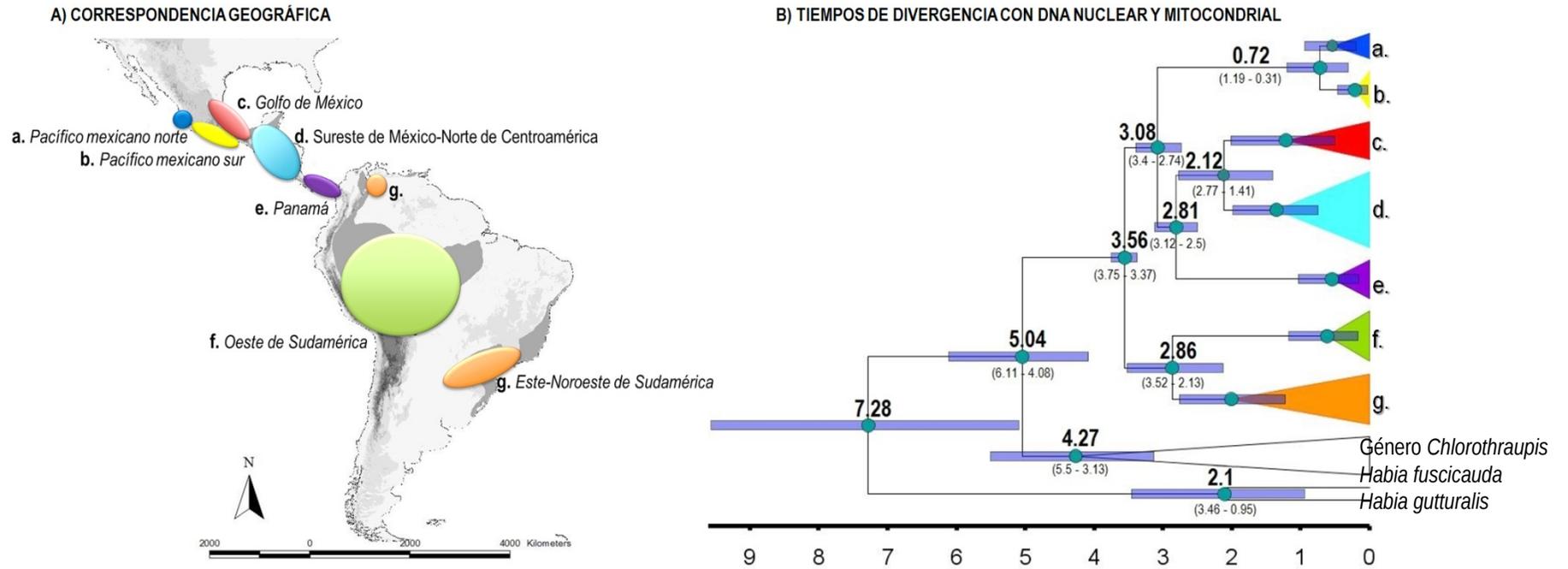


Figura 9. Resultados obtenidos con secuencias de los marcadores nucleares y mitocondrial (*ACO1-9*, *MUSK*, *FGB-15*, *ODC*, *ND2*). **A)** Mapa de distribución y filogrupos identificados dentro de las poblaciones de *Habia rubica*. ArcView GIS v3.2 (ESRI 1999); **B)** Tiempos de divergencia obtenidos con BEAST v1.8 (Drummond *et al.* 2012)

IV. DISCUSIÓN

En este estudio se exploraron los patrones de distribución geográfica y relaciones filogenéticas dentro y entre las poblaciones de la especie *Habia rubica* con marcadores de DNA nuclear y mitocondrial. Una inferencia evolutiva realizada a partir de datos nucleares y mitocondriales proporciona un contexto histórico diferente del que podríamos obtener con el análisis de datos separados ya que la información que proporcionan proviene de procesos hereditarios diferentes. Por esta razón la combinación de ambos marcadores moleculares es una buena herramienta para explorar los procesos de diversificación que pudo haber experimentado una especie (Nei y Kumar 2000). Esta complementariedad es debida a que, de manera típica, los marcadores nucleares proporcionan un registro más antiguo de los eventos demográficos que los marcadores de origen mitocondrial (Hillis *et al.* 1996). De esta manera el DNA nuclear, al tener una tasa de cambio evolutivo más lenta, presenta una resolución adecuada para resolver relaciones filogenéticas más antiguas, mientras que el DNA mitocondrial, que tiene una tasa de cambio evolutivo más rápida, acumula una gran cantidad de cambios mutacionales en periodos de tiempo relativamente cortos y proporciona buena resolución para identificar los eventos de divergencia más recientes (Hillis *et al.* 1996). Así, el diferente grado de resolución de ambos tipos de marcadores influye sobre la inferencia filogenética, y los marcadores nucleares pueden proporcionar pistas sobre el posible origen de los haplotipos de DNA mitocondrial más recientes (Hillis *et al.* 1996).

Los datos obtenidos en este trabajo proporcionaron información que permite hacer inferencias acerca de la historia evolutiva de la especie *Habia rubica* y sus taxa relacionados (géneros *Habia* y *Chlorothraupis*). A nivel de género se recuperó una relación parafilética entre *Habia* y *Chlorothraupis*, como resultado de la relación recíprocamente monofilética encontrada entre *Habia rubica* y las especies del género *Chlorothraupis*. Este resultado coincide con lo reportado en estudios previos (Klicka *et al.* 2000, 2007, Barker *et al.* 2015, Lavinia *et al.* 2015), que han influido sobre algunas clasificaciones recientes que fusionan ambos géneros. Un ejemplo de ello es el caso de la IOC donde las especies del género *Chlorothraupis* se consideran parte del género *Habia* (e.g. *Habia stolzmanni*, *Habia carmioli*, *Habia olivacea*; <http://www.worldbirdnames.org/>; Apéndice II).

Filogenia, diversidad y estructura genética de Habia rubica.

Las hipótesis filogenéticas obtenidas en este proyecto (mitocondrial, nuclear y concatenada), indican que la estructura genética de las poblaciones de *Habia rubica* presentan una correspondencia geográfica que separa las poblaciones de Mesoamérica y Sudamérica (Figuras 4, 5 y 6). Dentro de Mesoamérica se identifican cinco filogrupos que corresponden con las subregiones del Pacífico mexicano (2), el centro de México hasta Panamá (3). El grado de resolución que presenta cada una de las hipótesis filogenéticas obtenidas sugiere que entre las poblaciones del sureste de México (Campeche, Quintana Roo y Chiapas) hasta el norte de Centroamérica (Guatemala, El Salvador, Honduras, Nicaragua y Costa Rica) la relación filogenética es compleja. Estas reconstrucciones presentan una topología distinta, pues mientras los haplotipos mitocondriales indican que las poblaciones de México se encuentran más relacionadas con las poblaciones del noreste de Centroamérica (Honduras, Nicaragua y Costa Rica), la filogenia concatenada indica que el sureste mexicano se relaciona estrechamente con las poblaciones de todo el norte de Centroamérica (incluyendo Guatemala y El Salvador). Y por otro lado, los datos nucleares indican que las poblaciones de México son diferentes de las poblaciones de Centroamérica.

Esta compleja estructura filogenética en Centroamérica es consecuente con la compleja historia geológica y biogeográfica de la región (Coates y Obando 1996), y el surgimiento de características geográficas como el Istmo de Tehuantepec en el sur de México, el Sistema de Fallas Motagua-Polochic-Jocotán en el norte de Centroamérica y la Cordillera de Talamanca en Costa Rica. Estas características geográficas pudieron haber actuado como barreras que impidieron eventos de dispersión de los individuos y/o limitado el intercambio genético entre poblaciones cercanas, generando una profunda divergencia genética a través de periodos de tiempo relativamente cortos (Daza *et al.* 2010, Gutiérrez-García y Vázquez-Domínguez 2012). Este patrón es consistente con lo encontrado en trabajos realizados con otros grupos biológicos de la región de Centroamérica (Gutiérrez-García y Vázquez-Domínguez 2013, Suárez-Atilano *et al.* 2014), lo cual también se ve reflejado en los análisis de diversidad y estructura genética, como la red de haplotipos (Figura 4), donde fue necesario reconstruir al menos cinco haplotipos hipotéticos para conectar los grupos genéticos de México y Centroamérica. Las diferencias pareadas también reflejaron esta relación de reciente divergencia entre las poblaciones de México y Centroamérica donde los valores de F_{ST} fueron los más bajos de la matriz (Tabla 4, valores en negritas), es decir, se trata de las poblaciones genéticamente más semejantes entre sí.

Los Análisis de Varianza Molecular (AMOVA, Tabla 5b), mostraron más claramente que las poblaciones de Panamá son las que se encuentran genéticamente más diferenciadas del resto de Centroamérica y México. Esto último es consecuente con la separación genética encontrada en la filogenia nuclear, lo cual sugiere que dicha divergencia es más antigua. Este resultado difiere parcialmente de lo encontrado por Lavinia *et al.* (2015), para Mesoamérica, principalmente porque los datos obtenidos en el trabajo citado carecen de muestras importantes que modifican drásticamente la topología encontrada en ambos estudios.

Los resultados de este trabajo muestran que la región Sudamericana se encuentra compuesta por dos filogrupos bien diferenciados, uno en la parte oeste y otro en el este-noroeste de la región; que coinciden con lo reportado por Lavinia *et al.* (2015). Sin embargo, cabe notar que este último estudio carece de representación de las poblaciones del noroeste de Sudamérica, mientras los datos del presente trabajo indican que dichas poblaciones se relacionan más estrechamente con las poblaciones del este Sudamericano que con las del oeste, que geográficamente se encuentran más cercanas. Esta relación sugiere una historia evolutiva compleja que podría estar relacionada con la historia evolutiva de las especies vegetales asociadas al ambiente que habita cada población de *Habia rubica* (*i.e.* Bosque de lluvia del Amazonas y BNES del Atlántico y norte de Sudamérica; Figura 3), (Pennington *et al.* 2004).

Debido a que la resolución de la hipótesis filogenética concatenada (Figuras 6 y 9) resuelve las relaciones filogenéticas con valores de probabilidad posterior más altos, en las secciones consecutivas se discute la estructura genética encontrada en esta filogenia vinculándolos con algunos de los principales datos obtenidos por el análisis de tiempos de divergencia.

Tiempos de divergencia.

La diversificación dentro de *Habia rubica* parece haber ocurrido en un periodo de tiempo relativamente corto (~3 a 4 Ma, Figura 8, 9) a través de las épocas del Plioceno-Pleistoceno, con una dispersión latitudinal en dirección sur a norte. Dentro de los tres clados principales del Pacífico Mexicano, Centroamérica y Sudamérica, se distinguen dos, tres y dos filogrupos genética y geográficamente bien diferenciados. Las hipótesis filogenéticas obtenidas con DNA

nuclear y mitocondrial (Figuras 4, 5) recuperan la misma relación entre los subclados de México como grupo hermano de Centroamérica y de ambos como grupo hermano de Sudamérica. Los datos no pueden indicar si el origen de esta especie es norteamericano o sudamericano sin embargo, estudios como los realizados por Smith y Klicka (2010) y Barker *et al.* (2015) basados en datos moleculares e hipótesis de áreas ancestrales, sugieren que la familia Cardinalidae es de origen Norteamericano. Es posible que las poblaciones de Panamá se mantuvieran como grupo relicto, diferenciadas del resto de Centroamérica para posteriormente expandirse hacia el sur de su distribución donde la diversificación ocurrió de manera relativamente rápida.

Clado del Pacífico mexicano.

Este clado se encuentra estructurado por dos filogrupos que corresponden a la parte norte y sur de la vertiente del Pacífico mexicano (Figura 9). Debido a que la distribución alopatrica de las poblaciones del norte y sur de esta región responde al patrón filogenético encontrado en este análisis, es posible sugerir que existe una historia de aislamiento entre ambas zonas que se ha mantenido durante periodos de tiempo relativamente cortos (~1 a 2 Ma, Figura 8 y 9). Este aislamiento puede estar influenciado por factores como el surgimiento de características geográficas que podrían estar actuando como barrera al intercambio genético (Vázquez *et al.* 2009).

La Faja Volcánica Transmexicana es una de las características geográficas que podría estar actuando como barrera entre los filogrupos del norte y sur de la vertiente del Pacífico. La parte del este y el centro de esta Faja es resultado de procesos ocurridos durante el Mioceno tardío y Plioceno temprano (~11.8 a 5 Ma), y la parte oeste (del Pacífico) se formó durante el Plioceno tardío y Cuaternario (~2 Ma) donde la altitud predominante es inferior a los 2000 msnm (Niza-Gómez *et al.* 2012). Una segunda característica geográfica que podría determinar los límites genéticos entre estos dos filogrupos es la Sierra de Coalcomán, una formación montañosa costera que se encuentra en el estado de Michoacán, al oeste del Río Balsas (Reyes-Velazco *et al.* 2013), donde se encuentra la Cuenca del Balsas, una depresión de tierras bajas áridas que se formó en el Plioceno-Pleistoceno como respuesta al levantamiento de la Faja Volcánica Transmexicana (Becerra y Venable 1999, Marshall y Liebherr 2000) y ha sido señalada como una importante barrera biogeográfica para grupos de vertebrados que incluyen serpientes (Bryson *et al.* 2008, Devitt 2006), mamíferos (Amman y Bradley 2004) y aves (Navarro-Sigüenza *et al.* 2008). Fisiográficamente, esta cuenca está limitada al norte por la Faja Volcánica Transmexicana, desde el cerro La Malinche hasta el límite entre los estados de Michoacán y Jalisco, por el este con la Sierra Madre de Oaxaca y por el sur y el oeste con la Sierra Madre del Sur; (Nava *et al.* 1998). Es una depresión con dirección este-oeste que se caracteriza por tener pocas superficies planas y varios tipos de vegetación que va desde matorrales xerófilos y bosques tropicales hasta bosque de pino-encino, resultado de la variación climática que produce el desnivel altitudinal. Juntas, estas características geográficas conforman una barrera extensa que separa la distribución de las poblaciones del Pacífico, y podría estar influenciando la estructura genética de las poblaciones de esta región.

El surgimiento de formaciones como la Faja Volcánica Transmexicana, la Sierra Madre del Occidental y la Sierra Madre del Sur, originaron la distribución actual de las selvas bajas del occidente de México, las cuales se caracterizan por presentar vegetación de bosque tropical deciduo y semi-deciduo (Morrone 2006), que puede ser asociada con algunas provincias biogeográficas y ecorregiones delimitadas de acuerdo a características geográficas y ecológicas (Olson *et al.* 2001). La complejidad orográfica de esta región es conocida debido al alto número de endemismos característicos de las selvas bajas del Pacífico y del Balsas en grupos como las aves (Ríos-Muñoz 2006), los reptiles (García 2006) y las plantas (*e.g.* género *Bursera*,

Rzedowski 1978; Becerra 2005). Patrones biogeográficos intra-específicos han sido reconocidos en algunas especies como la iguana negra (Zarza *et al.* 2008) y las serpientes (Bryson *et al.* 2011) a lo largo de la provincia Costa Mexicana del Pacífico.

Clado del Golfo de México, Sureste de México-Norte de Centroamérica y Panamá.

Los resultados en este trabajo muestran que las poblaciones distribuidas desde la vertiente del Golfo de México hasta Centroamérica son genéticamente similares (Figura 6). La topología dentro de este clado sugiere una correspondencia geográfica con sentido norte-sur entre los tres filogrupos identificados, donde las poblaciones de *Panamá* se encuentran genéticamente más diferenciadas del complejo que forman los filogrupos del *Golfo de México* y el *Sureste de México-Norte de Centroamérica*. Esta profunda diferenciación genética de las poblaciones panameñas con respecto al resto de las poblaciones centroamericanas es congruente con una divergencia antigua encontrada en la filogenia obtenida con marcadores nucleares (Figura 5). Este resultado también es apoyado en los Análisis de Varianza Molecular y la red de haplotipos mitocondrial donde las diferencias genéticas entre ambos agrupamientos son extremas (Tabla 5b; Figura 4).

Las poblaciones de México (Golfo de México y Sureste de México) y norte de Centroamérica (Honduras, Nicaragua, Guatemala, El Salvador, Costa Rica), se encuentran más estrechamente relacionadas entre sí, por lo que el nivel de diferenciación entre las poblaciones de esta región es más bajo en comparación con el resto de los filogrupos identificados. Esta similitud genética de las poblaciones centroamericanas se ve reflejada en resultados como la red de haplotipos (Figura 4) y la matriz de diferencias pareadas (Tabla 4, valores en negritas) y es consistente con la historia geológica y biogeográfica de la región que ha dado como resultado una topografía altamente fragmentada (Coates y Obando 1996). Características geográficas tales como montañas, ríos, tierras bajas, lagos y actividad volcánica generan amplia heterogeneidad ambiental, que podría estar actuando como corredores o barreras a la dispersión en diferentes escalas espacio-temporales (Savage 1982, Bermingham y Martin 1998, Burnham y Graham 1999, Cavers *et al.* 2003, Bryson *et al.* 2011, Gutiérrez-García y Vázquez-Domínguez 2012).

Dentro de este complejo biogeográfico, la separación entre los filogrupos *Golfo de México* y *Sureste de México-Norte de Centroamérica*, muestra una correspondencia geográfica con la posición del Istmo de Tehuantepec, que es una planicie de tierras bajas que pudo haber actuado como barrera en el pasado. Este istmo emergió hace aproximadamente 3 Ma (Castoe *et al.* 2009) y ha sido reconocida como una importante barrera para la dispersión de taxa de tierras altas (Marshall y Liebherr 2000) y como conexión entre las costas del Pacífico y Golfo de México en taxa de tierras bajas (Huidobro *et al.* 2006). La separación entre estas poblaciones fue estimada entre 1.41 y 2.77 Ma (Figura 9). Esta divergencia podría estar asociada a un proceso de diversificación ocurrido a través del canal interoceánico presente antes de que emergiera el Istmo de Tehuantepec. Patrones similares han sido encontrados en organismos como *Boa constrictor* (Suárez-Atilano *et al.* 2014). La separación entre los filogrupos *Golfo de México*, *Sureste de México-Noreste de Centroamérica* y *Noroeste de Centroamérica* de la filogenia mitocondrial fue estimada entre 1.48 y 2.87 Ma (Figura 8) y posee una correspondencia geográfica con la presencia de la Cordillera Volcánica Centroamericana, que en México corresponde con la Sierra Madre de Chiapas sobre la vertiente del Pacífico en el sur; con la Sierra de Chiapas y Guatemala por el norte, y con el extremo oeste del Sistema de Fallas Motagua-Polochic-Jocotán de Guatemala. Estos sistemas montañosos pueden haber actuado como barreras geográficas a la dispersión en estas poblaciones, pues rodean el área de distribución de las poblaciones de Guatemala y El Salvador (Daza *et al.* 2010, Gutiérrez-García y

Vázquez-Domínguez 2012, Gutiérrez-García y Vázquez-Domínguez 2013, Suárez-Atilano *et al.* 2014). Finalmente, la separación entre este subclado y las poblaciones de *Panamá* se estimó entre 2.5 y 3.1 Ma (Figura 9). La edad calculada para esta divergencia coincide con el surgimiento de la Cordillera de Talamanca estimada entre 2.5 y 3.9 Ma (Daza *et al.* 2010) por lo que es posible que dicha divergencia se encuentre influenciada por eventos anteriores y determinada por el levantamiento de dicha Cordillera. La relación filogenética encontrada en estas poblaciones coincide con lo recuperado a partir de la red de haplotipos y esto nos indica que dentro de esta región Centroamericana la complejidad orográfica actúa barrera importante entre poblaciones geográficamente cercanas. Esta complejidad topográfica ha sido señalada en estudios anteriores como probable factor para generar procesos de diversificación (Suárez-Atilano *et al.* 2014).

Clado de Sudamérica.

La estructura genética encontrada entre las poblaciones sudamericanas se caracteriza por el reconocimiento de al menos un evento de divergencia genética que separó las poblaciones del oeste y este-noroeste de Sudamérica (Figura 9). Estos dos subclados tienen una correspondencia geográfica influenciada por la distribución disyunta que presentan las poblaciones vegetales asociadas al bosque de lluvia de la región Amazónica y el bosque neotropical estacionalmente seco del Atlántico brasileño (Pennington *et al.* 2000, 2004, 2009). Ambas regiones constituyen dos de los dominios morfoclimáticos más importantes de Sudamérica (Costa 2013) y de los bosques tropicales más diversos del mundo (Myers *et al.* 2000, Batalha-Filho *et al.* 2013, Costa 2013).

Estos dos biomas se encuentran separados por un borde diagonal de hábitats más xerófilos que incluye la región geográfica de Chaco, que es una amplia extensión boscosa distribuido entre el norte de Argentina, sur de Bolivia y centro-sur de Brasil, la ecorregión de sabana tropical conocida como Cerrado del centro de Brasil y la ecorregión de bosque tropical caducifolio de Caatinga situado al noreste de Brasil. Este corredor de vegetación seca más abierto ha sido considerado una barrera importante para la migración de especies que habitan los bosques del Atlántico y el Amazonas (Moojen 1948, Raven y Axelrod 1974, Rizzini 1979, Mori *et al.* 1981, Por 1992). Sin embargo, existe amplia evidencia de un antiguo contacto entre ambos tipos de bosque, a través de la vegetación diagonal seca de Sudamérica. Algunos estudios indican que estos bosques centrales brasileños, de la región de Cerrado, son una parte integral del escenario evolutivo en taxa de tierras bajas, además de que juegan un rol importante como hábitats del presente y pasado para las especies del bosque de lluvia (Costa 2013). Por lo tanto, el rol de estos bosques centrales de Brasil como rutas para migración que permitieron la diversificación de especies boscosas puede ser reconocido, especialmente cuando existe evidencia de una cobertura forestal amplia en el pasado (Oliveira-Filho y Ratter 1995, Vivo 1997).

Existen al menos dos rutas de conexión espacio-temporales entre los bosques del Amazonas y del Atlántico (Figura 1). Las conexiones más antiguas (Mioceno medio a tardío) a través de la corriente sur de Cerrado y Mato Grosso hacia Chaco y sabanas de palma de Bolivia y Paraguay. Estas conexiones antiguas pudieron haber estado asociadas con eventos como cambios geotectónicos ocurridos durante el periodo Neógeno, además del levantamiento de los Andes. Las conexiones más recientes (Plioceno al Pleistoceno) que pudieron estar asociadas a los cambios climáticos ocurridos durante el Cuaternario y promovieron la expansión de los bosques de galería a través de lo que actualmente se conoce como Cerrado y Caatinga en el noreste de Brasil (Batalha *et al.* 2013). Éstas últimas pueden sugerir una posible explicación a la

estrecha relación genética encontrada entre las poblaciones del Atlántico brasileño y el noroeste Sudamericano (1.22 a 2.76 Ma, Figura 9).

Sobre la conexión más reciente propuesta para el noreste de Brasil existen datos geológicos y palinológicos que abarcan los últimos 900 mil años (Pleistoceno) e indican que existieron periodos de tiempo que permitían la expansión del bosque de galería dentro de Cerrado y Caatinga que promovieron el contacto entre los bosques de Sudamérica (Auler *et al.* 2004, Auler y Smart 2001, Behling *et al.* 2000, Oliveira *et al.* 1999, Wang *et al.* 2004). En aves, se encontró que varios taxa distribuidos en los bosques del Atlántico y Amazonas muestran distribuciones que se extienden a lo largo del bosque de galería de Cerrado (Silva 1996). Basados en análisis moleculares se han propuesto viejas conexiones (Mioceno) entre los bosques del Atlántico y del Amazonas para especies de lagartos (Pellegrino *et al.* 2011) y mamíferos (Galewski *et al.* 2005). En uno de estos estudios, Martins *et al.* (2009) observó que algunas poblaciones de murciélagos vampiros del Atlántico y el Amazonas divergieron en el Pleistoceno, siguiendo la expansión de hábitats secos entre estos dos biomas. Además de esto, es bien conocido que el levantamiento de los Andes fue crucial para la evolución de los paisajes de la Amazonia, y jugó un rol clave en la diversificación de organismos en regiones adyacentes (Hoorn *et al.* 2010, Hoorn y Wesselingh 2010).

Los resultados de tiempos de divergencia obtenidos en este estudio coinciden de manera parcial con lo reportado por Lavinia *et al.* (2015) por las siguientes razones: 1) incluye marcadores nucleares y mitocondriales distintos a los utilizados en este estudio (FIB5, VL9R y COI, Cyt b respectivamente), 2) no incluye al género *Chlorothraupis* en sus análisis de tiempos de divergencia, cuya edad es utilizado en este estudio como punto de calibración, 3) hay una representación escasa de las poblaciones mesoamericanas. Aunque es importante mencionar que la edad estimada para la divergencia entre el este y oeste de Sudamérica reporta un tiempo de divergencia similar (3.65 Ma) a los valores más tempranos de nuestro intervalo (2.13-3.52 Ma, Figura 9), por lo que es posible que la diferencia entre ambos estudios radique en los puntos mencionados anteriormente.

Actualmente los límites entre subespecies de *Habia rubica* se encuentran bien definidos a partir de la variación geográfica que presentan sus poblaciones a nivel morfológico pues para algunas de las subespecies los límites de distribución se reportan a nivel de localidad. Sin embargo, en la mayoría de los filogrupos recuperados en este estudio (filogenia concatenada, Figura 6) se encuentran contenidas al menos dos subespecies genéticamente similares. Ello muestra la necesidad de hacer una revisión taxonómica de esta especie que combine aspectos morfológicos, morfométricos y genéticos, para lograr resolver adecuadamente las relaciones filogenéticas de este complejo. Además de la topología general de la filogenia es consecuente con discontinuidades geográficas que pudieron haber formado linajes evolutivamente independientes (*i.e.* especies), que no coinciden con los límites establecidos a partir de caracteres morfológicos. Sería necesario incluir además a la especie colombiana *Habia cristata* en análisis posteriores para poder obtener una hipótesis filogenética y de diversificación completa para el género *Habia*.

V. CONCLUSIONES

Las poblaciones de la especie *Habia rubica* presentan una profunda estructura genética que separa por lo menos siete filogrupos dentro de la hipótesis filogenética obtenida en este estudio. Estos filogrupos están conformados, en la mayoría de los casos, por más de una subespecie descrita a partir de caracteres morfológicos, sin embargo, se corresponde con algunas discontinuidades geográficas que podrían explicar la diferenciación genética presente entre sus poblaciones. El proceso de diferenciación genética de las poblaciones se encuentra íntimamente ligado con el proceso de cambio geológico y ecológico del territorio que habita la especie, de manera que es posible encontrar patrones de distribución claramente influenciados por los procesos históricos específicos. La topología de la hipótesis filogenética nos indica también que el proceso de diversificación dentro de esta especie ha sido más dinámica entre las poblaciones mesoamericanas que entre las poblaciones sudamericanas, sin embargo, es necesario incluir poblaciones del noroeste de Sudamérica para obtener una hipótesis filogenética más adecuada de la especie.

LITERATURA CITADA

- American Ornithologist's Union (1998) Check-list of North American Birds. AOU, USA.
- Ab'Saber A (1977) Espaços ocupados pela expansão dos climas secos na América do Sul, por ocasião dos períodos glaciais quaternários. *Paleoclimas*, **3**, 1-19.
- Ab'Saber AN (1977) Os domínios morfoclimáticos da América do Sul. Primeira aproximação. *Geomorfologia*, **53**, 1-23.
- Ab'saber A (1982) The paleoclimate and paleoecology of Brazilian Amazonia. En: *Biological diversification in the tropics*. G Prance (ed.). Columbia University Press, New York, 41-59 p.
- Arbeláez-Cortés E, Nýari AS, Navarro-Sigüenza AG (2010) The differential effect of lowlands on the phylogeographic pattern of a Mesoamerican montane species (*Lepidocolaptes affinis*, Aves: Furnariidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **57**, 658-668.
- Auler AS, Wang A, Edwards RL, Cheng H, Cristalli PS, Smart ML, Richards DA (2004) Quaternary ecological and geomorphic changes associated with rainfall events in presently semi-arid northeastern Brazil. *Journal Aquatic Sciences*, **19**, 693-701.
- Avise JC, Arnold J, Ball RM, Jr Bermingham E, Lamb T, Neigel JE, Reeb CA, Saunders NC (1987) Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **18**, 489-522.
- Avise JC (2000) *Phylogeography: the history and formation of species*. Harvard University Press, Cambridge, MA.
- Barker FK, Cibois A, Schikler P, Feinstein J, Cracraft J (2004) Phylogeny and diversification of the largest avian radiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **101**, 11040-11045.
- Barker FK, Burns JK, Klicka J, Lanyon SM, Lovette IJ (2012) Going to extremes: contrasting rates of diversification in a recent radiation of New World Passerine birds. *Systematic Biology*, **94**, 1-23.
- Barker FK, Burns KJ, Klicka J, Lanyon SM, Lovette IJ (2015) New insights into New World biogeography: An integrated view from the phylogeny of blackbirds, cardinals, sparrows, tanagers, warblers, and allies. *The Auk*, **132**, 333-348.
- Bandelt HJ, Foster P, Röhl A (1999) Median-Joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, **16**, 37-48.
- Becerra JX (2005) Timing the origin and expansion of the Mexican tropical dry forests. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **102**, 10919-10923.
- Bermingham E, Martin AP (1998) Comparative mtDNA phylogeography of neotropical freshwater fishes: testing shared history to infer the evolutionary landscape of lower Central America. *Molecular Ecology*, **7**, 499-517.
- Bryson RW, García-Vázquez UO, Riddle BR (2011) Phylogeography of Middle American gophersnakes: mixed responses to biogeographical barriers across the Mexican Transition Zone. *Journal of Biogeography*, **38**, 1570-1584.
- Burnham RJ, Graham A (1999) The history of neotropical vegetation: new developments and status. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **86**, 546-589.
- Caetano S, Prado D, Pennington RT, Beck S, Oliveira-Filho A, Spichiger R, Naciri Y (2008) The history of seasonally dry tropical forest in eastern South America: inferences from the genetic structure of the tree *Astronium urundeuva* (Anacardiaceae). *Molecular Ecology*, **17**, 3147-3159.
- Capparella AP (1988) Genetic variation in Neotropical birds: implications for the speciation process. *Acta XIX Congressus Internationalis Ornithologici*, **Vol. 2**, (ed. by H. Ouellet), 1658-1664. University of Ottawa Press, Ottawa.
- Capparella AP (1991) Neotropical avian diversity and riverine barriers. *Acta XX Congressus Internationalis Ornithologici*, **Vol. 1**, (KL Schuchmann, F Vuilleumier), 307-316. New Zealand Ornithological Congress Trust Board, Wellington.
- Castoe TA, Daza JM, Smith EN, Sasa MM, Kuch U, Campbell JA, Chippindale PT, Parkinson CL (2009) Comparative phylogeography of pitvipers suggests a consensus of ancient Middle American highland biogeography. *Journal of Biogeography*, **36**, 88-103.

- Cavers S, Navarro C, Lowe AJ (2003) Chloroplast DNA phylogeography reveals colonization history of a Neotropical tree, *Cedrela odorata* L., in Mesoamerica. *Molecular Ecology*, **12**, 1451-1460.
- Chen X, Jiang K, Guo P, Huang S, Rao D, Ding L, Takeuchi H, Che J, Zhang Y, Myers EA, Burbrink FT (2014) Assessing species boundaries and the phylogenetic position of the rare Szechwan ratsnake, *Euprepiophis perlaceus* (Serpentes: Colubridae), using coalescent-based methods. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **70**, 130-136.
- Chesser RT, Banks RC, Barker FK, Cicero C, Dunn JL, Kratter AW, Lovette IJ, Rasmussen PC, Resmen JV, Rising JD, Stotz DF, Winker K (2009) Fiftieth supplement to the American Ornithologist's Union Check-list of North American birds. *The Auk*, **126**, 705-714.
- Coates AG, Obando JA (1996) The geologic evolution of the Central American isthmus. En: *Evolution and environment in tropical America*. BC Jackson, AF Ludd, A Coates (eds.). The University of Chicago Press, Chicago. 2156 p.
- Colinvaux PA, Irion G, Räsänen ME, Bush MB, Nunes de Mello JAS (2001) A paradigm to be discarded: geological and paleoecological data falsify the HAFER and PRANCE refuge hypothesis of Amazonian speciation. *Amazoniana*, **16**, 609-646.
- Colinvaux PA, De Oliveira PE (2001) Amazon plant diversity and climate through the Cenozoic. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, **166**, 51-63.
- Coney PJ (1982) Plate tectonic constraints on the biogeography of Middle America and the Caribbean región. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **69**, 432-443.
- Costa LP (2003) The historical bridge between the Amazon and the Atlantic forest of Brazil: a study of molecular phylogeography with small mammals. *Journal of Biogeography*, **30**, 71-86.
- Cowling SA, Maslin MA, Sykes M (2001) Paleovegetation simulations of lowland amazonia and implications for Neotropical allopatry and speciation. *Quaternary Research*, **55**, 140-149.
- Cracraft J, Prum RO (1988) Patterns and processes of diversification: speciation and historical congruence in some Neotropical birds. *Evolution*, **42**, 603-620.
- del Hoyo J, Elliott A, Christie DA (2011) Handbook of the birds of the world. Vol 16. Tanagers to New World Blackbirds. Lynx Editions, Barcelona. 894 p.
- Daza JM, Castoe TA, Parkinson CL (2010) Using regional comparative phylogenetic data from snake lineages to infer historical processes in Middle America. *Ecography*, **33**, 343-354.
- de Haro JJ (1999) ¿Qué es una especie? Bol. *Sociedad Entomológica Aragonesa*, **26**, 105-112.
- Drummond AJ, Suchard MA, Xie D, Rambaut A (2012) Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular Biology and Evolution*, **29**, 1969-1973.
- Devitt TJ (2006) Phylogeography of the Western Lyresnake (*Trimorphodon biscutatus*): testing aridland biogeographical hypotheses across the Nearctic-Neotropical transition. *Molecular Ecology*, **15**, 4387-4407.
- Drummond AJ, Ho SY, Phillips MJ, Rambaut A (2006) Relaxed phylogenetics and dating with confidence. *PLoS Biology*, **4**, e88.
- Echeverry A, Morrone JJ (2013) Generalized tracks, area cladograms and tectonics in the Caribbean. *Journal of Biogeography*, **40**, 1619-1637.
- Ellegren H (2007) Molecular evolutionary genomics of birds. *Cytogenetics and Genome Research*, **117**, 120-130.
- Erkens RHJ, Chatrou LW, Maas JW, van der Niet T, Savolainen V (2007) A rapid diversification of rainforest trees (*Guatteria*; Annonaceae) follow dispersal from Central into South America. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **44**, 399-411.
- ESRI (1999) ArcView GIS v3.2. Environmental Systems Research Inc, USA.
- Excoffier L, Lischer HEL (2010) Arlequin suite v3.5: A new series of programs to perform populations genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, **10**, 564-567.

- Ferrusquía-Villafranca I (1993) Geology of Mexico: a synopsis. *Biological diversity of Mexico: origins and distribution*. Ramamoorthy TP, Bye RA, Lot A, Fa J (eds.). Oxford University Press, New York. 3-107 pp.
- Figueiredo J, Hoon C, van der Ven P, Soares E (2009) Late Miocene onset of the Amazon River and the deep-sea fan: Evidence from the Foz do Amazonas Basin. *Geology*, **37**, 619-622.
- Figueiredo J, Hoon C, van der Ven P, Soares E (2010) Late Miocene onset of the Amazon River and the Amazon deep-sea fan: Evidence from the Foz do Amazonas Basin. *Geology*, **38**, e213.
- Fjeldsa J (1994) Geographical patterns for relict and young species of birds in Africa and South America and implications for conservation priorities. *Biodiversity and Conservation*, **3**, 207-226.
- Fjeldsa J, Lovette JC (1997) Geographical patterns of old and young species in Africa forest biota: the significance of specific montane areas as evolutionary centres. *Biodiversity and Conservation*, **6**, 325-346.
- Fu YX (1997) Statistical test of neutrality of mutation against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*, **147**, 915-925.
- Galewski T, Mauffrey JF, Leite YL, Patton JL, Douzery EJ (2005) Ecomorphological diversification among South American spiny rats (Rodentia: Echimyidae): a phylogenetic and cronological approach. *Molecular Phylogenetic and Evolution*, **34**, 601-615.
- García-Moreno J, Cortés N, García-Deras GM, Hernández-Baños BE (2006) Local origin and diversification among *Lampornis* hummingbirds: A Mesoamerican taxón. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **38**, 488-498.
- Glor RE, Vitt LJ, Larson A (2001) A molecular phylogenetic analysis of diversification in Amazonian *Anolis* lizards. *Molecular Ecology*, **10**, 2661-2668.
- Graham A, Dilcher D (1995) The Cenozoic record of tropical dry forest in northern Latin America and the southern United States. En: *Seasonally dry tropical forest*. Bullock SH, Mooney HA, Medina E (eds.). Cambridge University Press. 124-145 pp.
- Graham A (1999) Studies in Neotropical paleobotany. XIII. An Oligo-Mioceno palynoflora from Simojovel (Chiapas, Mexico). *American Journal of Botany*, **86**, 17-31.
- Gutiérrez-García TA, Vázquez-Domínguez E (2011) Comparative phylogeography: designing studies while surviving the process. *BioScience*, **61**, 857-868.
- Gutiérrez-García TA, Vázquez-Domínguez E (2012) Biogeographically dynamic genetic structure bridging two continents in the monotypic Central American rodent *Otodylomys phyllotis*. *Biological Journal of the Linnean Society*, **107**, 593-610.
- Gutiérrez-García TA y E Vázquez-Domínguez (2013) Consensus between genes and stones in the biogeographic and evolutionary history of Central America. *Quaternary Research* **79**, 311-324.
- Haffer J (1974) Avian speciation in tropical South America. *Publications of the Nuttall Ornithological Club*, **14**, 1-390.
- Harpending HC (1994) Signature of ancient population growth in a low-resolution mitochondrial DNA Mismatch distribution. *Human biology*, **66**, 591-600.
- Harpending HC, Batzer MA, Gurven M, Jorde LB, Rogers AR, Sherry ST (1998) Genetic traces of ancient demography. *Proceedings of Natural Academy of Sciences*, **95**, 1961-1967.
- Hayes FP, Sewlal JAN (2004) The Amazon River as a dispersal barrier to passerine birds: effects of river width, habitat and taxonomy. *Journal of Biogeography*, **31**, 1809-1818.
- Hedrick PW. (2011) *Genetics of populations*. 4a ed. EUA. Jones and Bartlett publishers. 323 p.
- Hernández Baños BE, Honey-Escandón M, Cortés-Rodríguez MN y García-Deras G. Capítulo 15: Filogeografía de aves mexicanas. En: Eguiarte LE, Souza V y Aguirre X (Eds) *Ecología Molecular*. México, 2007. Primera edición. pp. 467-495.
- Hewitt GM (1996) Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biological Journal of the Linnean Society*, **58**, 247-276.

- Hewitt G (2000) The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*, **405**, 907-913.
- Hilty SL (2011) Familia Thraupidae (Tanagers) En: *Handbook of the Birds of the World. Vol. 16. Tanagers to New World Blackbirds*. del Hoyo J, Elliott A, Christie DA (eds.). Lynx Editions, Barcelona. 46-329 pp.
- Hoorn C (1993) Marine incursions and the influence of Andean tectonics on the Miocene depositional history of northwestern Amazonia: results of a palynostratigraphic study. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, **105**, 267-309.
- Hoorn C, Wesselingh FP, ter Steege H, Bermudez MA, Mora A, Sevink J, Sanmartín I, Sanchez-Meseguer A, Anderson CL, Figueiredo JP, Jaramillo C, Riff D, Negri FR, Hooghiemstra H, Lundberg J, Stadler T, Särkinen T, Antonelli A (2010) *Science*, **330**, 927-931.
- Hovikoski J, Gingras M, Räsänen, Rebata LA, Guerrero J, Ranzi A, Melo J, Romero L, del Prado HN, Jaimes F, Lopez S (2007) The nature of Miocene Amazonian epicontinental embayment: high-frequency shifts of the low-gradient coastline. *Geological Society of America Bulletin*, **119**, 1506-1520.
- Howell SNG, Webb S (1995) A guide to the birds of Mexico and northern Central America. Oxford University Press, Oxford, UK. p 671.
- Huelsenbeck JP, Ronquist F (2002) Mr. Bayes, a program for the Bayesian Inference of Phylogeny v 2.0b.
- Insel N, Poulsen CJ, Ehlers TA (2010) Influence of Andes mountains on South American moisture transport, convection and precipitation. *Climate Dynamics*, **35**, 1477-1492.
- Islebe GA, Hooghiemstra H (1997) Vegetation and climate history of montane Costa Rica since the last glacial. *Quaternary Science Review*, **16**, 589-604.
- Iturralde-Vinent MA (2006) Meso-Cenozoic caribbean paleogeography: Implications for the historical biogeography of the region. *International Geology Review*, **48**, 791-827.
- Kimball RT, Braun EL, Barker FK, Bowie RCK, Braun MJ, Chojnowski JL, Hackett SJ, Han K-L, Harshman J, Heimer-Torres V, Holznagel W, Huddleston CJ, Marks BD, Miglia KJ, Moore WS, Reddy S, Sheldon FH, Smith JV, Witt CC, Yuri T (2009) A well-tested set of primers to amplify regions spread across the avian genome. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **50**, 654-660.
- Klicka J, Johnson KP, Lanyon SM (2000) New World nine-primaried oscine relationships: constructing a mitochondrial DNA framework. *The Auk*, **117**, 321-336.
- Klicka J, Burns K, Spellman GM (2007) Defining a monophyletic Cardinalini: a molecular perspective. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **45**, 1014-1032.
- Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, Chenna R, McGettigan PA, McWilliam H, Valentin F, Wallace IM, Wilm A, Lopez R, Thompson JD, Gibson TJ, Higgins DG (2007) Clustal W and Clusta X version 2.0. *Bioinformatics*, **23**, 2947-2948.
- Latrubesse EM, Cozzuol M, da Silva-Caminha SAF, Rigsby CA, Absy ML, Jaramillo C (2010) The Late Miocene paleogeography of the Amazon Basin and the evolution of the Amazon River system. *Earth Science Reviews*, **99**, 99-124.
- Lavinia PD, Escalante P, García NC, Barreira AS, Trujillo-Arias N, Tubaro PL, Naoki K, Miyaki CY, Santos FR, Lijtmaer DA (2015) Continental-scale analysis reveals Deep diversification within the polytypic Red-crowned Ant Tanager (*Habia rubica*, Cardinalidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **89**, 182-193.
- León-Paniagua L, Navarro-Sigüenza AG, Hernández-Baños BE, Morales JC (2007) Diversification of the arboreal mice of the genus *Habromys* (Rodentia: Cricetidae: Neotominae) in Mesoamerican highlands. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **42**, 653-664.
- Leyden BW (1984) Guatemalan forest synthesis after Pleistocene aridity. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, **81**, 4856-4859.
- Librado P, Rozas J (2009) DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, **25**, 1451-1452.
- Marshall CJ, Lieberr JK (2000) Cladistic biogeography of Mexican transition zone. *Journal of Biogeography*, **27**, 203-216.

- Mayle FE, Beerling DJ, Gosling WD, Bush MB (2004) Responses of Amazonian ecosystems to climatic and atmospheric carbon dioxide changes since the last glacial maximum. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B*, **359**, 499-514.
- Mayr E (1942) *Systematics and the origin of species from the viewpoint of a zoologist*. Columbia University Press, New York.
- Moritz C, Patton JL, Schneider CJ, Smith TB (2000) Diversification of rainforest faunas: An integrated molecular approach. *Annual Reviews of Ecology and Systematics*, **31**, 533-563.
- Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, da Fonseca GAB, Kent J (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, **403**, 853-858.
- Myers N (2003) Biodiversity hotspots revisited. *BioScience*, **53**, 796-797.
- Noonan BP, Gaucher Ph (2005) Phylogeography and demography of Guianan harlequin toads (*Atelopus*), diversification within a refuge. *Molecular Ecology*, **14**, 3017-3031.
- Nores M (2004) The implications of Tertiary and Quaternary sea level rise events for avian distribution patterns in the lowlands of northern South America. *Global Ecology and Biogeography*, **13**, 149-161.
- Oliveira-Filho AT y Ratter JA (1995) A study of the origin of central Brazilian forests by the analysis of plant species distribution patterns. *Edinburgh Journal of Botany*, **52**, 141-194.
- Oliveira PE, Barreto AMF, Suguio K (1999) Late Pleistocene/holocene climatic and vegetational history of the Brazilian caatinga: the fossil dunes of the middle Sao Francisco River. *Paleogeology, Paleoclimatology and Paleoecology*, **152**, 319-337.
- Padilla DNG, Halffter G (2007) Biogeography of the areas and Cantonini (Coleoptera: Scarabaeidae) of dry tropical forest in Mesoamerica and Colombia. *Acta Zoológica Mexicana*, **23**, 73-108.
- Patton JL, Nazareth M, Da Silva F, Malcolm JR (1994) Gene genealogy and differentiation among arboreal spiny rats (Rodentia: Echimyidae) of the Amazon basin: A test of the riverine barrier hypothesis. *Evolution*, **48**, 1314-1323.
- Pellegrino KMC, Rodriguez MT, Harris DJ, Yonenaga-Yassuda Y, Sites JS Jr (2011) Molecular phylogeny, biogeography and insights into the origin of parthenogenesis in the Neotropical genus *Leposoma* (Squamata: Gymnophthalmidae): ancient links between the Atlantic Forest and Amazonia. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **61**, 446-459.
- Pennington RT, Prado DE, Pendry CA (2000) Neotropical seasonally dry forests and Quaternary vegetation changes. *Journal of Biogeography*, **27**, 261-273.
- Pennington RT, Lavin M, Prado DE, Pendry CA, Pell SK, Butterworth CA (2004) Historical climate change and speciation: neotropical seasonally dry forest plants show patterns of both Tertiary and Quaternary diversification. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B*, **359**, 515-537.
- Pennington RT, Lavin M, Oliveira-Filho A (2009) Woody plant diversity, evolution, and ecology in the tropics: perspectives from seasonally dry tropical forests. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **40**, 437-457.
- Pennington RT, Lavin M, Särkinen T, Lewis GP, Klitgaard BB, Hughes CE (2010) Contrasting plant diversification histories within the Andean biodiversity hotspot. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **107**, 13783-13787.
- Por FD (1992) *Sooretama: the Atlantic rain forest of Brazil*. p. 130. SPB Academic Publishing, The Hague.
- Posada D, Crandall KA, Templeton AR (2006) Nested clade analysis statistics. *Molecular Ecology Notes*, **6**, 590-593.
- Posada D (2008) jModelTest: Phylogenetic Model Averaging. *Molecular Biology and Evolution*, **25**, 1253-1256.
- Poulsen CJ, Ehlers TA, Insel N (2010) Onset of convective rainfall during gradual late Miocene rise of the Central Andes. *Science*, **328**, 490-493.
- Primmer CR, Borge T, Lindell J, Saetre GP (2002) Single-nucleotide polymorphism characterization in species with limited available sequence information: high nucleotide diversity revealed in the avian genome. *Molecular Ecology*, **11**, 603-612.

- Quijano-Abril MA, Mejía-Franco FG, Callejas-Posada R (2014) Análisis panbiogeográfico de *Enckea* (Piperaceae), un pequeño clado de bosques secos en la filogenia de un gran género de bosques húmedos. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, **85**, 98-107.
- Raven PH, Axelrod DI (1974) Angiosperm biogeography and past continental movements. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **61**, 539-673.
- Ribas CC, Aleixo A, Nogueira ACR, Miyaki CY, Cracraft J (2012) A palaeobiogeographic model for biotic diversification within Amazonia over the past three million years. *Proceedings of the royal society B*, **279**, 681-689.
- Richardson JE, Pennington RT, Pennington TD, Hollingsworth PM (2001) Rapid diversification of a species-rich genus of Neotropical rain forest trees. *Science*, **293**, 2242-2245.
- Riddle BR, Hafner DJ (2006) A step-wise approach to integrating phylogeographic and phylogenetic biogeographic perspectives on the history of a core North American warm deserts biota. *Journal of Arid Environments*, **66**, 435-461.
- Ronquist F, Teslenko M, van der Mark P, Ayres DL, Darling A, Höhna B, Liu L, Suchard MA, Huelsenbeck JP (2012) *Systematic Biology*, **61**, 539-542.
- Rosas-Elguera J, Alva-Valdivia L, Goguitchaichvili A, Urrutia-Fucugauchi J, Ortega-Rivera M, Prieto J, Lee J (2003) Counterclockwise rotation of the Michoacan Block: implications for the tectonics of western Mexico. *International Geology Review*, **45**, 814-826.
- Rull V (2006) Quaternary speciation in the Neotropics. *Molecular Ecology*, **15**, 4257-4259.
- Rull V (2008) Speciation timing and neotropical biodiversity: the Tertiary–Quaternary debate in the light of molecular phylogenetic evidence. *Molecular Ecology*, **17**, 2722-2729.
- Rull V (2011) Neotropical biodiversity: timing and potential drivers. *Trends in Ecology and Evolution*, **26**, 508-513.
- Rzedowski J. (2006) Vegetación de México. Primera edición digital. CONABIO, México.
- Savage JM (1982) The enigma of the Central American Herpetofauna: dispersals or vicariance?. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **69**, 464-547.
- Sibley CG, Monroe BL (1990) Distribution and taxonomy of the birds of the world. Yale University Press, New Haven, CT.
- Sick H (1967) Rios e enchentes na Amazônia como obstáculo para a avifauna. *Atas do Simpósio sobre a Biota Amazonica*, Vol. 5 (Zoologia) (ed. by H. Lent), 495-520. Conselho de Pesquisas, Rio de Janeiro.
- Smith BT, Klicka J (2010) The profound influence of the Late Pliocene Panamanian uplift on the exchange, diversification, and distribution of New World birds. *Ecography*, **33**, 333-342.
- Sorenson MD, Ast CJ, Dimcheff DE, Yuri T, Mindell DP (1999) Primers for PCR-based approach to mitochondrial genome sequencing in birds and other vertebrates. *Molecular Phylogenetic and Evolution*, **12**, 105-114.
- Suárez-Atilano MA, Burbrink F, Vázquez-Domínguez E (2014) Phylogeographical structure within *Boa constrictor imperator* across the lowlands and mountains of Central America and Mexico. *Journal of Biogeography*, **41**, 2371-2384.
- Tajima F (1989) Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, **123**, 585-595.
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S (2011) MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution*, **28**, 2731-2739.
- Toledo VM (1982) Pleistocene changes of vegetation in tropical Mexico. En: Biological Diversification in the Tropics. GT Prance (ed.). Columbia University Press, New York. 93-111 p.
- Wang X, Auler AS, Edwards RL, Cheng H, Cristalli PS, Smart PL, Richards DA, Shen CC (2004) Wet periods in northeastern Brazil over the past 210 kyr to distant climate anomalies. *Nature*, **432**, 740-743.
- Webb SD (1991) Ecogeography and the Great American Interchange. *Paleobiology*, **17**, 266-280.

Webb SD (2006) The Great American Biotic Interchange: patterns and process. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **93**, 245-257.

Weir JT (2006) Divergent timing and patterns of species accumulation in lowland and Highland Neotropical birds. *Evolution*, **60**, 842-855.

Woodburne MO (2010) The Great American Biotic Interchange: dispersals, tectonics, climate, sea level and holding pens. *Journal of Mammalian Evolution*, **17**, 245-264.

Yule GU (1924) A mathematical theory of evolution: based on the conclusions of Dr. J. C. Willis. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, **B213**, 21-87.

Zarza E, Reynoso VH, Emerson BC (2008) Diversification in the northern neotropics: mitochondrial and nuclear DNA phylogeography of the iguana *Ctenosaura pectinata* and related species. *Molecular Ecology*, **17**, 3259-3275.

Zink RM, Klicka J, BR Barber (2004) The tempo of avian diversification during the Quaternary. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B*, **359**, 215-220.

APÉNDICE I. Muestras utilizadas en el estudio y siglas de la institución de procedencia. Museo de Zoología de la Facultad de Ciencias, UNAM (MZFC); Museo Burke de la Universidad de Washington (UWBM); Universidad de Louisiana (LSU); Universidad de Kansas (KU); Genbank (GB) y secuencias proporcionadas por el Dr. John Klicka (Secuencia).

Colección	Subespecie por región	País/Estado	No. Catálogo	Localidad	Latitud	Longitud
Golfo de México						
MZFC	<i>H. rubica holobrunnea</i>	HIDALGO	HGO-SLP 143	El Coyol, 1 Km al E	21.075	-98.955
MZFC	<i>H. rubica holobrunnea</i>	VERACRUZ	TUX 37	Cerca Estación Biológica Tropical Los Tuxtlas	18.58875833	-95.09799444
MZFC	<i>H. rubica holobrunnea</i>	VERACRUZ	NAR 28	El Naranjal, 2 km SE	18.7993556	-96.9579889
MZFC	<i>H. rubica holobrunnea</i>	VERACRUZ	TXT 15	Ejido La perla de San Martín, Municipio San Andrés Tuxtla	18.550389	-95.1236667
MZFC	<i>H. rubica holobrunnea</i>	VERACRUZ	TXT 19	Ejido La perla de San Martín, Municipio San Andrés Tuxtla	18.550389	-95.1236667
UWBM	<i>H. rubica holobrunnea</i>	VERACRUZ	Ver343363	San Andrés Tuxtla	18.32111111	-94.83194444
UWBM	<i>H. rubica holobrunnea</i>	VERACRUZ	Ver393884	San Andrés Tuxtla	18.32111111	-94.83194444
MZFC	<i>H. rubica holobrunnea</i>	VERACRUZ	TXT 58	Los Tuxtlas	18.30983333	-94.88069444
MZFC	<i>H. rubica holobrunnea</i>	VERACRUZ	TXT 62	Los Tuxtlas	18.30622222	-94.87983333
MZFC	<i>H. rubica holobrunnea</i>	VERACRUZ	TXT 63	Los Tuxtlas	18.30622222	-94.87983333
MZFC	<i>H. rubica holobrunnea</i>	VERACRUZ	TXT 64	Los Tuxtlas	18.30079	-94.72156
MZFC	<i>H. rubica holobrunnea</i>	OAXACA	CHIMA 416	La Cabaña, 6.2 km NO San Francisco La Paz	17.066819	-94.05
MZFC	<i>H. rubica holobrunnea</i>	OAXACA	OMVP 545	Chalchijapa, a 20 km NE del pueblo	17.06666667	-94.58333333
MZFC	<i>H. rubica holobrunnea</i>	OAXACA	OMVP 546	Chalchijapa, a 20 km NE del pueblo	17.06666667	-94.58333333
MZFC	<i>H. rubica holobrunnea</i>	OAXACA	OMVP 563	Chalchijapa, Camino a Sierra de Tres Picos	17.02	-94.65861111
MZFC	<i>H. rubica holobrunnea</i>	OAXACA	OMVP 574	Chalchijapa, Camino a Sierra de Tres Picos	17.02	-94.65861111
Sureste de México						
MZFC	<i>Habia rubica nelsoni</i>	CAMPECHE	Y408 176	Ejido El Pañuelo, El Mirador	18.02006667	-90.32003333
MZFC	<i>Habia rubica nelsoni</i>	CAMPECHE	B 2000	El Arroyo, 6 Km S Silvituc	18.59277778	-90.25611111

MZFC	<i>Habia rubica nelsoni</i>	CAMPECHE	B 2037	El Arroyo, 6 Km S Silvituc	18.59277778	-90.25611111
MZFC	<i>Habia rubica nelsoni</i>	CAMPECHE	MOL11 21	Nuevo Becal 4 km al Norte	18.59923333	-89.27811667
MZFC	<i>Habia rubica nelsoni</i>	CAMPECHE	MOL11 22	Nuevo Becal "El Chorro" 7 km al Norte	18.59093333	-89.2577
MZFC	<i>Habia rubica nelsoni</i>	QUINTANA ROO	MOL11 49	Tres Garantías 3 km al Este	18.59923333	-89.27811667
MZFC	<i>Habia rubica nelsoni</i>	QUINTANA ROO	ADAB 95289	Felipe Carrillo 42 Km	19.1597222	-87.8888889
MZFC	<i>Habia rubica rubicoides</i>	CHIAPAS	YACH 378	Zona Arqueológica de Yaxchilán	16.08416667	-90.97666667
MZFC	<i>Habia rubica rubicoides</i>	CHIAPAS	YACH 528	Campamento Arqueológico INAH de Yaxchilán	16.90583333	-90.98277778

Pacífico Norte de México

MZFC	<i>Habia rubica rosea</i>	JALISCO	URRA 55	Los Jardines Botánicos de Vallarta	20.46576	-105.29386
MZFC	<i>Habia rubica rosea</i>	JALISCO	URRA 60	Los Jardines Botánicos de Vallarta	20.46576	-105.29386
MZFC	<i>Habia rubica rosea</i>	JALISCO	URRA 63	Los Jardines Botánicos de Vallarta	20.46576	-105.29386
MZFC	<i>Habia rubica rosea</i>	JALISCO	URRA 67	Los Jardines Botánicos de Vallarta	20.46576	-105.29386
MZFC	<i>Habia rubica rosea</i>	COLIMA	CONACyT 799	Laguna La María	19.45686111	-103.7061667

Pacífico Sur de México

UWBM	<i>Habia rubica rosea</i>	MICHOACÁN	Michbts08126	La Mira; Rancho la Bonetera [18.0951 / -102.3960] Lázaro Cárdenas	18.0951	-102.396
UWBM	<i>Habia rubica rosea</i>	MICHOACÁN	Michbts08 196	La Mira, Lázaro Cárdenas	18.1685	-102.3113
MZFC	<i>Habia rubica rosea</i>	GUERRERO	MOLGRO 40	Municipio chilpancingo, Acahuizotla a 1km camino a San Roque	17.3579444	-99.4624722
MZFC	<i>Habia rubica rosea</i>	GUERRERO	MOLGRO 41	Municipio chilpancingo, Acahuizotla a 1km camino a San Roque	17.3579444	-99.4624722
MZFC	<i>Habia rubica rosea</i>	GUERRERO	MOLGRO 42	Municipio chilpancingo, Acahuizotla a 1km camino a San Roque	17.3579444	-99.4624722
MZFC	<i>Habia rubica rosea</i>	GUERRERO	MOLGRO 43	Municipio chilpancingo, Acahuizotla a 1km camino a San Roque	17.3579444	-99.4624722
MZFC	<i>Habia rubica rosea</i>	GUERRERO	MOLGRO261	Zona Arqueológica Tehuacalco, Finca La Juntita	17.00378	-99.6437
MZFC	<i>Habia rubica rosea</i>	GUERRERO	MOLGRO262	Zona Arqueológica Tehuacalco, Finca La Juntita	17.00378	-99.6437
MZFC	<i>Habia rubica rosea</i>	GUERRERO	MOLGRO454	Zihuatanejo, Ixtapa ciclopista	17.53026	-101.44284
MZFC	<i>Habia rubica rosea</i>	GUERRERO	MOLGRO455	Zihuatanejo, Ixtapa ciclopista	17.53026	-101.44284
MZFC	<i>Habia rubica rosea</i>	GUERRERO	MELGRO438	Zihuatanejo, Ixtapa ciclopista	17.53026	-101.44284

MZFC	<i>Habia rubica affinis</i>	OAXACA	OMVP 160	1 km N del Amate	16.96333333	-97.90666667
MZFC	<i>Habia rubica affinis</i>	OAXACA	OMVP 161	1 km N del Amate	16.96333333	-97.90666667
MZFC	<i>Habia rubica affinis</i>	OAXACA	OMVP 672	Yucunino, cerca de Santa Ana del Progreso, Putla	16.82833333	-97.88
MZFC	<i>Habia rubica affinis</i>	OAXACA	OMVP 682	Cerca de Santa Maria del Progreso	16.82	-97.88833333
MZFC	<i>Habia rubica affinis</i>	OAXACA	OMVP 1008	Distrito de Juquila, 4 km E Peñas Negras	16.23666667	-97.28666667
MZFC	<i>Habia rubica affinis</i>	OAXACA	MIA 81	Finca Soconusco a 3 km de Pluma Hidalgo, Dto. Pochutla	15.925	-96.42
UWBM	<i>Habia rubica affinis</i>	OAXACA	Oaxjk07115	coastal mountains nearest Pochutla	16.1952	-97.1513
UWBM	<i>Habia rubica affinis</i>	OAXACA	Oaxjk07058	coastal mountains nearest Pochutla	16.1952	-97.1513

Centro y Sudamérica

UWBM	<i>Habia rubica</i>	Argentina	DHB 1801	Provincia de Misiones	-26.9552	-55.0877
UWBM	<i>Habia rubica</i>	Argentina	GAV 821	Provincia de Misiones	-26.9552	-55.0877
UWBM	<i>Habia rubica</i>	Argentina	GAV 822	Provincia de Misiones	-26.9552	-55.0877
LSU	<i>Habia rubica</i>	Bolivia	22625	La Paz Department	-16.499722	-68.15
LSU	<i>Habia rubica</i>	Bolivia	8909	Pando Department	-10.798889	-66.9988
LSU	<i>Habia rubica</i>	Bolivia	8959	Pando Department	-10.798889	-66.9988
LSU	<i>Habia rubica</i>	Bolivia	12591	Santa Cruz Department	-17.866667	-63
LSU	<i>Habia rubica</i>	Bolivia	12594	Santa Cruz Department	-17.866667	-63
Secuencia	<i>Habia rubica</i>	Bolivia	1052	La Paz Department	-16.499722	-68.15
Secuencia	<i>Habia rubica</i>	Bolivia	22623	La Paz Department	-16.499722	-68.15
Secuencia	<i>Habia rubica</i>	Bolivia	18345	Santa Cruz Department	-17.866667	-63
Secuencia	<i>Habia rubica</i>	Bolivia	ZMUC 145305	Beni, Beni Biol. Station	-14.378275	-65.095778
Secuencia	<i>Habia rubica</i>	E Brasil	ZMUC 137118	Sao Paulo, Fazenda Capricornio	-23.605986	-46.458783
Secuencia	<i>Habia rubica</i>	E Brasil	ZMUC 137117	Sao Paulo, Fazenda Capricornio	-23.605986	-46.458783
Secuencia	<i>Habia rubica</i>	E Brasil	FMNH 345472	Sao Paulo, Fazenda Capricornio	-23.605986	-46.458783
Secuencia	<i>Habia rubica</i>	W Brasil	ZMUC 120394	Mato Grosso, Rio Cristalino	-9.447764	-55.856972
Secuencia	<i>Habia rubica</i>	W Brasil	457560	Amazonas, Maraa, Lago Cumapi	-1.683056	-65.833056

Secuencia	<i>Habia rubica</i>	W Brasil	457559	Amazonas, Japura, Rio Acanauí	-1.882719	-66.929589
Secuencia	<i>Habia rubica</i>	W Brasil	457558	Amazonas, Japura, Rio Mapari	-2.487381	-68.260803
LSU	<i>Habia rubica</i>	W Brasil	36646	Rondônia	-11.505733	-63.580611
Secuencia	<i>Habia rubica</i>	Costa Rica	ZMUC 130351	Alajuela, Monteverde	10.306983	-84.809731
KU	<i>Habia rubica</i>	El Salvador	5934	Dpt. Ahuachapan	13.81	-89.807
KU	<i>Habia rubica</i>	El Salvador	5937	Dpt. Ahuachapan	13.81	-89.807
KU	<i>Habia rubica</i>	El Salvador	5949	Dpt. Ahuachapan	13.81	-89.807
KU	<i>Habia rubica</i>	El Salvador	5974	Dpt. Sonsonate	13.828	-89.567
KU	<i>Habia rubica</i>	El Salvador	5978	Dpt. Sonsonate	13.828	-89.567
KU	<i>Habia rubica</i>	El Salvador	5982	Dpt. Sonsonate	13.828	-89.567
KU	<i>Habia rubica</i>	El Salvador	5985	Dpt. Sonsonate	13.828	-89.567
Secuencia	<i>Habia rubica</i>	El Salvador	434136	Ahuachapan, Municipio San Pedro Puxtla. Canton Concepcion	13.92595	-89.841133
Secuencia	<i>Habia rubica</i>	El Salvador	434137	Sonsonate, Municipio Izalco. Canton Las Lajas, Bosque Las Lajas	13.682358	-89.662811
UWBM	<i>Habia rubica</i>	Guatemala	DHB 4369	Quezaltenango (Xela), 25 km S; Finca Patrocinio	14.65	-91.6
Secuencia	<i>Habia rubica</i>	Guatemala	DHB 4362	Quezaltenango (Xela), 25 km S; Finca Patrocinio	14.65	-91.6
Secuencia	<i>Habia rubica</i>	Guatemala	DHB 4377	Quezaltenango (Xela), 25 km S; Finca Patrocinio	14.65	-91.6
Secuencia	<i>Habia rubica</i>	Guatemala	DHB 4399	Quezaltenango (Xela), 25 km S; Finca Patrocinio	14.65	-91.6
Secuencia	<i>Habia rubica</i>	Honduras	GAV 2110	La Ceiba, 9.7 km SW; Rio Quebrada; CURLA	15.43	-86.52
Secuencia	<i>Habia rubica</i>	Honduras	GMS 145	La Ceiba, 9.7 km SW	15.43	-86.52
Secuencia	<i>Habia rubica</i>	Honduras/Nicaragua	EF 529897	ND	ND	ND
UWBM	<i>Habia rubica</i>	Nicaragua	DAB 1485	Dpt. de Managua	11.99	-86.26
UWBM	<i>Habia rubica</i>	Nicaragua	DAB 1486	Dpt. de Managua	11.99	-86.26
Secuencia	<i>Habia rubica</i>	Nicaragua	DAB 1484	Dpt. de Managua	11.99	-86.26
Secuencia	<i>Habia rubica</i>	Nicaragua	DAB 1508, GMS 1070	Dpt. de Managua	11.99	-86.26
Secuencia	<i>Habia rubica</i>	Nicaragua	DAB 1349	Matagalpa	13.015	-85.924
Secuencia	<i>Habia rubica</i>	Panama	GMS 1113	El Valle, foothills northeast of town	8.616667	-80.1
Secuencia	<i>Habia rubica</i>	Panama	GMS 1013	Santa Fe, 3 km W; Hacia Alto de Piedra Road	8.05	-81.1
UWBM	<i>Habia rubica</i>	Panamá	JTK04 160	Santa Fe, 3 km W; Hacia Alto de Piedra Road	8.05	-81.1

Secuencia	<i>Habia rubica</i>	Panamá	GMS 1070	El Valle, foothills northeast of town	8.616667	-80.1
Secuencia	<i>Habia rubica</i>	Panamá	JTK04 138	Santa Fe, 3 km W; Hacia Alto de Piedra Road	8.05	-81.1
Secuencia	<i>Habia rubica</i>	Panamá	JTK04 166	Santa Fe, 3 km W; Hacia Alto de Piedra Road	8.05	-81.1
Secuencia	<i>Habia rubica</i>	Panamá	ANSP 5772	ND	ND	ND
Secuencia	<i>Habia rubica</i>	Panamá	ANSP 5771	ND	ND	ND
KU	<i>Habia rubica</i>	Paraguay	205	Dpt. Caazapa, San Rafael Nat. Park	-26.35	-55.516667
KU	<i>Habia rubica</i>	Paraguay	226	Dpt. Caazapa, San Rafael Nat. Park	-26.35	-55.516667
KU	<i>Habia rubica</i>	Paraguay	259	Dpt. Caazapa, San Rafael Nat. Park	-26.35	-55.516667
KU	<i>Habia rubica</i>	Paraguay	313	Dpt. Caazapa, San Rafael Nat. Park	-26.35	-55.516667
KU	<i>Habia rubica</i>	Paraguay	3662	Dpt. Itapua, San Rafael N.P.	-26.516667	-55.8
KU	<i>Habia rubica</i>	Paraguay	3785	Dpt. Itapua, San Rafael N.P.	-26.516667	-55.8
KU	<i>Habia rubica</i>	Paraguay	3852	Dpt. Itapua, San Rafael N.P.	-26.516667	-55.8
KU	<i>Habia rubica</i>	Paraguay	3853	Dpt. Itapua, San Rafael N.P.	-26.516667	-55.8
LSU	<i>Habia rubica</i>	Paraguay	25853	Caazapá Department	-26.226069	-56.024997
Secuencia	<i>Habia rubica</i>	Paraguay	25909	Caaguazú Department	-25.46	-56.02
Secuencia	<i>Habia rubica</i>	Paraguay	25830	Caazapá Department	-26.226069	-56.024997
Secuencia	<i>Habia rubica</i>	Paraguay	ZMUC 144784	Caazapá, Reserva Ecol. Caaguazœ	-26.06667	-55.75
Secuencia	<i>Habia rubica</i>	Paraguay	MVZ 168909	Dpt. Itapúa, El Tirol, 19.5 Km por la carretera NNE Encarnación	-27.183328	-55.777844
KU	<i>Habia rubica</i>	Perú	457	Dpt. Madre de Dios, 15 km NE Maldonado	-12.33	-69.03
KU	<i>Habia rubica</i>	Perú	628	Dpt. Madre de Dios, 15 km NE Maldonado	-12.33	-69.03
KU	<i>Habia rubica</i>	Perú	636	Dpt. Madre de Dios, 15 km NE Maldonado	-12.33	-69.03
KU	<i>Habia rubica</i>	Perú	711	Dpt. Madre de Dios, 15 km NE Maldonado	-12.33	-69.03
KU	<i>Habia rubica</i>	Perú	722	Dpt. Madre de Dios, 15 km NE Maldonado	-12.33	-69.03
LSU	<i>Habia rubica</i>	Perú	27368	Dpt. Loreto	-4.232472	-74.217933
LSU	<i>Habia rubica</i>	Perú	27369	Dpt. Loreto	-4.232472	-74.217933
Secuencia	<i>Habia rubica</i>	Perú	40060	Dpt. Loreto	-4.232472	-74.217933
Secuencia	<i>Habia rubica</i>	Perú	40061	Dpt. Loreto	-4.232472	-74.217933
Secuencia	<i>Habia rubica</i>	Perú	11166	Dpt. Ucayali	-9.825117	-73.08775

Secuencia	<i>Habia rubica</i>	Perú	FMNH 398440	Municipio Madre de Dios, Quebrada Aguas Calientes, 2.75 km E Shintuya	-12.6669	-71.2706
Secuencia	<i>Habia rubica</i>	Perú	ANSP 1495	ND	ND	ND
Secuencia	<i>Habia rubica</i>	Venezuela	IC 1110	Barinas, Calderas	8.313675	-70.050314

Grupo hermano

LSU	<i>Chlorothraupis carmioli</i>	Bolivia	106762	Dpt. Beni	-14.378275	-65.095778
LSU	<i>Chlorothraupis carmioli</i>	Bolivia	1068	Dpt. La Paz	-16.499722	-68.15
LSU	<i>Chlorothraupis carmioli</i>	Perú	27849	Dpt. Loreto	-4.232472	-74.217933
LSU	<i>Chlorothraupis carmioli</i>	Panamá	28343	Provincia Panamá	8.983056	-79.516667
LSU	<i>Chlorothraupis carmioli</i>	Perú	2060	Dpt. Pasco	-10.447575	-75.154539
LSU	<i>Chlorothraupis carmioli</i>	Perú	21207	Dpt. Puno	-15.840222	-70.021881
LSU	<i>Chlorothraupis carmioli</i>	Perú	5510	Dpt. San Martín	-7.244489	-76.825964
GENBANK <small>Klicka et al. 2007</small>	<i>Chlorothraupis carmioli</i>	Ecuador	EF529900	ND	ND	ND
Genbank <small>Barker et al. 2012</small>	<i>Chlorothraupis carmioli</i>	Perú	KC007580	Dpt. San Martín	-7.244489	-76.825964
LSU	<i>Chlorothraupis olivacea</i>	Panamá	2196	Provincia Darién	7.868172	-77.836728
LSU	<i>Chlorothraupis olivacea</i>	Panamá	52930	Provincia Darién	7.868172	-77.836728
Genbank <small>Klicka et al. 2007</small>	<i>Chlorothraupis olivacea</i>	Ecuador	EF529901	ND	ND	ND
LSU	<i>Chlorothraupis stolzmanni</i>	Ecuador	7860	Provincia El Oro	-3.445478	-79.829675
LSU	<i>Chlorothraupis stolzmanni</i>	Ecuador	7876	Provincia El Oro	-3.445478	-79.829675
LSU	<i>Chlorothraupis stolzmanni</i>	Ecuador	11847	Provincia Esmeraldas	-0.968178	-79.651719
Genbank <small>Klicka et al. 2007</small>	<i>Chlorothraupis stolzmanni</i>	Ecuador	EF529899	ND	-2.96502313	-79.11069585

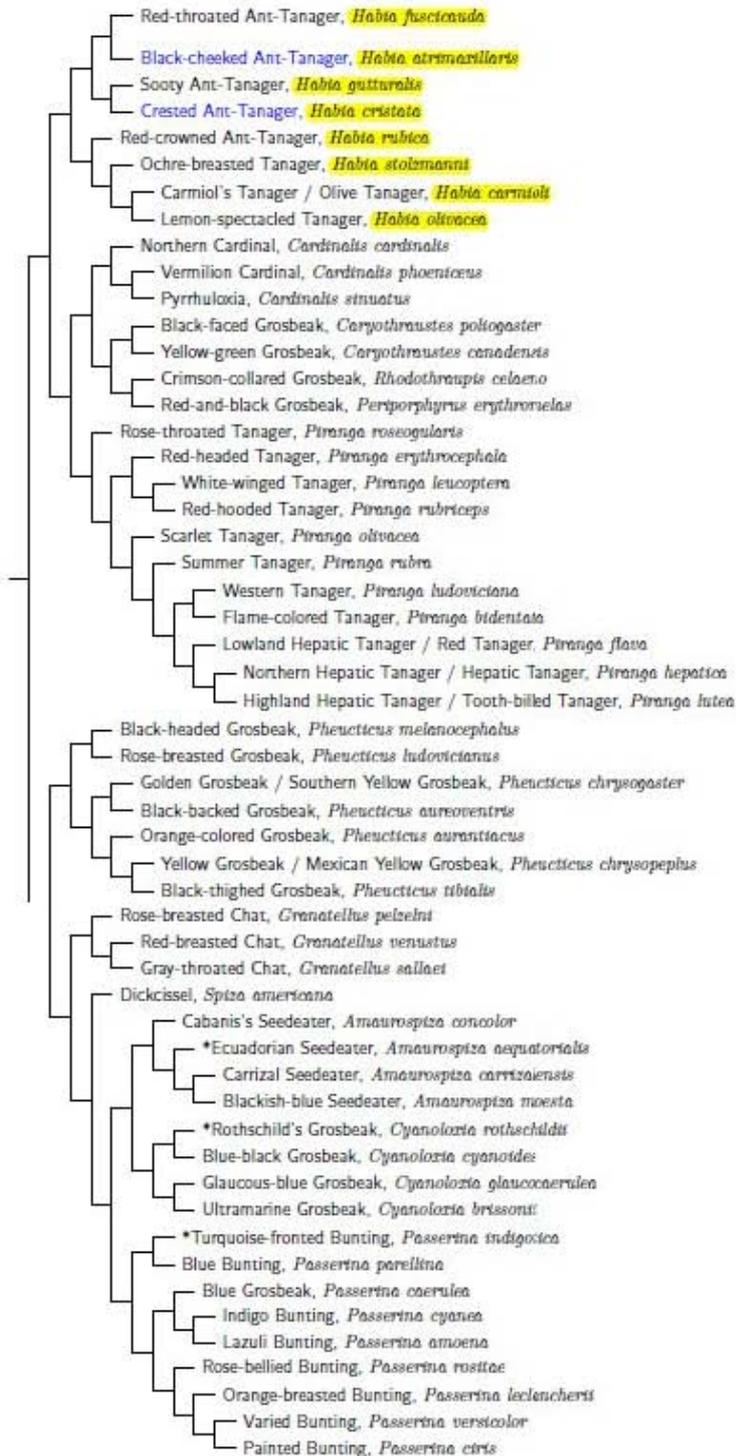
Grupo externo

Secuencia	<i>Habia gutturalis</i>	Colombia	TA15	ND	ND	ND
-----------	-------------------------	----------	------	----	----	----

UWBM	<i>Habia atrimaxilaris</i>	Costa Rica	ND	ND	ND	ND
MZFC	<i>Habia fuscicauda</i>	México, Campeche	B1908	El Arroyo, 6 km al sur de Silvituc	18.5927778	-90.2360

APÉNDICE II. Clasificación propuesta por el OIC (<http://www.worldbirdnames.org/>).

Cardinalidae: Cardinals, Grosbeaks



Sources: Bryson et al. (2013), Burns (1998), Carling and Brumfield (2008), Klicka et al. (2007), Pulgarin-R et al. (2013).