



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
FACULTAD DE CIENCIAS  
SISTEMÁTICA

**VARIACIÓN FENOTÍPICA Y GENÉTICA DE LA URRACA CAFÉ *Psilorhinus morio***  
**(AVES: CORVIDAE) EN UNA ZONA DE TRANSICIÓN**

# **TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

**BIÓL. JAIME CASTRO NAVARRO**

**TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA**  
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM.  
**COMITÉ TUTOR: DRA. ELLA VÁZQUEZ DOMÍNGUEZ**  
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM.  
**DR. OCTAVIO RAFAEL ROJAS SOTO**  
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, INECOL.

**CIUDAD DE MÉXICO**

**JUNIO, 2016**



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  
SISTEMÁTICA

**VARIACIÓN FENOTÍPICA Y GENÉTICA DE LA URRACA CAFÉ *Psilorhinus morio***  
**(AVES: CORVIDAE) EN UNA ZONA DE TRANSICIÓN**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

**BIÓL. JAIME CASTRO NAVARRO**

**TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA**  
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM.  
**COMITÉ TUTOR: DRA. ELLA VÁZQUEZ DOMÍNGUEZ**  
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM.  
**DR. OCTAVIO RAFAEL ROJAS SOTO**  
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, INECOL.

**CIUDAD DE MÉXICO**

**JUNIO, 2016**



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

OFICIO FCIE/DEP/289/2016

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 **25 de agosto de 2014** se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en el campo de conocimiento de **Sistemática** del (la) alumno (a) **CASTRO NAVARRO JAIME** con número de cuenta **303053231** con la tesis titulada "**Variación fenotípica y genética de la urraca café *Psilorhinus morio* (Aves: Corvidae) en una zona de transición**", realizada bajo la dirección del (la) **DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA**:

Presidente: DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA  
Vocal: DR. LUIS ANTONIO SÁNCHEZ GONZÁLEZ  
Secretario: DRA. ELLA GLORIA VAZQUEZ DOMÍNGUEZ  
Suplente: DRA. LIVIA SOCORRO LEÓN PANIAGUA  
Suplente: DR. OCTAVIO RAFAEL ROJAS SOTO

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

**ATENTAMENTE**  
**"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"**  
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 23 de mayo de 2016

**DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA**  
**COORDINADORA DEL PROGRAMA**



MCAA/MJFM/ASR/mnm

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México, por la formación académica que adquirí dentro del programa y todas las facilidades otorgadas.

A la Nación y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca número CVU/Becario 412448/262586 otorgada durante el periodo académico 2012-1 a 2013-2.

Al apoyo financiero PAPIIT-UNAM (IN 217212 e IN 215515) y del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Ciencia Básica, CONACyT 152060).

A los miembros del comité tutorial: Dr. Adolfo Gerardo Navarro Sigüenza, Dra. Ella Gloria Vázquez Domínguez y Dr. Octavio Rafael Rojas Soto, por el apoyo, la guía, las recomendaciones y todas las contribuciones durante la elaboración del proyecto.

A los miembros del jurado: Dra. María del Coro Arizmendi Arriaga, Dra. Livia León Paniagua y al Dr. Luis Antonio Sánchez González, por sus enriquecedoras aportaciones, observaciones y comentarios para mejorar esta investigación.

A los colectores científicos, técnicos y curadores de las siguientes colecciones científicas por facilitar la información biológica para la elaboración de este estudio: al Museo de Zoología “Alfonso L. Herrera” de la Facultad de Ciencias, UNAM, el Moore Laboratory of Zoology, Occidental College y el Museum of Vertebrate Zoology, Berkeley-California.

## AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

Expreso mi más especial gratitud a mi asesor, Dr. Adolfo Navarro Sigüenza por todo el apoyo y confianza brindada durante mi formación académica, por las contribuciones que permitieron desarrollar la investigación, por el conocimiento transmitido, por la paciencia y las oportunidades que me otorgó para salir adelante y no rendirme, pero sobre todo por su valiosa amistad. ¡Muchas gracias Adolfo!

A mis sinodales, Dra. Ella Vázquez Domínguez, Dr. Octavio R. Rojas Soto, Dra. María del Coro Arizmendi Arriaga, Dra. Livia León Paniagua y al Dr. Luis Antonio Sánchez González por los valiosos comentarios y sugerencias que enriquecieron esta investigación y por la buena disposición para resolver mis dudas en todo momento.

A mis compañeros, amigos, profesores y colaboradores del Museo de Zoología de la Facultad de Ciencias (MZFC). por la convivencia, contribución académica y orientación en diversas etapas de mi trayectoria en el museo, pero sobre todo por los buenos momentos dentro y fuera de las instalaciones de la “pajarera” o en el campo. Gracias Alejandro Gordillo, Fanny Rebón, Dra. Blanca Hernández, Jatziri A. Calderón Chávez, Claudia Arellano, Jesús Cabrera, Tania Kobelkowsky, Daniela Arellano, Melisa Vázquez, Marisol Ramírez, Anuar López, César A. Ríos, Luis A. Sánchez, Leopoldo Vázquez, Daniel Méndez, Gala Cortés, Diego Roldán, Luz E. Zamudio, Marco Ortiz, Martha Hernández, Ángel Rodríguez y Enrique Arbeláez.

Insto un especial agradecimiento a mi querida amiga Melisa Vázquez López, por el apoyo y compartir conmigo esta aventura académica, por las observaciones y sugerencias para mejorar mi proyecto, pero sobre todo por compartir una increíble amistad ¡Gracias Melii!

A Adolfo Navarro, Andrew Townsend Peterson, Mark Robbins, Adam W. Ferguson y Molly McDonough por invitarme a colaborar como ornitólogo en Botswana, África.

A Carla Cicero y John McCormack por el apoyo logístico, técnico y las facilidades otorgadas durante mi estancia académica en California.

A Jesús Cabrera y a su familia por el apoyo en la obtención de tejidos en la región de Córdoba, así como a Ismari Ramírez por el apoyo logístico en Los Tuxtlas. A las autoridades y comunidades visitadas por permitir y facilitar el trabajo de campo.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, mi segunda casa y mi *alma mater*.

A las personas que intervinieron directa e indirectamente en la elaboración de esta investigación y a los lectores de este trabajo ¡Muchas gracias!

Dedico este trabajo a mis padres Arq. Jaime Castro y María Guadalupe Navarro, a mis hermanos y a mi abuelita Carmen, por el profundo cariño que les tengo, por su incondicional apoyo y motivarme para culminar esta etapa académica. Gracias por ser mi principal motivo que me inspira a salir adelante.

Dedico este trabajo a la memoria, recuerdo y valores de mi tata Rafael Castro y mi nana Anastacia Pérez. También a la memoria de Carlos Hesselbart y Carlos Chávez, por el amor a la vida, por la amistad.

A ustedes, quienes han estado conmigo en las buenas y en las no tan buenas, en quienes tengo un infinito agradecimiento por el camino recorrido y que me motivaron o guiaron a cerrar este importante ciclo y a emprender nuevos proyectos profesionales y sobre todo de vida. Gracias por todo Alejandra Barrios, Gabriela Batun, Jesús Cabrera, Melisa Vázquez, Verónica González, Mónica Ibarra, Jatziri Calderón, Alejandra Nayeli y Amram Moisés.

A mi amada Fernanda Jiménez, por las cosas hermosas que quedan en el corazón, por lo feliz que fui, contigo y sin ti.

A quien fue, a quien es y a quien será...

## Tabla de contenido

<b>RESUMEN</b> .....	<b>1</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>2</b>
Generalidades del complejo <i>Psilorhinus morio</i> .....	5
<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>7</b>
<b>MÉTODOS</b> .....	<b>7</b>
Datos morfológicos .....	8
Análisis de imágenes digitales y espectrometría .....	10
Análisis de estadísticos fenotípicos y morfológicos .....	12
Datos genéticos: muestras, extracción, amplificación y secuenciación de ADN .....	14
Variación genética y análisis filogenético .....	15
<b>RESULTADOS</b> .....	<b>18</b>
Variación morfológica entre el morfo oscuro y morfo claro .....	18
Variación geográfica .....	22
Variación fenotípica: coloración y espectrometría .....	30
Variación genética e inferencia filogenética .....	34
<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>41</b>
<b>LITERATURA CITADA</b> .....	<b>49</b>
<b>Anexo 1</b> .....	<b>58</b>
<b>Anexo 2</b> .....	<b>59</b>
<b>Anexo 3</b> .....	<b>61</b>
<b>Anexo 4</b> .....	<b>62</b>



## Índice de figuras y cuadros

### FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Distribución geográfica de <i>Psilorhinus morio</i> . Se señala la distribución de las monoformas y la zona de superposición de éstas. ....	3
<b>Figura 2.</b> Fotografía comparativa de individuos adultos de <i>P. morio</i> a través de la distribución geográfica.....	9
<b>Figura 3.</b> Diferencias intergrupales para machos y hembras .....	24
<b>Figura 4.</b> Análisis de función discriminante de las nueve variables morfológicas de las urracas para los grupos geográficos con los sexos separados .....	27
<b>Figura 5.</b> Diferencias intergrupales en los canales receptores de color rojo (R), verde (G) y azul (B).....	28
<b>Figura 6.</b> Análisis de función discriminante de las 3 variables derivadas del análisis de imágenes digitales RGB (A) y de las cinco variables de espectrometría (B) para los grupos geográficos .....	29
<b>Figura 7.</b> Espectro de reflectancia del plumaje ventral en los cinco grupos de la urracas café <i>Psilorhinus morio</i> Reconstrucción filogenética elaborado mediante Inferencia Bayesiana para la matriz de datos concatenados .....	32
<b>Figura 8.</b> Gráfico del análisis de función discriminante “consenso”, para nueve variables morfológicas, tres variables derivadas del análisis de imágenes digitales RGB y cinco variables de espectrometría para los grupos geográficos .....	33
<b>Figura 9.</b> Reconstrucción filogenética obtenida mediante Inferencia Bayesiana para la matriz de datos concatenados .....	38
<b>Figura 10.</b> Reconstrucción filogenética elaborado mediante Máxima Verosimilitud para la matriz de datos concatenados .....	39
<b>Figura 11.</b> Reconstrucción filogenética elaborada mediante Máxima Parsimonia para la matriz de datos concatenados .....	40

### CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Lista de tejidos de <i>Psilorhinus morio</i> utilizados en este estudio.....	17
<b>Cuadro 2.</b> Variables morfológicas de acuerdo a las edades de individuos de la forma oscura y forma clara.....	20
<b>Cuadro 3.</b> Variación morfológica del morfo café y el morfo claro debida al sexo.....	21
<b>Cuadro 4.</b> Variación entre los marcadores moleculares y el concatenado (ND2 + loci 20454F + GAPDH).....	34
<b>Cuadro 5.</b> Variación genética en cuatro grupos de urraca café evaluando el marcador ND2 y los datos concatenados.....	35
<b>Cuadro 6.</b> Resultados del análisis de varianza molecular (AMOVA).....	36
<b>Cuadro 7.</b> Distancias pareadas $F_{ST}$ para los tres marcadores moleculares y la matriz concatenada.....	36

## RESUMEN

Se llevaron a cabo análisis morfológicos, medición de la coloración del plumaje y análisis genéticos para evaluar la variación y las relaciones entre las poblaciones de la urraca café (*Psilorhinus morio*) a lo largo de la zona de transición morfológica. Mediante la evaluación de variables anatómicas, datos derivados del análisis de imágenes digitales y espectrometría del plumaje, se encontró divergencia y diferencias significativas de tamaño y coloración entre cuatro grupos de urracas: a) Morfo claro de la Península de Yucatán, b) Morfo claro de Centroamérica, c) Morfo claro de la zona de contacto y d) Morfo oscuro del Norte + morfo oscuro de la zona contacto. Los resultados genéticos de secuencias parciales del marcador mitocondrial ND2 y dos nucleares (GAPD y 20454) no coinciden con la divergencia del tamaño y la coloración del plumaje, ya que no muestran una separación genética entre las poblaciones. Los resultados soportan la hipótesis de que una expansión demográfica reciente, flujo génico y la ausencia de monofilia pueden estar asociados a una radiación reciente. Es posible que el Istmo de Tehuantepec haya sido un factor de aislamiento entre las poblaciones, posteriormente se sugiere existió contacto secundario con la consecuente rápida diferenciación morfológica y la fijación del color, probablemente mediados por la deriva génica o la selección sexual, lo cual sin embargo requiere de confirmación con análisis más finos. Con base en los resultados obtenidos, se sugiere que debe realizarse una reevaluación taxonómica de las especies. El uso de un mayor número de muestras, así como estudios de genética de poblaciones, etología y bioacústica, son necesarios para confirmar la hipótesis evolutiva aquí planteada.

## ABSTRACT

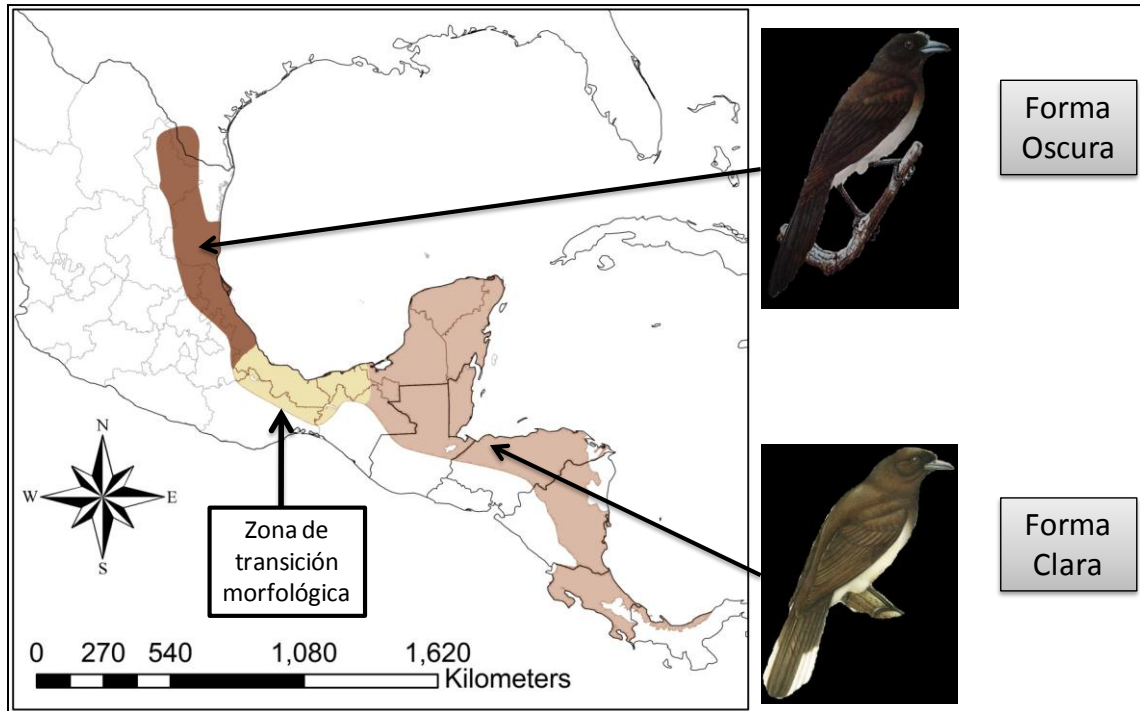
I conducted morphological analysis, plumage color measurements, and genetic analysis to assess the variation and relationships among Brown jay populations along a morphological transition zone. Considering anatomical variables, data derived from digital image analysis and spectrometry in the plumage, I found divergence and significant differences in size and coloration between four groups of Brown jay: a) white morphs of the Yucatan Peninsula, b) white morphs of Central America, c) white morphs of the contact area d) northern monomorphic brown + brown morphs of the contact area. Genetic results of partial sequences of mitochondrial DNA (ND2) and two nuclear markers (GAPD and 20454) do not match the divergence of the size and plumage coloration, as they do not show a genetic separation between populations. Results support the hypothesis that a recent demographic expansion, gene flow and the absence of monophyly could be all associated with recent differentiation. It is possible that the Isthmus of Tehuantepec was a factor in isolating populations, which secondary contact was established, with a rapid morphological differentiation with color segregation probably mediated by genetic drift or sexual selection, which however, requires confirmation with finer analysis. Based on the results, I suggest that a taxonomic reevaluation of species should be performed. Use of a larger number of samples, as well as studies of population genetics, ethology and bioacoustical analyses, are needed to confirm the evolutionary hypothesis here presented.

## INTRODUCCIÓN

La familia de los cuervos, urracas y arrendajos (Corvidae) es un grupo cosmopolita de aves que ha despertado un amplio interés, particularmente entre los etólogos y ecólogos, debido a su inteligencia y conducta social desarrollada. Sin embargo, a pesar de ser un grupo ampliamente estudiado, el conocimiento sobre los patrones de evolución, taxonomía y sus relaciones filogenéticas es escaso o aún se encuentra en desarrollo (*e.g.*, Ericson *et al.* 2005; Bonaccorso y Peterson 2007; Bonaccorso *et al.* 2010; Haring *et al.* 2012).

Un claro ejemplo de lo anterior se exhibe con la urraca café o chara papán (*Psilorhinus morio*) sobre la cual existen datos acerca de su comportamiento social durante la reproducción y la alimentación (*e.g.*, Morrison y Slack 1977; Lawton y Lawton 1985; Haemig 1989; Williams *et al.* 1994; Hale *et al.* 2003; Williams y Rabenold 2004; Williams y Hale 2008). No obstante, con relación a su taxonomía y límites de especies se conoce muy poco debido, en parte, por la notable variación fenotípica que presentan a lo largo de su distribución geográfica, que va desde el extremo sur de Texas y el noreste de México, en Tamaulipas hasta el sureste de Costa Rica (Selander 1959).

Las poblaciones más norteñas, desde Texas, Tamaulipas y Nuevo León hasta el centro de Veracruz, presentan un patrón de coloración uniforme de color café oscuro o marrón, que contrasta con las formas del norte de Yucatán hasta Costa Rica, las cuales tienen las plumas exteriores de la cola con puntas blancas y el color del plumaje del vientre es más claro, desde café claro a blanco. Hay que resaltar que desde el centro de Veracruz al norte de Chiapas y Tabasco, las poblaciones de urracas presentan ambos morfos, de modo que la región se delimita como una posible zona de contacto o hibridación (Selander 1959; Howell y Webb 1995) (Fig. 1).



**Figura 1.** Distribución geográfica de *Psilorhinus morio*. Tomado y modificado de Ridgely *et. al.* (2007). Se señala la distribución de los morfos y la zona de superposición de éstas.

Actualmente, las poblaciones de la urraca café se clasifican taxonómicamente en una sola especie (AOU 1998) conformada por tres subespecies (*Psilorhinus morio palliatus*, *P. m. morio* y *P. m. vociferus*; Dos Anjos 2009). Sin embargo, la variación en los atributos fenotípicos de las urracas a lo largo de la geografía ha llevado a algunos autores a proponer que las poblaciones posiblemente pertenecen a dos especies (Hellmayr 1934; Navarro-Sigüenza y Peterson 2004). Davis (1951) y Selander (1959) sostuvieron, con la información disponible, que la delimitación basada en la variación del color para considerar a las poblaciones monomórficas como especies diferentes podría ser arbitraria o, por el contrario, si el presente patrón de polimorfismo fue establecido originalmente por contacto secundario e hibridación introgresiva entre las especies. Debido a lo anterior, la urraca café resulta ser un taxón interesante para el estudio de los procesos evolutivos y la delimitación de especies.

Algunos estudios sugieren que los modelos de discriminación del color, por parte de los humanos, no distinguen diferencias del color del plumaje que potencialmente son visibles e

importantes para las aves, y cuya relevancia se asocia a otros factores ecológicos y evolutivos como la segregación poblacional, aislamiento reproductivo y, en última instancia, en el proceso de especiación (Savalli 1995; Cuthill *et al.* 1999; Omland y Kondo 2006; Rohwer *et al.* 2012). En este contexto, con base en el estudio de la variación de los rasgos a través de las zonas de contacto, es posible inferir si dos formas potencialmente tienen distintas trayectorias evolutivas debido a un aislamiento reproductivo parcial; asimismo se pueden evaluar los factores que contribuyen a dicho aislamiento (Brelsford e Irwin 2009). Para dilucidar la existencia de caracteres diagnosticables para la identificación de las especies, se pueden evaluar diferencias de coloración del plumaje a lo largo de la distribución geográfica de éstas, mediante el empleo de técnicas de reflectancia del color y cuantificación del patrón e intensidad de la coloración, morfometría y genética. Empleando criterios como las diferencias, frecuencias y los cambios en los caracteres fenotípicos a lo largo de la distribución (Sattler & Braun 2000), es posible proveer estimados directos y a mayor detalle sobre las barreras de aislamiento reproductivo, los factores involucrados en la expresión de los rasgos y el proceso de divergencia de linaje, es decir, la especiación (Futuyma 2005; Mettler y Spellman 2009). En este sentido, los patrones resultantes de la variación podrían proporcionar una visión de los factores que impulsan la diferenciación entre las poblaciones (González *et al.* 2011).

A partir de la integración de datos biológicos por medio de la congruencia o por acumulación de las evidencias (*e.g.* diferencias fenotípicas, morfológicas, genéticas, ecológicas, entre otras), es posible definir el estatus taxonómico de las especies (De Queiroz 2007; Padial *et al.* 2009, 2010). En el caso de la urraca café, las evidencias están aún ausentes. Sin embargo, la divergencia fenotípica por el momento confirma a las monoformas como linajes candidatos a especies (Padial *et al.* 2010).

Por esta razón, en el presente estudio se analizó la variación de la urraca café a través de la zona de transición morfológica mediante el análisis de caracteres morfológicos, fenotípicos (coloración) y el uso de marcadores moleculares. Considerando las diferencias y frecuencias de ambos conjuntos de caracteres, se integró la información resultante de la variación genética con los atributos de la coloración del plumaje y la morfología de las urracas con la finalidad de sugerir una hipótesis de la historia evolutiva de los morfos, así

como las posibles causas involucradas en el proceso de diferenciación y aislamiento entre las poblaciones (Jiggins & Mallet 2000; Brumfield *et al.* 2001)

### **GENERALIDADES DE *Psilorhinus morio***

La urraca café o chara papán (*Psilorhinus morio*), es considerada una especie politípica de la familia Corvidae (Bonaccorso y Peterson 2007; Chesser *et al.* 2011). Los individuos se caracterizan por ser residentes permanentes que viven en mosaicos de hábitat, desde áreas costeras hasta los 2500 metros en las zonas serranas, como la Sierra Madre Oriental, con una notable preferencia por áreas perturbadas (bordes de plantaciones) sobre las no alteradas. Generalmente forman gremios de 5 a 24 individuos y se alimentan de distintas variedades de frutos, flores e insectos, así como de lagartijas (Dos Anjos 2009).

Históricamente, la urraca café ha presentado problemas taxonómicos tanto a nivel de especie como a nivel de género, por ejemplo Hellmayr (1934) basado en la variación fenotípica de las urracas, presentó al morfo café como *Psilorhinus morio*, mientras que al morfo de cola blanca la denominó *P. mexicanus*. La clasificación anterior se mantuvo en la literatura durante varios años (Sutton y Gilbert 1942; Amadon 1944; Miller *et al.* 1957), siendo Lowery y Dalquest (1951) los principales defensores de esa idea (Selander 1959). No obstante, no fue sino hasta los trabajos de Sutton (1951), Amadon y Eckelberry (1955) y Eissemann (1955) cuando se cuestionó el estatus taxonómico del grupo, al señalar que posiblemente se trataba de una misma especie (Selander 1959). Selander (1959) hizo el primer estudio sobre las relaciones de los morfos a lo largo de su distribución geográfica y definió que se trataba de dos morfos de la misma especie.

Selander encontró que a desde del norte de Veracruz y hacia el sur, todos los individuos son cafés, mientras que todos los de Centroamérica y la Península de Yucatán, son del morfo claro de cola con puntas blancas. También encontró que en la zona de superposición (centro de Veracruz, sur y este de Tabasco) ambos tipos son idénticos en tamaño, están constantemente asociados y son similares en ocurrencia de hábitat y conducta. Sugirió que en dicha zona la forma de cuerpo completamente café es genéticamente dominante sobre la

urraca de cola con puntas blanca y que en el área, el polimorfismo fue posiblemente establecido por contacto secundario e hibridación introgresiva, aunque aclaró que esas explicaciones eran meramente especulativas.

Por otra parte, aunado al debate de la variación fenotípica de la urraca, también han existido discusiones con relación a la posición taxonómica del grupo respecto a otros córvidos endémicos de América. Como antecedente, es importante mencionar que la urraca café tiene una estructura morfológica única entre los córvidos denominada “saco furcular” o “fúrcula”. Esta estructura es un saco exterior inflable ubicado en el pecho formado por la hipertrofia de los músculos cleido-traqueales, la cual produce extraños sonidos como chasquidos cuando vocaliza. La existencia de este saco fue considerada por Sutton y Gilbert (1942) y Amadon (1944) como el carácter que lo separa filogenéticamente de las charas del género *Cyanocorax* y de las urracas copetonas del género *Calocitta*, con las cuales comparte atributos ecológicos, morfológicos y conductuales (Pitelka *et al.* 1956; Selander 1959). Sin embargo, hasta hace algunas décadas, algunos autores (Hardy 1969; AOU 1998) consideraban que *P. morio* compartía una estrecha relación con las especies de *Cyanocorax* debido a las similitudes en patrón de coloración del plumaje facial y la cola, la conducta cooperativa, las vocalizaciones, y el cambio de coloración del pico y el tarso durante el desarrollo de juveniles a adultos (de amarillo a negro, respectivamente), lo que llevó a incluir a esta especie en el género *Cyanocorax*.

La filogenia de los córvidos del Nuevo Mundo ha sido recientemente reevaluada con base en datos genéticos (Saunders y Edwards 2000; Ericson *et al.* 2005). Particularmente en el caso de los géneros *Cyanocorax*, *Psilorhinus* y *Calocitta*, los estudios de sistemática molecular (Saunders y Edwards 2000; Bonaccorso y Peterson 2007; Bonaccorso *et al.* 2010) sugieren que la urraca café es el grupo hermano de las urracas copetonas (*Calocitta*) y, a su vez, ambas se relacionan con algunas especies de *Cyanocorax*.

En este sentido, a pesar de que la taxonomía del grupo ha sido inestable y aún faltan estudios más detallados en las poblaciones, ésta información sobre las relaciones filogenéticas respalda lo establecido morfológicamente previamente por Sutton y Gilbert

(1942), de modo que por ahora a nivel genérico los morfos de urraca café se mantienen en el género *Psilorhinus*.

## **OBJETIVOS**

Mediante el análisis de caracteres morfométricos, coloración del plumaje y marcadores moleculares, se espera comprender la variación entre las urracas oscuras y claras a través de la zona de transición así como las relaciones entre las diferentes poblaciones de *Psilorhinus morio*.

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

1. Describir la variación fenotípica mediante el análisis de caracteres morfométricos y coloración del plumaje de la urraca café a lo largo de su distribución y en la zona de transición.
2. Explorar la variación genética y reconstrucción filogenética de las poblaciones mexicanas de *P. morio* mediante el uso de marcadores moleculares (ADN).
3. Analizar la correspondencia y coincidencia de variación genética con los atributos fenotípicos-morfológicos, para sugerir una hipótesis de la historia evolutiva del complejo.

## **MÉTODOS**

### ***Datos morfológicos***

Se reunió información morfométrica de 209 individuos de la urraca café provenientes de 61 localidades a lo largo de su área de distribución geográfica. Los datos se obtuvieron de especímenes depositados en las colecciones científicas del Museo de Zoología de la Facultad de Ciencias, UNAM; el Moore Laboratory of Zoology, Occidental College y el Museum of Vertebrate Zoology, Berkeley-California. Del total, 103 son machos y 106 son hembras; 137 corresponden al morfo oscuro y 72 presentan el patrón de coloración claro con puntas de la cola blancas. De acuerdo con la edad de los individuos (Pitelka *et al.* 1956; Selander 1959), 97 son juveniles (comisuras del pico y tarso completamente amarillo), 21



son sub-adultos (pico y tarso con patrón intermedio de coloración amarilla y negra) y 91 son individuos adultos (partes blandas completamente negras).

Selander (1959) determinó que dentro de las poblaciones polimórficas los individuos son idénticos en sus dimensiones y evaluó que visualmente no hay dimorfismo sexual, aunque precisó que las hembras son de menor tamaño respecto a los machos en todas las dimensiones. Sin embargo, no mostró evidencia detallada. Por tal motivo, en este estudio primero se evaluó estadísticamente la existencia o ausencia de diferencias significativas en el tamaño corporal debidas a la edad y al sexo dentro de cada morfo y entre ambos. Posteriormente, basados en la presencia o ausencia del polimorfismo, el tamaño y los atributos geográficos, se establecieron cinco grupos para conocer los patrones de variación morfológica y fenotípica de la urraca café en la geografía. Estos grupos se denominaron de la siguiente manera: 1) forma café del norte (CAFÉ NORTE); 2) forma café de la zona contacto (CAFÉ CONTACTO); 3) forma clara de la zona de contacto (BLANCO CONTACTO), 4) forma clara de la Península de Yucatán (BLANCO YUCATÁN); 5) forma clara de Centroamérica (BLANCO CENTROAMÉRICA) (Fig. 2).



**Figura 2.** Fotografía comparativa de individuos adultos de *P. morio* a través de la distribución geográfica. De izquierda a derecha: individuo de Tamaulipas (CAFÉ NORTE), individuo de la zona de contacto (CAFÉ CONTACTO), morfo claro de la zona de transición (BLANCO CONTACTO), individuo de la Península de Yucatán (BLANCO YUCATÁN) e individuo de Costa Rica (BLANCO CENTROAMÉRICA).

Se seleccionaron caracteres morfológicos basados en variables que ya han sido empleadas en otros trabajos sobre aves (Brumfield *et al.* 2001; Mettler y Spellman 2009): longitud del tarso (LongPico), el ancho del pico a la altura de los nostrilos (AnchoPico), la altura del pico (AltoPico), la distancia entre los nostrilos (AnchoNost), la altura de la base de la mandíbula hasta el borde inferior del nostrilo (AltNostMan), la longitud de la mandíbula (LongMand), la cuerda alar (CuerdaAlar) y la longitud de la cola (LongCola). Estos caracteres permiten discriminar entre las poblaciones y son útiles para dilucidar los patrones de variación morfológica (Sattler y Braun 2000; Navarro-Sigüenza *et al.* 2013). Los datos morfométricos se tomaron para la totalidad de los individuos (n= 209).

Se utilizó un vernier electrónico marca Mitutoyo con una precisión de 0.01 mm y una regla metálica con precisión de 0.5 mm para la obtención de las medidas anatómicas externas. Todas las medidas de los ejemplares bajo estudio fueron tomadas por la misma persona (JCN). Con las medidas obtenidas se elaboró una base de datos que fue capturada en el programa Access (Microsoft 2007) para la posterior realización de los análisis estadísticos y análisis multivariados en el software SPSS versión 17 (SPSS 2008) y XLSTAT (XLSTAT 2013).

### ***Análisis de imágenes digitales y espectrometría.***

Se tomaron fotografías digitales y datos de reflectancia del color del plumaje ventral con el objetivo de evaluar las posibles diferencias de coloración entre los cinco grupos geográficos. Como ocurre con los humanos, las aves tienen fotorreceptores del color que responden a la luz de onda larga (R), media (G) y corta (B) y, de acuerdo con Villafuerte y Negro (1998), los valores de cantidad de RGB obtenidos a partir de fotografías pueden ser usados para comparar la coloración entre individuos. Asimismo, las aves tienen fotorreceptores adicionales como parte de su sistema de visión de color que puede detectar la luz en longitudes de onda ultravioleta (UV), por lo que para ampliar y corroborar la información derivada de la observación de la coloración dentro del espectro de visión humano, es decir, la observada en las imágenes fotográficas, se colectaron datos de reflectancia del color en algunas aves usando un espectrómetro de fibra óptica OceanOptics USB2000 y el software SpectraSuite (Ocean Optics 2007). A diferencia del procesamiento de imágenes digitales y complementaria a ésta, la técnica de reflectancia del color permite obtener información útil en el diagnóstico de caracteres fenotípicos que no son apreciables en el espectro visual de los humanos, pero sí para las aves (Rohwer *et al.* 2012).

Todas las urracas fueron fotografiadas bajo condiciones estandarizadas de iluminación: en una superficie blanca cuadriculada (50 x 40 cm) iluminada con luz natural. Las fotografías fueron tomadas con una cámara digital marca PENTAX adaptada a un soporte fijo. Para obtener las mejores imágenes, las funciones de mayor resolución fueron configuradas para este propósito (Stevens *et al.* 2007). Ninguna fuente de luz externa o auxiliar fue utilizada. Para evitar la pérdida de información y hacer comparaciones a mayor detalle las imágenes

se exportaron en formato TIFF, en el cual se conserva la máxima resolución (Bergman & Beehner 2008). Además, con el propósito de evitar sesgos de información debidos a la luz ambiental, se corrigió la variación de las condiciones de luz de cada fotografía a través del uso de una escala de grises QPcard (Folkestad *et al.* 2008; Robertson y Robertson 2008).

Los valores promedio de coloración (RGB) se obtuvieron con el programa especializado para fotografía Image-J 1.38X (Abramoff *et al.* 2004). La cuantificación de cantidad de color rojo (R), verde (G) y azul (B) y el brillo total  $(R+G+B/3)$  se determinó a partir de la herramienta de selección *a priori* de un área circular en la superficie ventral del plumaje de las aves, específicamente en zonas con el color homogéneo (Endler 1990). La normalización de los datos fue obtenida al dividir cada componente del color por su brillo, por lo que se obtuvieron los índices para la cantidad de rojo (R/brillo), verde (G/brillo) y azul (B/brillo) (McCormack y Berg 2010).

La información de espectrometría se tomó con el espectrómetro de fibra óptica OceanOptics USB2000 del Moore Laboratory of Zoology, Occidental College, California y sólo se tomaron los datos de los 72 individuos depositados en dicha colección. No se tomaron los datos de los individuos de las otras colecciones debido a que inicialmente la obtención de esta información no estaba contemplada para este estudio, y el uso del espectrofotómetro fue facilitado al momento de tomar los demás datos.

La información se obtuvo de la región ventral de los individuos y se calcularon los valores de cinco variables del espectro de reflectancia visible de las aves (320-700 nm) para describir los atributos del plumaje de las urracas. Se obtuvo el tono, brillo y el croma de reflectancia en el espectro UV, azul y rojo en donde el *tono* es el valor máximo de reflectancia ( $\lambda_{Rmax}$ ), el *brillo* como la reflectancia total en toda la gama de longitud de onda ( $\Sigma R_{320-700}$ ) y, el *croma UV* como la proporción de la reflectancia relativa en el rango de UV con respecto a la reflectancia total ( $R_{320-400}/R_{320-700}$ ), el *croma azul* como la proporción de la reflectancia total en el rango azul de la reflectancia total de todo el espectro ( $R_{400-512}/R_{320-700}$ ) y el *croma rojo* como la proporción de la reflectancia total en el rango rojo con respecto a la reflectancia total de todo el espectro visible ( $R_{605-700}/R_{320-700}$ ) (Barreira *et al.*

2012; Bentz y Siefferman 2013). En cada toma de datos, se recalibraron los valores estándares de luz y oscuridad.

### ***Análisis estadísticos fenotípicos y morfológicos***

Para reevaluar y ampliar la información mostrada por Selander (1959) sobre la variación del tamaño y la coloración entre el morfo oscuro y el morfo claro, se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía a los datos morfológicos con el objetivo de determinar la variación en los caracteres del tamaño con relación a la edad de los individuos, considerando las tres clases de edad (juvenil, sub adulto y adulto) como factores fijos. En los caracteres que no se presentaron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ), las clases de edad se trataron posteriormente en conjunto para cada sexo (Sattler y Braun 2000; Milá *et al.* 2010); en los atributos que si se determinaron diferencias significativas entre las categoría de edad, sólo se utilizaron individuos adultos en esa variable con el objetivo de reducir el efecto de la variabilidad y sesgo en los análisis estadísticos posteriores (Sattler & Braun 2000). Este procedimiento también se realizó en cada uno de los grupos geográficos explicados más adelante, excepto en el grupo de urracas de Yucatán debido a la ausencia de individuos juveniles y sub adultos en la muestra.

Tanto para la evaluación de variación entre los morfos como de los grupos geográficos, se evaluó estadísticamente la presencia o ausencia de dimorfismo sexual con respecto al tamaño. Se compararon las medias de los sexos para cada uno a partir de un análisis paramétrico (T-Student) y no paramétrico (Mann-Whitney U-Test) con base en la prueba de normalidad de los caracteres morfométricos.

Por otra parte, con el propósito de conocer la variación morfológica de la urraca a través de la geografía, se evaluó la homogeneidad de varianzas de los datos morfológicos con el fin de determinar si existen diferencias significativas entre los cinco grupos geográficos determinados ( $H_0$  = las medias de los grupos son iguales) y, posteriormente, con el fin de determinar el grado de diferenciación del tamaño de los grupos, se realizó un análisis multivariado de varianza (MANOVA) de una vía en todos los rasgos morfológicos

definiendo a los grupos como factores fijos y las medidas de los caracteres como variables dependientes. Para cumplir con los supuestos estadísticos de normalidad, las variables morfométricas fueron transformadas a función  $\log_{10}$ . De manera adicional, se utilizó la prueba *post hoc* de Tukey que permite determinar qué medias difieren. La evaluación de homogeneidad de varianzas, la MANOVA y el análisis de normalidad se realizaron sólo con individuos adultos y sub adultos debido a que no se encontraron diferencias significativas asociadas a la edad entre estas dos categorías (ver resultados); los resultados fueron interpretados para cada sexo por separado. Para determinar las diferencias de los grupos para cada variable, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía o la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, posterior a la evaluación de la normalidad de los datos morfológicos.

En cuanto a la coloración del plumaje, para examinar si había diferencias significativas en los valores del color y reflectancia del plumaje ventral entre los cinco grupos de urracas, también se hizo un análisis multivariado (MANOVA) como el realizado anteriormente (con los grupos como factores fijos). También, el análisis comparativo se reporta con la información de los individuos adultos y sub adultos debido a que se encontraron diferencias significativas en los canales de coloración RGB con respecto a los de los juveniles en la población del morfo café de la zona de contacto (Kruskal-Wallis test,  $P < 0.05$ ). Sin embargo, si se consideraron a ambos sexos dado que no hubo diferencias significativas en los valores de cantidad de color RGB entre machos y hembras (t-Student test/Mann-Whitney test; todas  $P > 0.05$ ).

Previo a determinar si el espectro de reflectancia en el vientre de las urracas difiere o no significativamente entre las poblaciones, se evaluó la variación debida a la edad y al sexo. En ambas no se encontraron diferencias significativas (edad: *Kruskal-Wallis* test, todas  $P > 0.05$ ; dimorfismo: *t-Student* test, todas  $P > 0.05$ ). Dado lo anterior, en los grupos se incluyeron tanto juveniles como individuos de ambos sexos ( $n = 72$ ). Para evaluar las posibles diferencias del color se realizó una MANOVA definiendo a los grupos como factores fijos.

Finalmente, con el objetivo de corroborar las diferencias entre los grupos geográficos, en cada agrupación de datos (morfológico, fotográfico y espectroscópico) se realizaron análisis de función discriminante (DFA) que posibilitan probar si las variables en conjunto permiten identificar grupos taxonómicos, y visualizar los datos en un gráfico con el fin de comprobar que las poblaciones son diferenciadas correctamente. Además, se realizó un DFA consenso en el cual se consideran los datos de todas las variables morfológicas-fenotípicas empleadas anteriormente.

### ***Datos genéticos: muestras, extracción, amplificación y secuenciación de ADN***

En marzo de 2012 se realizó trabajo de campo en la región de Catemaco - Los Tuxtlas y Fortín de las Flores - Córdoba, Veracruz. El trabajo consistió en obtener tejidos de *P. morio*. En total se reunieron 12 muestras de tejido (músculo, corazón e hígado) que se encuentran albergados en la colección de tejidos del Museo de Zoología de la Facultad de Ciencias, UNAM. Del total, cuatro pertenecen a la zona de transición morfológica (Cuadro 1). Para explorar los patrones de diversificación de *P. morio*, de cada muestra se tomó un segmento para su procesamiento en el laboratorio y su posterior análisis genético a partir de las secuencias parciales de tres marcadores moleculares. Se amplificó el gen mitocondrial NADH deshidrogenasa de la subunidad 2 (ND2) para 12 individuos, empleando el primer L5215 (5'-TATCGGGCCCATAACCCCGAAAAT-3'; Hackett 1996); para 11 individuos se amplificó la región nuclear 20454F (5'-GTCCTGTGCCTTGTGTATGA-3'; Backström *et al.* 2008) y el intrón nuclear del gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH: 5'-CATCAAGTCCACAACACGG TTGCTGTA-3'; Friesen *et al.* 1997). El uso de marcadores moleculares con diferentes tasas de mutación permite hacer inferencias en diferentes escalas temporales y proporciona una visión más confiable sobre los procesos históricos implicados en la evolución de los taxones (González *et al.* 2011).

Se extrajo ADN de células hepáticas y musculares a través del método de extracción de ADN NaCl y Cloroformo (Arbeláez-Cortés *et al.* 2014; Anexo 3). Posteriormente, todos los marcadores fueron amplificados por medio de la reacción en cadena de la polimerasa

(PCR) en un termociclador *GeneAmp PCR System 9700*, siguiendo el protocolo de Arbeláez-Cortés y colaboradores (2014) para todos los marcadores.

Se corroboró la existencia del producto amplificado a través de electroforesis en gel de agarosa con bromuro de etidio. Una vez corroborado, los productos fueron purificados mediante precipitación en etanol y posteriormente enviados al High-Through put Sequencing Solutions de la Universidad de Washington, E.U.A para la secuenciación de los marcadores. Consultando el código IUPAC para la interpretación de los datos ambiguos se procedió a editar las secuencias manualmente en el programa BioEdit (Hall 1999). Posteriormente, el alineamiento de nucleótidos se realizó en CLUSTAL X considerando las opciones predeterminadas por el programa (Thompson *et al.* 1997).

La alineación del gen ND2 se hizo tomando como referencia las secuencias de dos individuos de urraca café y, como grupo externo, las pertenecientes a dos individuos de urracas copetonas (*Calocitta formosa* y *C. colliei*; GenBank números de acceso DQ912608, DQ912607, HQ123802 y DQ912603). En el caso del loci GAPDH, la referencia para la alineación fue tomada de un individuo de *Corvus corone* (número de acceso DQ406663). Para el loci20454F no se encontró referencia disponible para el alineamiento por lo que se utilizó la secuencia de un individuo de *Calocitta colliei* (Roldán-Piña, com. Pers).

### ***Variación genética y análisis filogenético***

Se determinó el grado de variación genética de la urraca café a partir de estimadores de diversidad genética para cada uno de los marcadores moleculares y una matriz de datos concatenados. Con los programas DNAsp (Librado y Rozas 2009) y PAUP\* versión 4.0b (Swofford 2002), se cuantificaron los sitios polimórficos en las secuencias ( $s$ ), el número total de mutaciones ( $Eta$ ), el cálculo del número de haplotipos ( $h$ ); la diversidad de haplotipos ( $H_d$ ), la diversidad nucleotídica ( $pi$ ) y el número promedio de diferencias nucleotídicas,  $k$  (Tajima 1989). También, para cada marcador se calculó el valor de la  $D$  de Tajima (Kvist *et al.* 1998), que es un estadístico utilizado en la genética de poblaciones que permite evaluar la neutralidad del marcador molecular, así como explorar la estabilidad



poblacional del grupo en estudio. Por su parte, a excepción de la  $D$  de Tajima y por falta de muestras, los análisis anteriores además de realizarse para cada marcador también se implementaron dentro de los grupos geográficos descritos en el siguiente párrafo; este análisis de variación intra-poblacional se hizo sólo con la matriz de datos concatenados y el marcador mitocondrial.

Como ocurrió con los atributos morfológicos y fenotípicos, con las secuencias disponibles y considerando los atributos de coloración de las urracas en la geografía se hicieron comparaciones entre grupos geográficos. Se definieron cuatro grupos: dos poblaciones del grupo CAFÉ NORTE (grupo “Tamaulipas-Hidalgo”,  $n= 3$ ; grupo “Córdoba”,  $n= 3$ ), una población del grupo CAFÉ CONTACTO (grupo “Los Tuxtlas”,  $n=3$ ) y una población de urracas del morfo de vientre claro y puntas de la cola blancas (grupo “Tabasco-Campeche”,  $n=3$ ), mismo que fue el único grupo en el que se consideró al único individuo del morfo blanco de la zona de contacto (BLANCO CONTACTO) junto con las muestras de Campeche (BLANCO YUCATÁN). Sólo para los análisis del marcador ND2 se incluyeron las dos muestras de *P. morio* reportadas en la literatura (Bonaccorso y Peterson 2007; grupo “Tabasco-Campeche”,  $n=5$ ).

Con los cuatro grupos definidos se evaluó la estructura y la diferenciación genética intra e interpoblacional. La estimación de la estructura poblacional se realizó a través de un análisis de varianza molecular (AMOVA) considerando 16,000 permutaciones para determinarla significancia. Este análisis se llevó a cabo en el programa Arlequin versión 3.5.1.2 (Excoffier y Lischer 2010) utilizando el marcador ND2 y la matriz de datos concatenados. La matriz de datos concatenados sólo incluyó a las muestras en las que se obtuvieron las secuencias de los tres marcadores moleculares ( $n=11$ ). Por su parte, para cada marcador molecular y la matriz de datos concatenados se estimó la diferenciación entre las poblaciones a través del cálculo del índice de diferenciación global y distancias pareadas ( $F_{ST}$ ; Excoffier *et al.* 2009) con el programa DNAsp (Librado y Rozas 2009).

Con las secuencias disponibles, se obtuvieron las relaciones filogenéticas mediante los métodos de Máxima Parsimonia (MP), Máxima Verosimilitud (ML) e Inferencia Bayesiana (IB), para los que se utilizaron como grupo externo las secuencias de *Calocitta formosa* y

*C. colliei* señaladas anteriormente. MP se estimó con el programa PAUP\* (Swofford 2002) y se basó en una búsqueda heurística empleando el algoritmo TBR (tree bisection reconnection). El soporte nodal fue estimado haciendo 1,000 réplicas de bootstrap (Felsenstein 1985).

Se obtuvo el modelo de sustitución nucleotídica para cada matriz con jModelTest (Posada 2008) y el Criterio de Información de Akaike (AIC), con un intervalo de confianza del 95% (concatenado: GTR+G; ND2: TrN+G; GAPDH: K80; 20454: F81+G). Se utilizó el modelo de evolución obtenido en los análisis de ML e IB y las filogenias se realizaron con la matriz de datos concatenados y el marcador mitocondrial.

La topología del análisis de ML se realizó con el programa MEGA6 (Tamura *et al.* 2013) implementando el método de búsqueda heurística NNI (Nearest-Neighbor-Interchange) y haciendo 1,000 réplicas de bootstrap (Montaño-Rendón *et al.* 2015). El análisis de IB se hizo con MrBayes 3.1.2 (Huelsenbeck *et al.* 2001), con un muestreo mediante cuatro corridas simultaneas de las cadenas de Markov Montecarlo (MCMC) por 10 millones de generaciones con una frecuencia de muestreo cada 250 generaciones. Se eliminó (burn-in) el 10% de las generaciones muestreadas y las frecuencias restantes fueron usadas para estimar el árbol y las probabilidades posteriores de los nodos. La convergencia en una distribución estacional se determinó graficando los valores de  $-\ln L$  y el tamaño efectivo de la muestra con el programa Tracer v1.6.0 (Rambaut *et al.* 2013).

**Cuadro 1.** Lista de tejidos de *Psilorhinus morio* utilizados en este estudio. Se indica con asterisco (\*) los números de acceso de las muestras tomadas del GenBank y con X la matriz en la que fueron usadas. Se señala el grupo y región geográfica a la que pertenecen.

No. Tejido	GRUPO/REGIÓN	LATITUD	LONGITUD	MATRIZ			
				ND2	2045F	GAPDH	Concatenado
CONACYT_1238	CAFÉ NORTE/Tamaulipas	24.61666667	-99.35	X	X	X	X
CONACYT_1242	CAFÉ NORTE/Tamaulipas	24.61666667	-99.35	X	X	X	X
HGO_SLP_133	CAFÉ NORTE/Hidalgo	21.075	-98.955	X	X	X	X
PEPE_4	CAFÉ NORTE/Córdoba	18.913108	-97.0177	X	X	X	X

No. Tejido	GRUPO/REGIÓN	LATITUD	LONGITUD	MATRIZ			
				ND2	2045F	GAPDH	Concatenado
PEPE 5	CAFÉ NORTE/Córdoba	18.913108	-97.0177	X	X	X	X
PEPE 6	CAFÉ NORTE/Córdoba	18.913108	-97.0177	X	X	X	X
PEPE 14	CAFÉ CONTACTO/Los Tuxtlas	18.356111	-95.01861	X	X	X	X
PEPE 18	CAFÉ CONTACTO/Los Tuxtlas	18.356111	-95.01861	X	X	X	X
PEPE 20	CAFÉ CONTACTO/Los Tuxtlas	18.356111	-95.01861	X	X	X	X
MZFC04 132	BLANCO CONTACTO/Tabasco	17.87083333	-93.88333	X	X	X	X
Y408 162	BLANCO YUCATÁN/Campeche	18.02006667	-90.32003	X			
Y408 104	BLANCO YUCATÁN/Campeche	18.02006667	-90.32003	X	X	X	X
DQ912608*	BLANCO YUCATÁN/Campeche	(Bonaccorso y Peterson 2007)		X			
DQ912607*	BLANCO YUCATÁN/Campeche	(Bonaccorso y Peterson 2007)		X			
HQ123802*	Outgroup- <i>Calocittaformosa</i>	(McCormack <i>et al.</i> 2011)		X			X
DQ912603*	Outgroup - <i>Calocittacollii</i>	(Bonaccorso y Peterson 2007)		X			X

## RESULTADOS

### *Variación morfológica*

Con base en la separación de las urracas en dos grupos (morfo oscuro y morfo claro), se encontró que en promedio hay una diferencia de 6.3% y 6.26% de variabilidad asociada a la edad en el tamaño de los individuos claros y oscuros, respectivamente, siendo los juveniles de menor tamaño. A pesar de que existen diferencias, éstas no son estadísticamente significativas en casi todas las dimensiones anatómicas evaluadas (ANOVA, pico y tarso  $P > 0.05$ ; Cuadro 2). Sólo la longitud de la cuerda alar y de la cola de los individuos juveniles del morfo oscuro fue significativamente menor con respecto a la de los adultos, mientras que en el caso de los individuos del morfo claro únicamente la altura del pico de los juveniles resultó significativamente mayor.

Para el morfo oscuro, las hembras presentan menor tamaño en todas las dimensiones corporales con respecto a los machos. Sin embargo, a excepción de la longitud de la mandíbula (LongMan), las diferencias de las medias grupales no fueron estadísticamente significativas (Cuadro 2; t-Student test, todas las variables  $P > 0.05$ ). En el morfo claro, el análisis de variación entre los sexos exhibe que la cuerda alar y la altura del pico fueron los

atributos de mayor dimensión en los machos (t-Student test,  $P < 0.05$ ). Cabe mencionar que bajo esta clasificación en donde sólo se considera la comparación de los dos morfos, los resultados estadísticos encontrados no permiten asumir la existencia de un dimorfismo sexual general.

Al evaluar la variación morfológica entre los sexos de ambos morfos (Cuadro 3), se determinó que la cuerda alar, la longitud de la cola y el tarso de las hembras del morfo oscuro son significativamente de mayor tamaño con respecto a las hembras del morfo claro (t-Student test, tarso  $P = 0.002$ ; cuerda alar  $P = 0.001$ ; Mann-Whitney U-Test, LongCola  $P = 0.045$ ). En los demás atributos, la variación no es estadísticamente significativa. Por su parte, los machos del morfo oscuro tienen una talla de cola y altura del pico significativamente más grandes que los del morfo claro (Mann-Whitney U-Test,  $P < 0.011$ ).

**Cuadro 2.** Variables morfológicas de acuerdo a las edades de individuos de la forma oscura y forma clara. Se incluyen ambos sexos en las comparaciones y se resaltan las variables con diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ). N= número de individuos; DE= desviación estándar; EE= error estándar; C.V= coeficiente de variación (%).

	FORMA OSCURA									FORMA CLARA								
	MEDIAS (mm)							ANOVA		MEDIAS (mm)							ANOVA	
	Adulto n = 66	Juvenil n = 57	Cuasi Adulto n = 14	Total n = 137	DE	EE	C.V (%)	F	P	Adulto n = 25	Juvenil n = 40	Cuasi adulto n = 7	Total n = 72	DE	EE	C.V (%)	F	P
<b>Tarso</b>	47.28	47.83	47.06	47.49	1.98	0.17	4.16	1.54	0.217	45.38	46.68	46.49	46.21	2.63	0.31	4.27	1.99	0.145
<b>LongPico</b>	28.52	28.26	28.26	28.38	1.93	0.17	6.80	0.30	0.745	27.79	28.66	28.98	28.40	1.82	0.22	6.80	2.16	0.123
<b>AnchoPico</b>	13.54	13.32	13.40	13.43	0.73	0.06	5.43	1.45	0.238	13.06	13.29	13.48	13.23	0.78	0.09	5.51	1.07	0.349
<b>AnchoNostr</b>	5.42	5.36	5.25	5.38	0.46	0.04	8.52	0.90	0.411	5.22	5.48	5.38	5.38	0.53	0.06	8.52	1.90	0.158
<b>AltoPico</b>	16.06	15.70	16.07	15.91	1.00	0.09	6.30	2.30	0.104	15.56	16.08	16.27	15.92	0.90	0.11	6.30	3.33	<b>0.042</b>
<b>AltNostMan</b>	9.58	9.24	9.52	9.44	0.80	0.07	8.50	2.94	0.056	9.31	9.51	9.50	9.44	0.66	0.08	8.49	0.69	0.503
<b>LongMand</b>	24.30	24.15	24.23	24.23	1.63	0.14	6.74	0.12	0.886	23.98	24.76	24.48	24.46	1.51	0.18	6.68	2.12	0.128
<b>CuerdaAlar</b>	20.38	19.82	20.25	20.13	0.81	0.07	4.02	8.04	<b>0.001</b>	19.64	19.65	19.76	19.65	1.00	0.12	4.11	0.04	0.960
<b>LongCola</b>	21.40	20.69	21.29	21.08	1.24	0.11	5.88	5.49	<b>0.005</b>	20.76	20.46	21.10	20.63	1.35	0.16	6.01	0.84	0.435

**Cuadro 3.** Variación morfológica del morfo café y el morfo claro debida al sexo. Se incluyen individuos de todas las edades (A) e individuos adultos (B) para la comparación de las variables que presentaron diferencias significativas por la edad (véase sección de métodos). Se resaltan los valores de significancia en las variables con el estadístico  $P \leq 0.05$ . H= hembras; M= machos; n= número de individuos; DE= desviación estándar; C.V= coeficiente de variación (%).

FORMA OSCURA										FORMA CLARA									
A)	Media (mm)			DE	C.V. (%)	F	P	T-Student	M-W-U	A)	Media (mm)			DE	C.V. (%)	F	P	T-Student	M-W-U
	H	M	Total								H	M	Total						
	n=74	n=63								n= 32	n= 40								
<b>Tarso</b>	47.19	47.83	47.49	1.98	4.16	0.01	0.94	-1.91		<b>Tarso</b>	45.68	46.64	46.21	2.63	5.70	2.29	0.13	-1.56	
<b>LongPico</b>	27.54	29.37	28.38	1.93	6.80	0.42	0.51	-6.23		<b>LongPico</b>	27.88	28.83	28.40	1.82	6.43	1.29	0.26	-2.26	
<b>AnchoPico</b>	13.29	13.60	13.43	0.73	5.43	3.31	0.07	-2.50		<b>AnchoPico</b>	13.08	13.35	13.23	0.78	5.88	0.00	0.98	-1.46	
<b>AnchoNostr</b>	5.32	5.44	5.38	0.46	8.52	0.36	0.55	-1.45		<b>AnchoNostr</b>	5.26	5.47	5.38	0.53	9.84		0.14		512.5
<b>AltoPico</b>	15.51	16.38	15.91	1.00	6.30	0.03	0.87	-5.60		<b>AltNostMan</b>	9.34	9.52	9.44	0.66	6.99	1.06	0.30	-1.15	
<b>AltNostMan</b>	9.13	9.79	9.43	0.80	8.50	0.00	0.97	-5.25		<b>LongMand</b>	24.08	24.76	24.46	1.51	6.16	3.83	0.05	-1.94	
<b>LongMand</b>	23.63	24.94	24.23	1.63	6.74		<b>0.000</b>		1153.5	<b>CuerdaAlar</b>	19.51	19.77	19.65	1.00	5.09	8.02	<b>0.00</b>	-1.08	
<b>B)</b>	<b>H</b>	<b>M</b>								<b>B)</b>	<b>H</b>	<b>M</b>							
	n= 42	n=22									n= 15	n= 16							
<b>CuerdaAlar</b>	20.27	20.58	20.38	0.77	3.79	0.26	0.61	-1.53		<b>LongCola</b>	20.55	20.69	20.63	1.35	6.55		0.96		636.5
<b>LongCola</b>	21.17	21.82	21.40	1.15	5.36	0.12	0.73	-2.2		<b>AltoPico</b>	15.28	15.72	15.51	1.04	6.69	6.17	<b>0.019</b>	-1.16	

### ***Variación geográfica***

En el caso de la variación morfológica por la edad, destaca que en todos los grupos la dimensión del tarso, longitud del pico, mandíbula y la distancia entre los nostrilos no fueron significativamente diferentes entre las tres clases de edad; los atributos con diferencias significativas (ANOVA,  $P < 0.05$ ) se presentaron entre juveniles-adultos y entre juveniles-sub adultos (Fig. 2). Entre adultos y sub adultos no hubo diferencias morfológicas significativas.

Los resultados derivados del análisis de variación debida al sexo, revela la existencia de dimorfismo sexual en cinco variables asociadas al pico (t-Student test; LongPico, AltoPico, AnchoPico, AltNostMan y LongMand  $P < 0.05$ ), cuya dimensión es mayor en los machos del grupo de urracas oscuras “CAFÉ NORTE” y “CAFÉ CONTACTO” con respecto a las hembras. El dimorfismo en dichas variables no está presente en los grupos geográficos de urracas de vientre claro; el contraste de varianzas exhibe que al interior de cada grupo la variación en los caracteres fue homogénea para todos los casos ( $P > 0.05$ ).

Por otra parte, la prueba de homogeneidad de varianzas en los cinco grupos geográficos mostró que la variación de los rasgos morfológicos fue igual en ambos sexos ( $P < 0.05$ ), a excepción de la altura del pico y la longitud del tarso en los machos. El análisis multivariado demostró que hay diferencias significativas en la morfología entre los grupos tanto en machos como en hembras (machos: Wilks' Lamda,  $F=2.75$   $P < 0.05$ ; hembras: Wilks' Lamda,  $F=3.94$   $P < 0.05$ ); de este modo, las diferencias intergrupales fueron significativas para cada variable evaluada (Cuadro 3; ANOVA/Kruskal-Wallis test; todas  $P \leq 0.05$ ).

En la figura 3 se presentan los gráficos del análisis de variación morfológica entre los grupos geográficos. La prueba *post hoc* de Tukey mostró que para ambos sexos los caracteres morfológicos del grupo de la Península de Yucatán se segregan significativamente del resto al presentar menor tamaño en todos los atributos morfológicos.

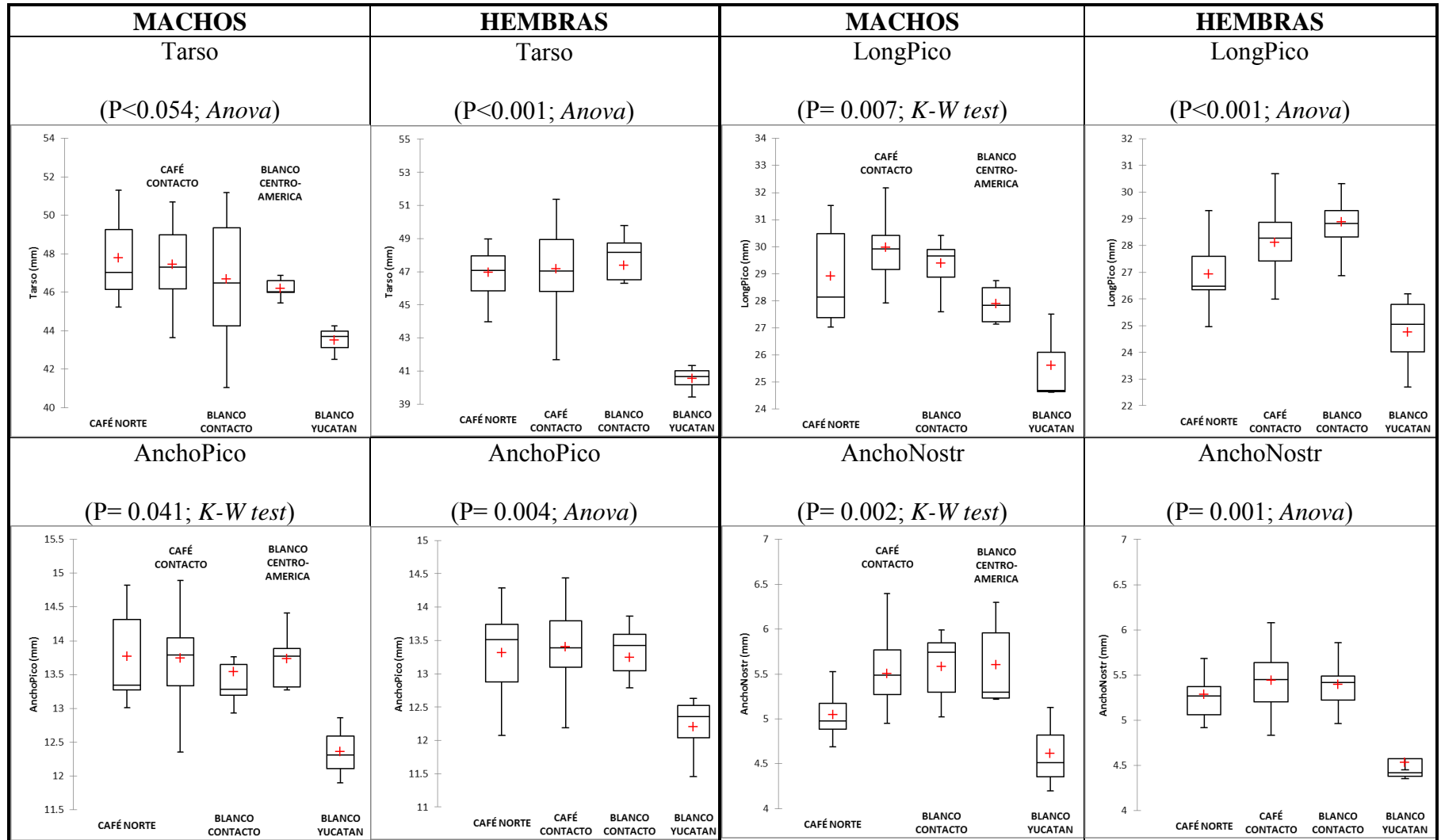
En todas las variables morfológicas, los resultados de la prueba anterior revelaron que no hay diferencias significativas entre las dimensiones de las urracas de los dos morfos presentes en la zona de transición. Esto es interesante si se considera que algunos atributos del pico (LongPico, AltoPico, AltoNostMan y LongMand) del grupo CAFÉ CONTACTO difieren de manera importante con relación a los del grupo CAFÉ NORTE, así como sucede con otras variables asociadas a la longitud total (CuerdaAlar y LongCola) del morfo claro de la zona de contacto con respecto a las de Centroamérica (en el caso de los machos) o todas las variables del pico de las urracas de la Península de Yucatán. En este sentido y en todos los casos, los atributos con diferencias significativas muestran que las urracas de la zona de transición morfológica son de mayor dimensión que las que se encuentran fuera de ella.

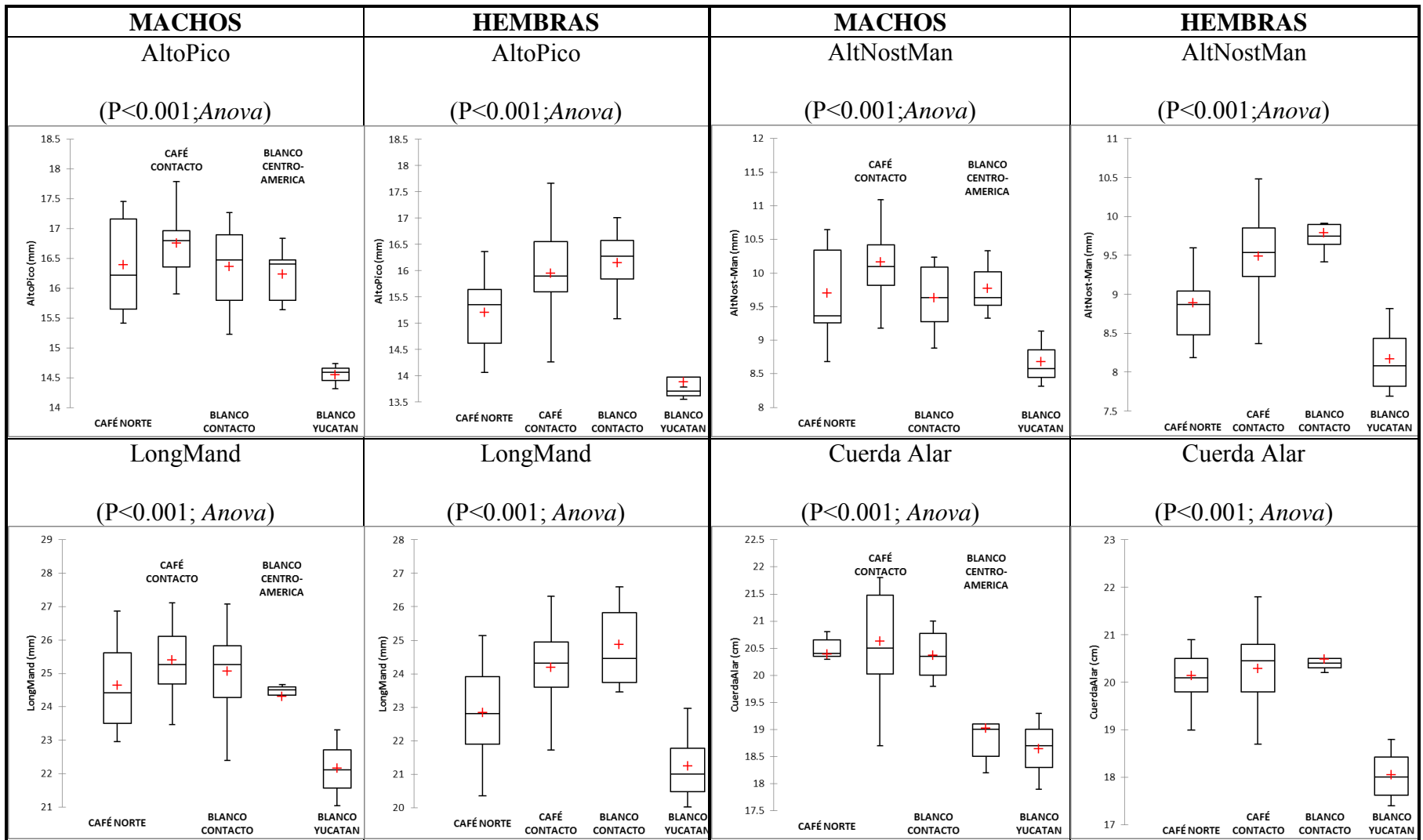
En el análisis de función discriminante (DFA) para las nueve variables morfológicas de los machos y de las hembras, se observa la formación de 3 y 4 grupos, respectivamente (Fig. 4). Cabe recordar que en el gráfico de los machos se presenta el grupo adicional correspondiente a la población de Centroamérica, misma que conformó una agrupación independiente del resto. No se reportó en el gráfico el sexo femenino debido a la falta de muestras.

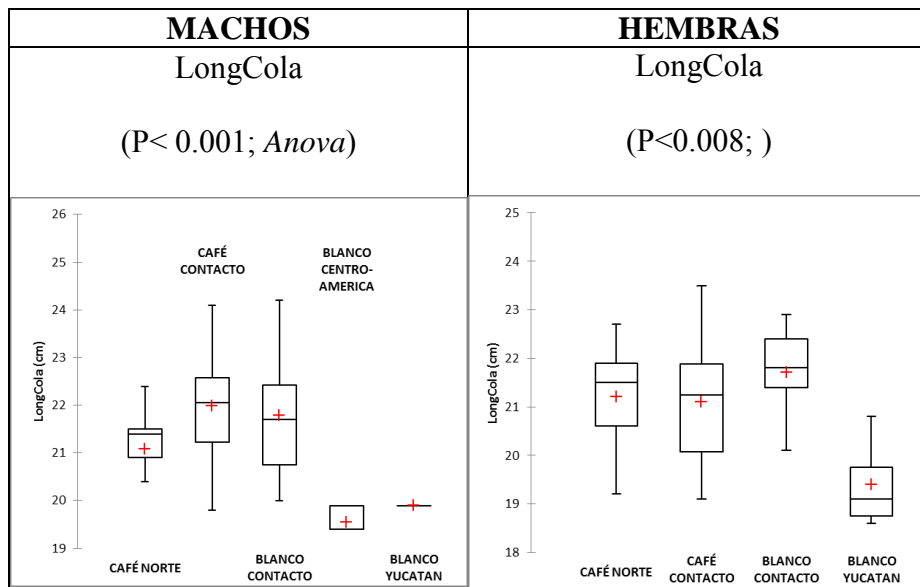
También, en el DFA se muestra la segregación de las urracas de la forma clara de la Península de Yucatán con respecto al grupo del morfo café del norte y del grupo conformado por las dos formas de la zona de contacto (CAFÉ CONTACTO y BLANCO CONTACTO). En el DFA de las hembras, en la función 1 se concentra el 73.63% de la variación, y está asociada principalmente con las variables del pico y las alas, mientras que la función 3 se correlaciona con la longitud de la cola. En el caso de los machos, la variación se reunió en cuatro factores; siendo cinco de seis variables vinculadas al tamaño del pico, la longitud de la cola y la cuerda alar, las asociadas al factor 1 que intervino con el 64.76% de la variación total.



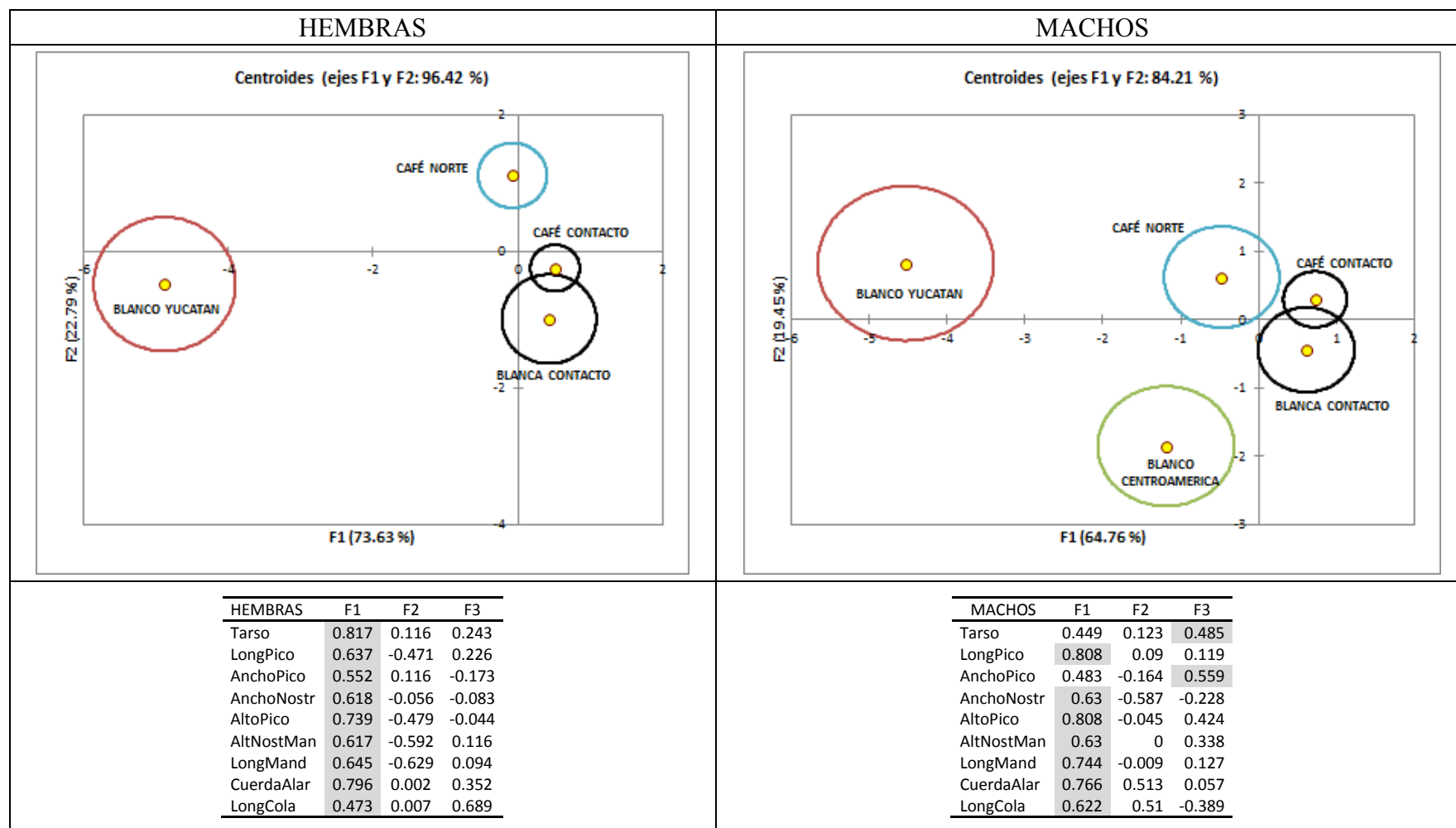
**Figura 3.** Diferencias intergrupales para machos y hembras. Se indican los valores de significancia entre los grupos.



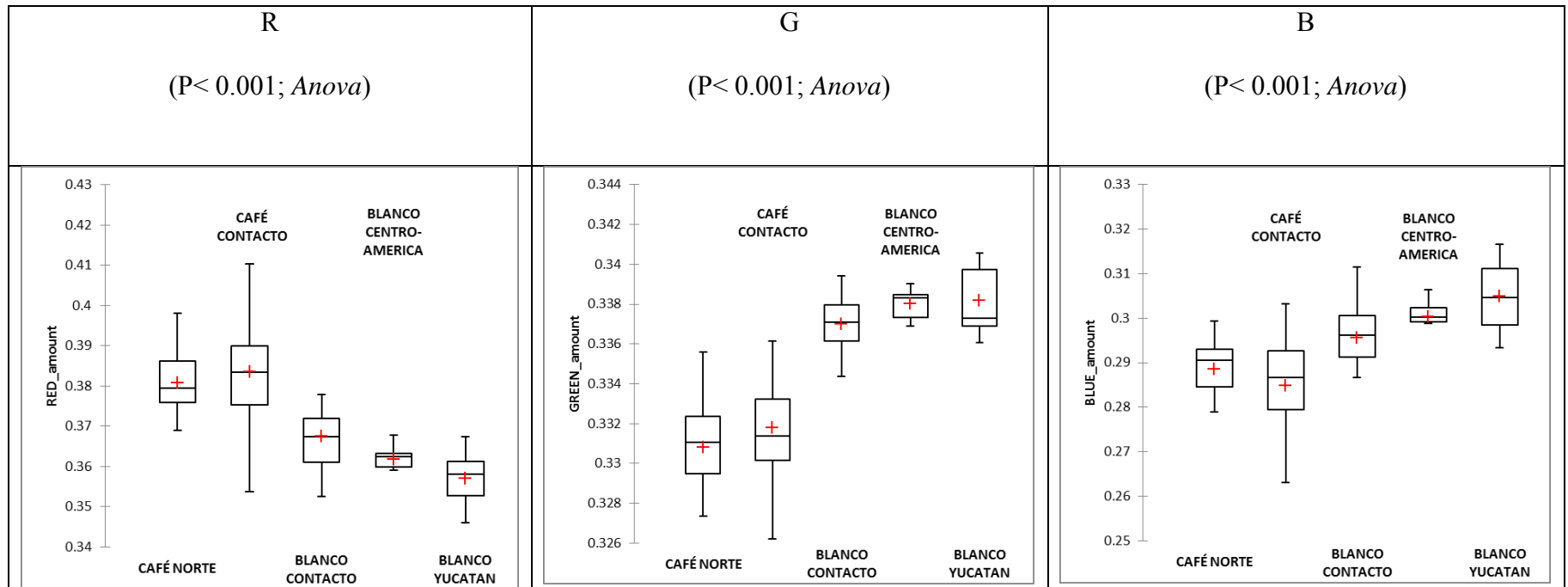




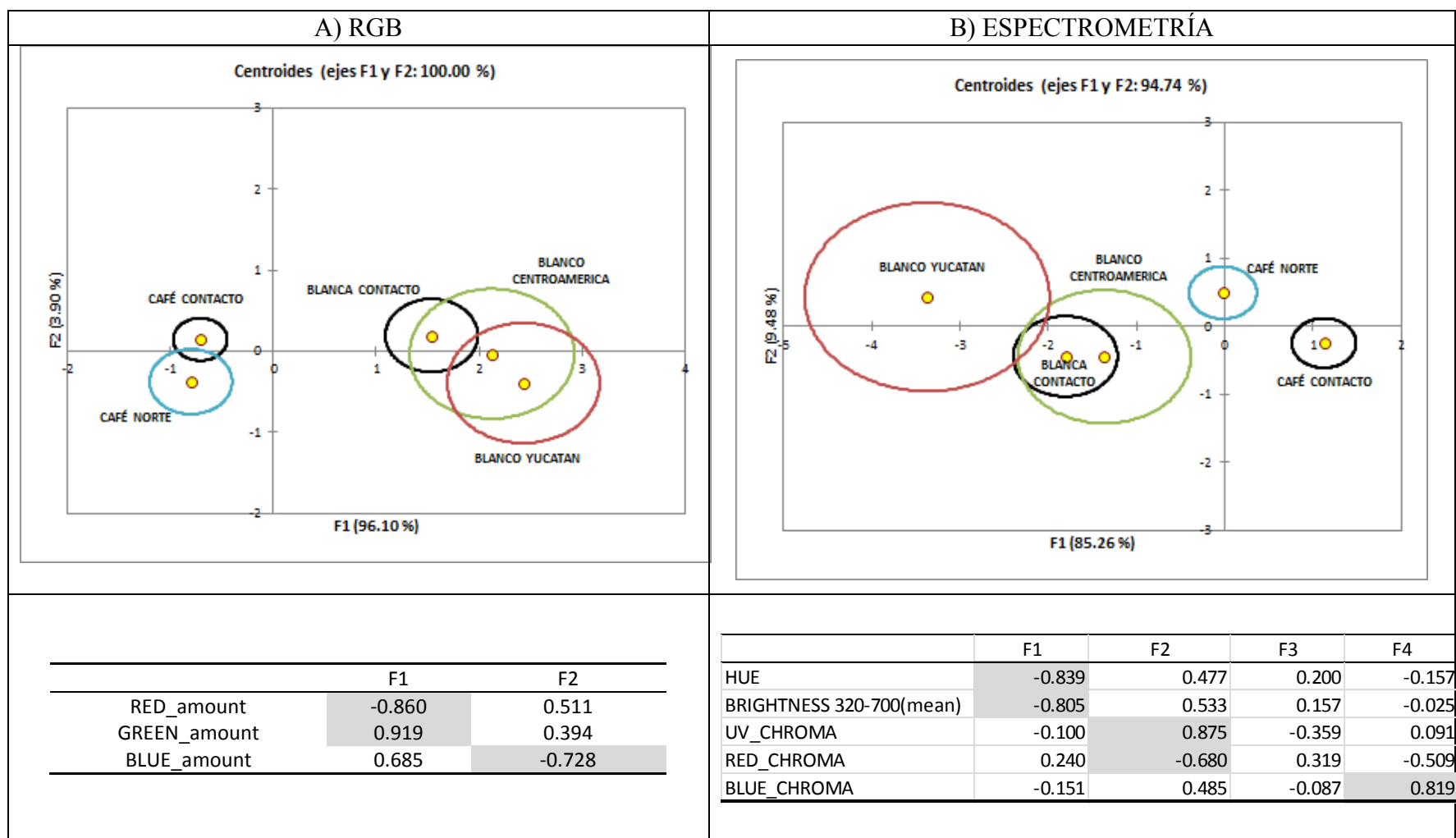
**Figura 4.** Análisis de función discriminante de las nueve variables morfológicas de las urracas para los grupos geográficos con los sexos separados. Se muestra el gráfico con la relación de las dos primeras funciones y los centroides de confianza ( $P \leq 0.05$ ) para cada conjunto de datos grupales así como sus respectivas tablas de contribución de las variables en los factores.



**Figura 5.** Diferencias intergrupales en los canales receptores de color rojo (R), verde (G) y azul (B). En los tres casos, los valores de las poblaciones monomórficas (morfo oscuro o morfo blanco) son similares. Se indican los valores de significancia entre los grupos con el estadístico  $P \leq 0.05$ .



**Figura 6.** Análisis de función discriminante de las 3 variables derivadas del análisis de imágenes digitales RGB (A) y de las cinco variables de espectrometría (B) para los grupos geográficos. Se muestra el gráfico con la relación de las dos primeras funciones y los centroides de confianza ( $P \leq 0.05$ ) para cada conjunto de datos grupales así como sus respectivas tablas de contribución de las variables en los factores.



### ***Variación fenotípica: coloración y espectrometría***

El análisis de las imágenes digitales mostró la existencia de diferencias significativas entre los grupos de urracas en los valores de cantidad de color correspondientes a los canales receptores RGB (Wilks' Lamda,  $F=12.38$   $P<0.001$ ). Al igual que en los caracteres morfológicos, la variación de todas las variables del color fueron iguales en las poblaciones (Prueba de homogeneidad de varianzas, todas  $P>0.05$ ), aunque sí se presentaron diferencias significativas para cada variable del color entre los grupos (ANOVA; todas  $P<0.05$ ).

Las diferencias intergrupales de los valores de coloración muestran, para las comparaciones múltiples, que los valores de coloración R, G y B de la población de la Península de Yucatán no son estadísticamente diferentes con respecto a las poblaciones del morfo claro de Centroamérica y la zona de contacto (Fig. 5). Del mismo modo, en los dos grupos del morfo oscuro no hay diferencias entre ellos.

El DFA elaborado con los datos de coloración RGB, corrobora la existencia de dos agrupaciones disjuntas (Fig. 6a). El factor 1, que es el que separa a los dos grupos, explica el 99.1% de la variación y está correlacionado con la cantidad de R y G, mientras que el factor 2 (3.9%) está asociado a los valores del canal azul (B). Este último, no presentó diferencias entre el grupo de la Península de Yucatán y el morfo café del norte. Esto trasciende en que se mantengan agrupadas todas las poblaciones en un solo eje, es decir, el factor 2.

El análisis multivariado del espectro de reflectancia del plumaje ventral de los cinco grupos de urraca café mostró la existencia de diferencias significativas entre los perfiles espectrales de los grupos (Wilks' Lamda,  $F=4.47$   $P<0.001$ ) (Fig. 7). El tono y el brillo son las únicas variables que muestran desigualdad de varianzas ( $P\leq 0.03$ ) y, además, son las variables que presentan variación significativa entre las medias grupales (ANOVA; tono:  $F=2.86$   $P=0.03$ ; brillo:  $F=3.23$   $P=0.017$ ).

El brillo, definido como la reflectancia total en el espectro visible, y la tonalidad del plumaje de la región ventral de las urracas peninsulares fueron significativamente mayores

con respecto a las urracas del morfo oscuro (CAFÉ NORTE y CAFÉ CONTACTO); el brillo y el tono de las urracas del grupo BLANCO YUCATÁN fueron marginalmente diferentes ( $P \leq 0.06$ ) con respecto a las urracas centroamericanas y el morfo claro de la zona de contacto. En este sentido, destaca que el tono y brillo del plumaje ventral en las aves del grupo CAFÉ NORTE son diferentes de CAFÉ CONTACTO, pero no de BLANCO CONTACTO y BLANCO CENTROAMÉRICA. Por su parte, entre los dos morfos de la zona de contacto también hay diferencias de tonalidad y brillo importantes entre ellas ( $P < 0.001$ ).

En lo referente a las otras variables, sólo en la proporción de la reflectancia relativa en el rango de UV (320–400 nm) y en la longitud de onda del rojo (605–700 nm) se detectaron diferencias significativas entre las urracas oscuras del norte y la CAFÉ CONTACTO. En el resto de los grupos no se presentaron desigualdades tanto en estas variables como en la variable relativa a la longitud de onda azul (400-512nm).

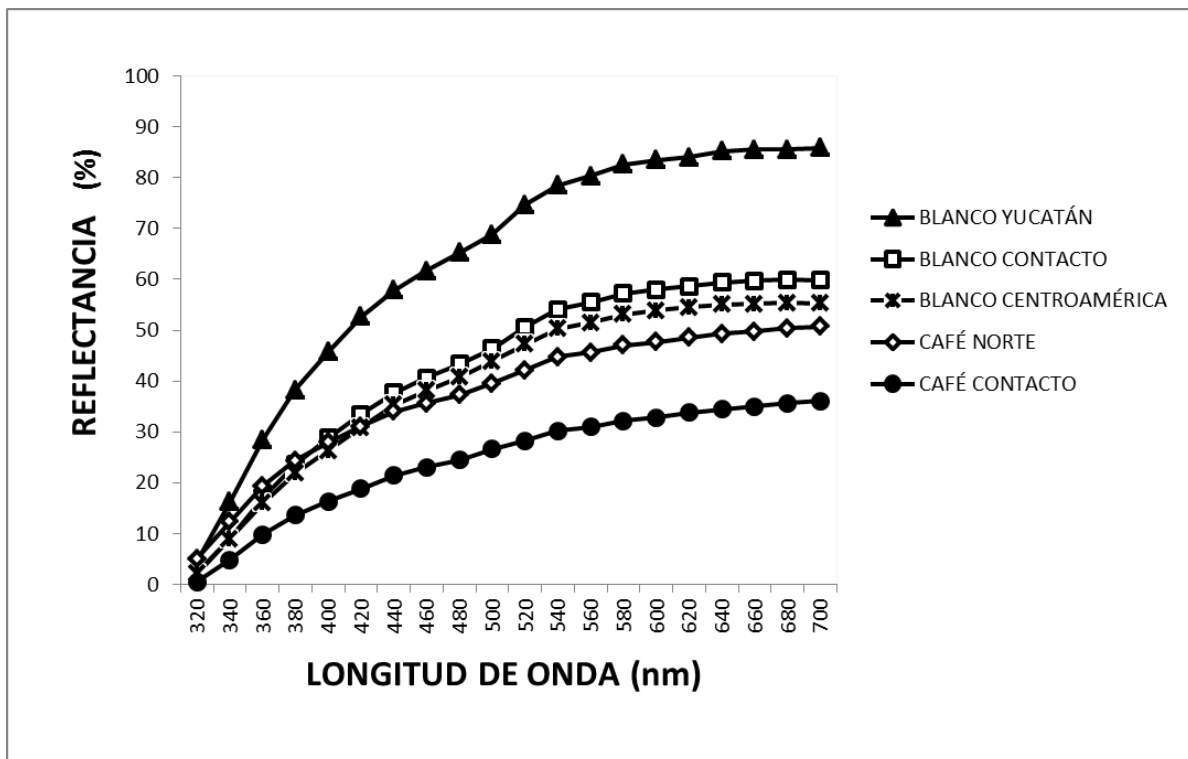
En la relación entre las dos primeras funciones del análisis discriminante (Fig. 6b), se aprecia que la función 1 concentra el 85.26% de la variación y se correlaciona con la tonalidad y el brillo del plumaje, mientras que la función 2, que concentró el 9.48% de la variación, se asocia a la relación del croma UV y el rojo, mismos que, como se mencionó anteriormente no presentaron diferencias significativas entre los grupos, lo que significa que no hay segregación entre los grupos por la baja variación de las mismas. La variación restante se concentró en la función 3 y función 4 (5.26%).

Finalmente, en el DFA consenso (Fig. 8), elaborado con las nueve variables morfológicas, los valores de coloración correspondientes a los tres canales fotorreceptores RGB y las cinco variables derivadas del análisis de espectrometría, reveló que en las funciones 1 y 2 se concentró el 58.75% y 22.44% de la variación, respectivamente. La función 1 se correlacionó con la longitud del tarso, las tres variables de los canales RGB, el tono y el brillo del plumaje, mientras que la F2 está vinculada a la mayoría de las variables morfométricas, dejando las proporciones de la reflectancia relativa en el rango de UV, azul y rojo del color del plumaje en el tercer factor. A pesar de que el número de individuos para la comparación de las variables es baja ( $n = 72$ ), el arreglo y la información de los factores

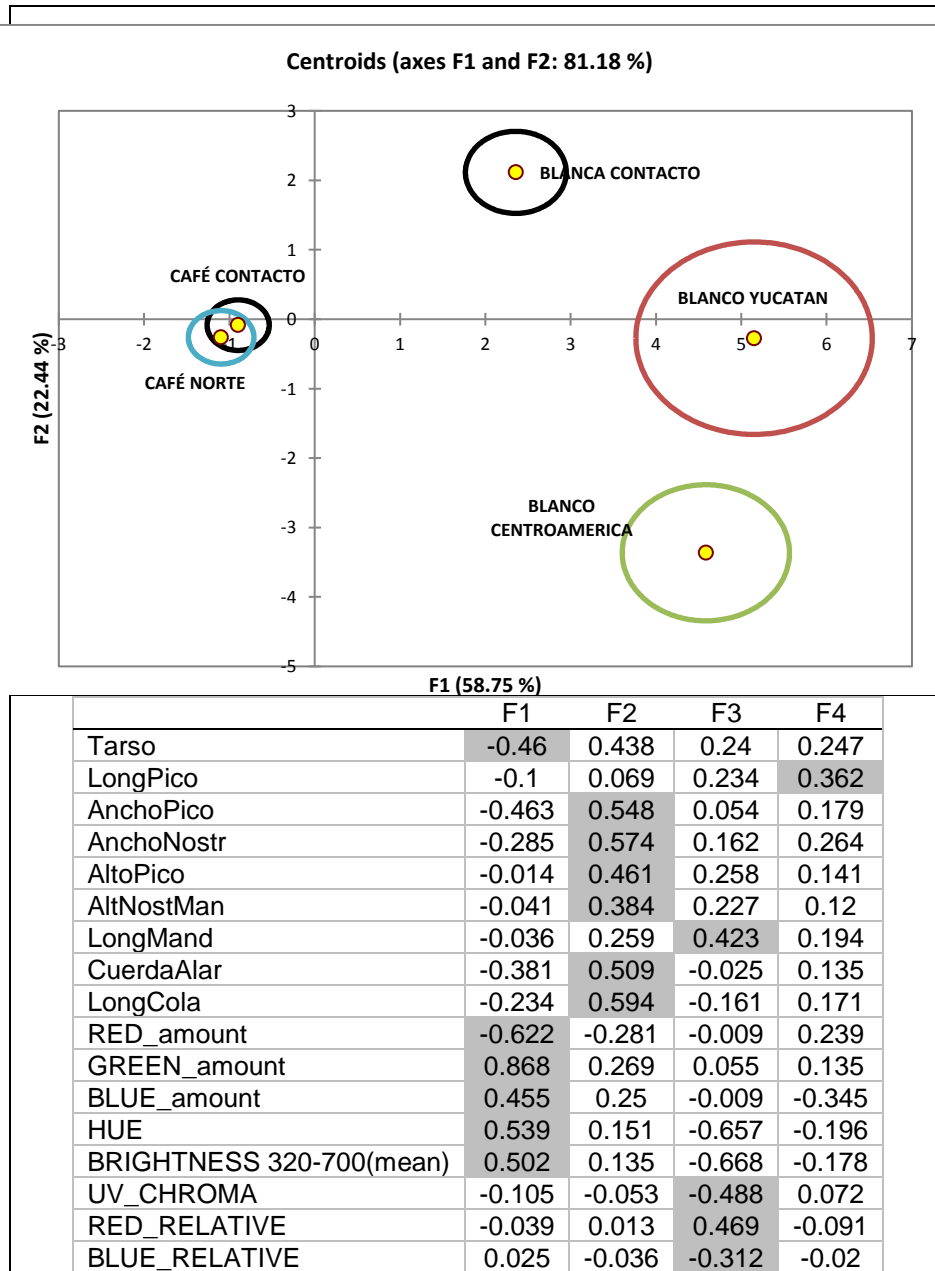


posibilita identificar la segregación del grupo BLANCO CENTROAMÉRICA y BLANCO CONTACTO con respecto a BLANCO YUCATÁN. Por su parte, los grupos BLANCO CENTROAMÉRICA y BLANCO CONTACTO se separan por las variables morfológicas del pico, sin embargo, se traslapan los intervalos de confianza de las variables de coloración RGB, el tono y el brillo del plumaje de la F1. Así mismo, destaca la contribución del conjunto de variables en la variación del grupo BLANCO CONTACTO dejándolas como una agrupación separada del resto por la correlación de las variables en la F1 y F2. Por último, sobresale la convergencia de los dos grupos del morfo oscuro, mismos que se segregan de todos los grupos del morfo claro por la diferencia de valores en las variables asociadas a la F1.

**Figura 7.** Espectro de reflectancia del plumaje ventral en los cinco grupos de la urracas café *Psilorhinus morio*.



**Figura 8.** Gráfico del análisis de función discriminante “consenso”, para nueve variables morfológicas, tres variables derivadas del análisis de imágenes digitales RGB y cinco variables de espectrometría para los grupos geográficos. Se muestra el gráfico con la relación de las dos primeras funciones y los centroides de confianza ( $P \leq 0.05$ ) para cada conjunto de datos grupales así como su respectiva tabla de contribución de las variables en los factores.



### ***Variación genética***

Los resultados de variación genética mostraron que todas las secuencias de ADN fueron polimórficas (Cuadro 4). Se obtuvieron 12 haplotipos (39 sitios polimórficos) en el gen ND2 con 776 pares de bases (bp) en las secuencias, 11 haplotipos (91 sitios variables) en el loci nuclear 20454 con 322bp de secuencia, 3haplotipos (19 sitios variables) en el loci nuclear GAPDH con 366bp de secuencia y, en la matriz concatenada se identificaron 10haplotipos con 67 sitios variables de un total de 1608 bp en las secuencias (Cuadro 4). El loci 20454F presentó la mayor variación nucleotídica (8.79%) con respecto a los otros marcadores y el concatenado (ND2= 5.02%; GAPDH= 0.82%; Concatenado= 4.16%). Se observan valores más altos de sitios polimórficos, mutaciones y diversidad nucleotídica en la estructura genética del conjunto de urracas del morfo claro y la población CAFÉ CONTACTO con respecto a las dos poblaciones de urracas del grupo CAFÉ NORTE (Cuadro 4), lo que indica una alta variación genética de dichas poblaciones.

**Cuadro 4.** Variación entre los marcadores moleculares y el concatenado (ND2 + *loci* 20454 + GAPDH): número de secuencias, número de sitios, número de sitios polimórficos (*S*), número total de mutaciones (*Eta*), número de haplotipos (*h*), diversidad de haplotipos (*Hd*), diversidad nucleotídica (*pi*), número promedio de diferencias nucleotídicas (*k*), *D* de Tajima (*D*), valor de significancia estadística para *D* de Tajima (*P*), índice de fijación (*F<sub>ST</sub>*).

<b>Marcador Molecular</b>	<b>No. Secuencias</b>	<b>No. Sitios</b>	<b><i>S</i></b>	<b><i>Eta</i></b>	<b><i>H</i></b>	<b><i>Hd</i></b>	<b><i>Pi</i></b>	<b><i>K</i></b>	<b><i>D</i></b>	<b><i>P (D)</i></b>
<b>ND2</b>	14	776	39	41	12	0.967	0.01074	7.659	-1.76723	P > 0.1
<b>20454F</b>	11	466	41	42	9	0.964	0.02234	10.255	-1.33801	P > 0.1
<b>GAPDH</b>	11	365	3	3	3	0.564	0.00330	1.2	0.58729	P > 0.1
<b>Concatenados</b>	11	1608	67	70	10	0.982	0.01170	18	-1.17543	P > 0.1

**Cuadro 5.** Variación genética en cuatro grupos de urraca café evaluando el marcador ND2 y los datos concatenados. Se indica el número de secuencias, número de sitios, número de sitios polimórficos (*S*), número total de mutaciones (*Eta*), número de haplotipos (*h*), diversidad de haplotipos (*Hd*), diversidad nucleotídica (*pi*), número promedio de diferencias nucleotídicas (*k*).

ND2								
MORFO – GRUPO	No. Secuencias	No. Sitios	<i>S</i>	<i>Eta</i>	<i>H</i>	<i>Hd</i>	<i>Pi</i>	<i>K</i>
CAFÉ NORTE - Tamaulipas/Hidalgo	3	776	4	4	3	1	0.00358	2.667
CAFÉ NORTE – Córdoba	3	776	0	0	1	0	0	0
CAFÉ CONTACTO - Los Tuxtlas	3	776	21	24	3	1	0.01974	15
BLANCO - Tabasco/Campeche	5	776	26	26	5	1	0.01432	10.6
CONCATENADOS								
MORFO – GRUPO	No. Secuencias	No. Sitios	<i>S</i>	<i>Eta</i>	<i>H</i>	<i>Hd</i>	<i>Pi</i>	<i>K</i>
CAFÉ NORTE - Tamaulipas/Hidalgo	3	1608	9	10	3	1	0.00390	6
CAFÉ NORTE – Córdoba	3	1608	4	4	2	0.66667	0.00173	2.66667
CAFÉ CONTACTO - Los Tuxtlas	3	1608	30	38	3	1	0.01322	20.333
BLANCO - Tabasco/Campeche	2	1608	84	41	2	1	0.05381	84

La evaluación de neutralidad de los marcadores con la prueba de *D* de Tajima arrojó valores negativos no significativos ( $P > 0.1$ ) para los marcadores ND2, GAPDH y la secuencia concatenada. Este resultado sugiere que posiblemente se esté presentando una expansión poblacional en el complejo de *P. morio*. A esta posible expansión, está asociada una elevada diversidad de haplotipos ( $Hd < 0.5$ ) entre las poblaciones (Cuadro 4 y 5).

En el cuadro 6 se presentan los resultados del análisis de varianza molecular (AMOVA), que muestra que entre el 18% y el 39.4% de la variación se debe a diferencias entre las poblaciones, mientras que la mayor parte de la variación genética (60.1% a 82%) se encuentra dentro de las mismas. Esta diferenciación genética entre las poblaciones podría deberse al flujo génico. Los valores de las distancias pareadas  $F_{ST}$  de la AMOVA y los obtenidos en los tres marcadores moleculares y la matriz concatenada para el análisis interpoblacional fueron bajos ( $F_{ST} < 0.6$ ) y no fueron estadísticamente significativos ( $P > 0.05$ ), lo que sugiere que existe baja diferenciación genética entre las poblaciones (Cuadro 6 y 7).

**Cuadro 6.** Resultados del análisis de varianza molecular (AMOVA).

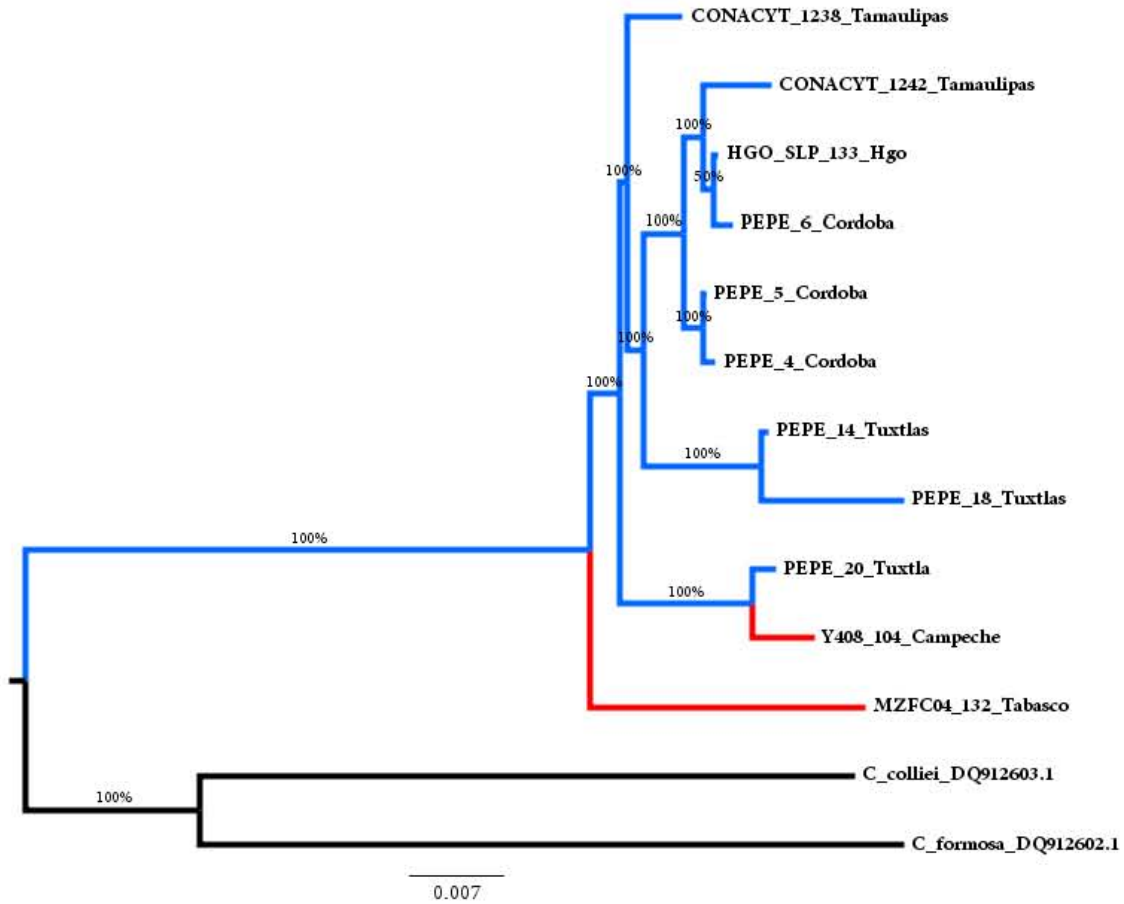
CONCATENADO				
Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de los cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje de variación
Entre las poblaciones	3	77	6.05	39.86
Dentro de las poblaciones	7	64	9.14	60.14
Total	10	141	15	
Índice de fijación (FST)	0.3985			
ND2				
Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de los cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje de variación
Entre las poblaciones	3	17.18	0.72	18.09
Dentro de las poblaciones	10	32.6	3.26	81.91
Total	13	49.78	3.98	
Índice de fijación (FST)	0.18			

**Cuadro 7.** Distancias pareadas  $F_{ST}$  para los tres marcadores moleculares y la matriz concatenada.

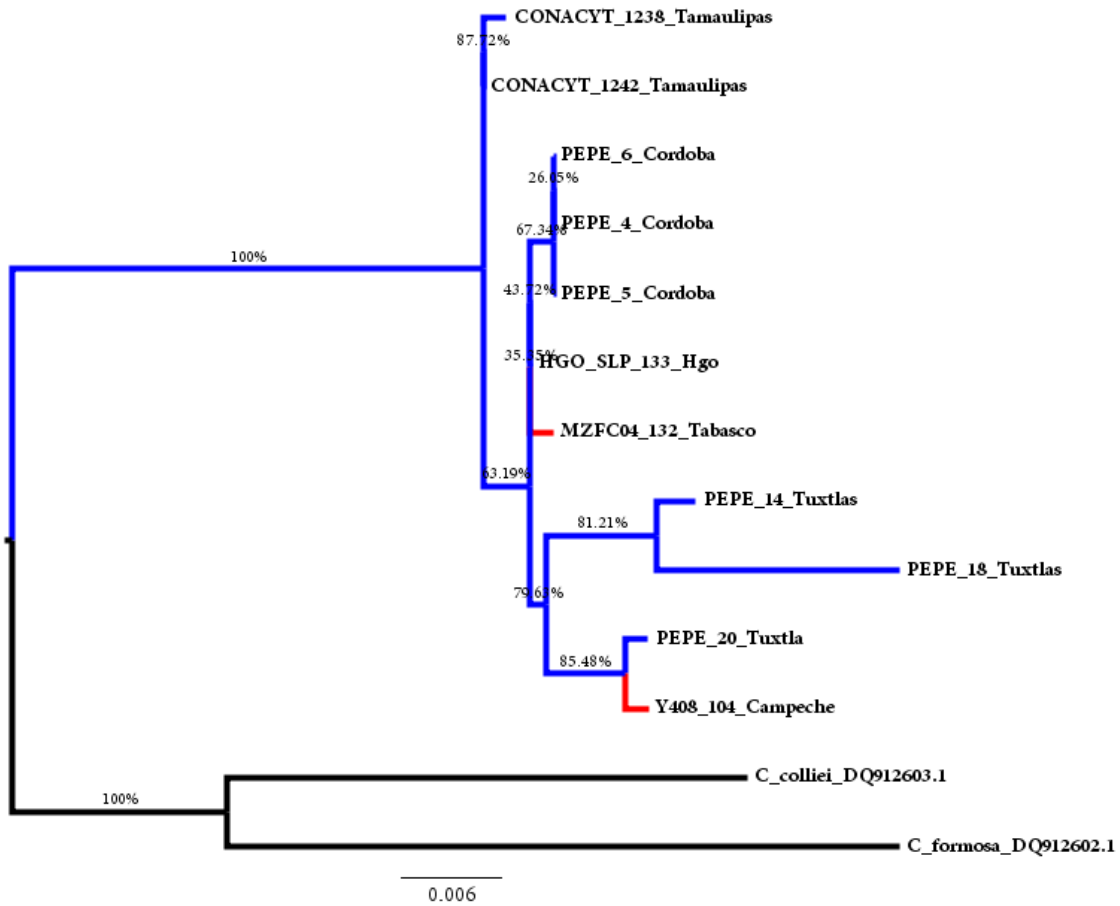
DISTANCIAS PAREADAS FST (concatenados)				DISTANCIAS PAREADAS FST (ND2)			
	Tamaulipas/ Hidalgo	Córdoba	Los Tuxtlas		Tamaulipas/ Hidalgo	Córdoba	Los Tuxtlas
<b>Córdoba</b>	0.29091	0		<b>Córdoba</b>	0.62500	0	
<b>Los Tuxtlas</b>	0.23548	0.31	0	<b>Los Tuxtlas</b>	0.32875	0.38889	0
<b>Tabasco/ Campeche</b>	0.17683	0.17763	0.05319	<b>Tabasco/ Campeche</b>	0.07615	0.18038	0.14578
DISTANCIAS PAREADAS FST ( <i>loci20454</i> )				DISTANCIAS PAREADAS FST (GAPDH)			
	Tamaulipas/ Hidalgo	Córdoba	Los Tuxtlas		Tamaulipas/ Hidalgo	Córdoba	Los Tuxtlas
<b>Córdoba</b>	0.04000	0		<b>Córdoba</b>	0	0	
<b>Los Tuxtlas</b>	0.14283	0.12500	0	<b>Los Tuxtlas</b>	-0.15345	0.40000	0
<b>Tabasco/ Campeche</b>	0.22308	0.17213	0.08130	<b>Tabasco/ Campeche</b>	-0.66667	0	-0.50000

Las reconstrucciones filogenéticas generadas con MP, ML e IB coinciden con lo señalado anteriormente. Las topologías para los datos concatenados (Fig. 9-11) y el gen ND2 (Anexo 4) son similares en la estructura y valores de soporte de algunas ramas. En todos los casos, las topologías de los árboles muestran que hay una falta de resolución en la filogenia de las urracas al formar una politomía. Al interior de la politomía, algunos clados forman agrupaciones que están apoyadas por valores elevados de probabilidad posterior ( $p > 0.9$ ) o los valores de apoyo (bootstrap) de las ramas son mayores a 50, como ocurre en las relaciones interpoblacionales de las muestras de la forma oscura (CAFÉ NORTE-Tamaulipas/Hidalgo y CAFÉ NORTE- Córdoba), mismas en las que se estableció la menor cantidad de sitios polimórficos, mutaciones y diversidad nucleotídica en la estructura genética con respecto a las muestras de la forma de vientre claro y punta de la cola blanca (Grupo Tabasco-Campeche; Cuadro 5). En contraste, las urracas del morfo de vientre claro y punta de la cola blanca no se agrupan entre ellas.

**Figura 9.** Reconstrucción filogenética obtenida mediante Inferencia Bayesiana para la matriz de datos concatenados. Las ramas en color negro representan al grupo externo, en azul a las urracas del morfo oscuro y en rojo a las urracas del morfo claro. Se señalan los valores de soporte de los nodos (probabilidad posterior).

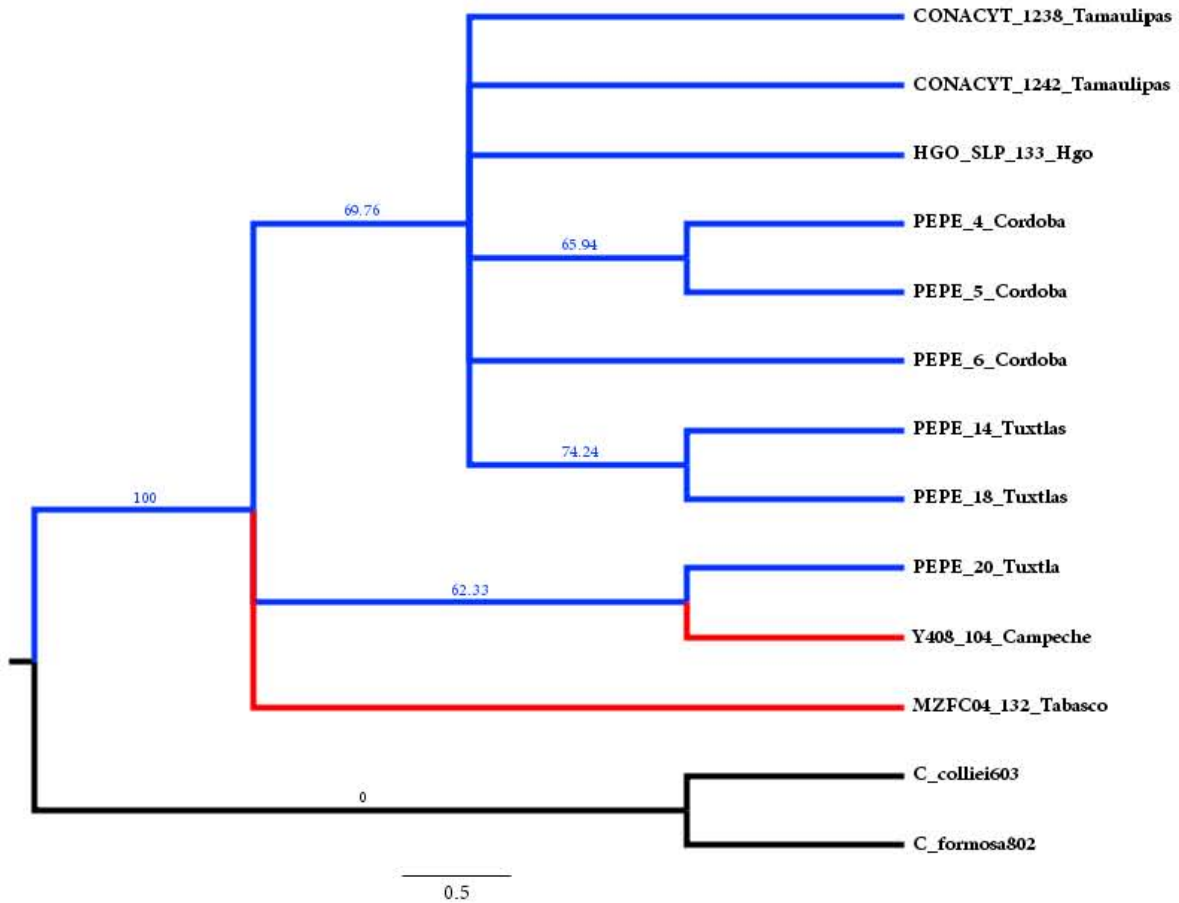


**Figura 10.** Reconstrucción filogenética elaborada mediante Máxima Verosimilitud para la matriz de datos concatenados. Las ramas en color negro representan al grupo externo, en azul a las urracas del morfo oscuro y en rojo a las urracas del morfo claro. Se señalan los valores de soporte de los nodos (valores de bootstrap).





**Figura 11.** Reconstrucción filogenética elaborada mediante Máxima Parsimonia (consenso de mayoría) para la matriz de datos concatenados. Las ramas en color negro representan al grupo externo, en azul a las urracas del morfo oscuro y en rojo a las urracas del morfo claro. Se señalan los valores de soporte de los nodos (valores de bootstrap).



## DISCUSIÓN

Los resultados reportados en esta investigación muestran evidencia de divergencia fenotípica (coloración y de tamaño corporal) de la urraca café *Psilorinus morio* a lo largo de su distribución y en la zona de transición morfológica, así como una baja diferenciación genética entre los morfos.

Este contraste en la variación entre los atributos morfológicos y de coloración con respecto a la variación genética puede ser explicado por un mecanismo de aislamiento de las poblaciones previo a un nuevo contacto de las mismas, donde la rápida diferenciación morfológica y la fijación del color pudieron ser mediados por deriva génica o selección sexual, y donde el tiempo transcurrido desde el aislamiento geográfico no ha sido suficiente para aislar genéticamente a las poblaciones (*e.g.*, Questiau *et al.* 1998; Grapputo *et al.* 1998; McKay 2009; Padial *et al.* 2009). En este sentido, el patrón actual de distribución geográfica de las urracas, la divergencia fenotípica, la baja diferenciación genética y la inexistencia de barreras que separen a las poblaciones permite sugerir que éste es un caso de reciente e incompleta divergencia del linaje (Avice *et al.* 1987).

Considerando que actualmente la zona de transición morfológica donde coexisten el morfo oscuro y el morfo claro abarca gran parte de la región del Istmo de Tehuantepec, y que las poblaciones monomórficas se encuentran en los extremos de ésta (Fig. 1), es posible sugerir patrones asociados a los cambios ocurridos en el Istmo, como lo muestran estudios con otras especies (González *et al.* 2011; Barrera-Guzmán *et al.* 2012; Cortés-Rodríguez *et al.* 2013; Ornelas *et al.* 2013; Jiménez y Ornelas 2016), en los cuales, el Istmo ha actuado como una barrera, resultando en una divergencia de linajes por medio de un evento vicariante.

Barber y Kickla (2010) sugieren que en el Istmo de Tehuantepec han ocurrido dos eventos de diversificación de la avifauna entre el Pleistoceno y el Plioceno Tardío, en donde las fluctuaciones del hábitat inducidas por el cambio climático y, posiblemente, un desplazamiento marino tierra adentro, pudieron haber fracturado la distribución de algunas especies en el Istmo. Ornelas y colaboradores (2013), quienes además de mostrar que en el Mioceno también se presentó un evento de diversificación en la región, sugieren que la

fractura vicariante y la incursión marina en el Istmo pudo ser incompleta, por lo que en algunos linajes, como algunas plantas y aves, se habría logrado suficiente flujo génico a través de la barrera. El movimiento de individuos a través de la barrera resulta en un efecto fundador y la formación de poblaciones geográficamente aisladas (Guevara-Chumacero *et al.* 2010; Barber y Klicka 2010; Cortés-Rodríguez *et al.* 2013). En este contexto, el Istmo ha actuado como barrera y corredor por mecanismos distintos en diferentes momentos que, a su vez, han permitido algunos eventos de diversificación de especies de aves que actualmente están aisladas por el valle intermedio del Istmo (Ornelas *et al.* 2013), o que coexisten como es el caso actual de los morfos de *Psilorhinus morio* después de un posible aislamiento de las poblaciones.

Aunque sería necesario tener evidencia fósil u otros datos de datación temporal para inferir el tiempo de divergencia de las monoformas de la urraca café, es posible que la dinámica ambiental en el Istmo de Tehuantepec haya influido en el aislamiento del ancestro común más reciente de los dos morfos, suficiente para permitir el proceso de divergencia del patrón de coloración, pero no así para la diferenciación genética. Por lo tanto, los resultados aquí encontrados sugieren que el complejo aún refleja la variación genética de su ancestro, aunque con una estructuración posiblemente diferente (Hewitt 2001; McLean *et al.* 2012).

El patrón de estructura genética obtenida con los marcadores moleculares respalda la hipótesis de que las diferencias del color del plumaje de las urracas tienen un origen relativamente reciente (Hewitt 2001; Milá *et al.* 2010). Asimismo, la amplia distribución de polimorfismos ancestrales de ADN nuclear que tienen una tasa de mutación más lenta con respecto al genoma mitocondrial y que son compartidos entre grupos divergentes, puede ser un indicador de la separación incompleta del linaje, lo que a su vez se deriva de radiaciones recientes (McLean *et al.* 2012). Lo anterior es compatible con los resultados de esta investigación, que sugieren que las poblaciones son polimórficas y que presentan la mayor parte de la variación genética dentro de las mismas, con presencia de diferentes haplotipos que no generan una estructura resuelta en las reconstrucciones filogenéticas.

La condición de superposición geográfica o contacto secundario entre organismos cercanamente relacionados puede por una parte proveer resultados que sugieren altos

niveles de aislamiento reproductivo y marcada diferenciación genética incluso en especies crípticas (Navarro-Sigüenza *et al.* 2008; McCormack *et al.* 2008; Irwin *et al.* 2009; González *et al.* 2011), o todo lo contrario, es decir, que exista flujo génico entre los involucrados y, que además, haya similitud genética entre distintas poblaciones o subespecies contrastando con las diferencias fenotípicas notables (Milá *et al.* 2009; Campagna *et al.* 2012; McLean *et al.* 2012). Al respecto, el análisis de varianza molecular arrojó niveles bajos de diferenciación genética entre las poblaciones, lo que sugiere que posiblemente haya flujo génico. Sin embargo, la similitud genética observada entre las poblaciones también puede ser el reflejo de un polimorfismo ancestral conservado, donde la falta de diferenciación genética no se debe a flujo génico alto sino a que las poblaciones han divergido recientemente y aún comparten variación ancestral (Bulgin *et al.* 2003).

Los individuos no deberían elegir a un compañero fenotípicamente divergente si este atributo es el producto de la selección sexual (Dor *et al.* 2012). De manera preliminar, la evidencia matrilineal obtenida con el AND mitocondrial sugiere que el flujo génico ocurre mayoritariamente entre individuos con el mismo color del plumaje, donde la fijación del color podría estar mediada por la selección sexual. Profundizar en el tema así como realizar trabajo de campo que involucre la obtención de datos conductuales será importante para saber si la selección de pareja durante la etapa reproductiva es o no indistinta entre los morfos de la zona de transición.

Los resultados fenotípicos de la hibridación son más evidentes cuando las especies parentales exhiben un plumaje distintivo y divergente, mientras que los híbridos presentan partes de la coloración parental o ancestral (Irwin *et al.* 2009; Brelsford *et al.* 2011). En la zona de transición morfológica no hay evidencia de la existencia de individuos con un patrón del plumaje intermedio o mixto de los morfos, es decir, que haya individuos con cuerpo completamente café con las puntas de las plumas de la cola blancas o plumaje ventral claro con plumas de la cola completamente cafés (Fig. 2).

Se sugiere que en la actualidad las poblaciones de la urraca están interconectadas en la zona de transición morfológica debido, por una parte, a la ausencia de barreras geográficas en un área fisiográfica y ecológicamente homogénea y, por otra, por una posible expansión

demográfica reciente. Los valores negativos obtenidos con la prueba de neutralidad  $D$  de Tajima de los marcadores moleculares explican un evento de expansión demográfica (Tajima 1989). La elevada diversidad de haplotipos y la baja diversidad de nucleótidos observada en las poblaciones, también son otras líneas de evidencia que sugiere una posible expansión reciente de las poblaciones (Avise *et al.* 1987; McKay 2009). No obstante, para confirmar este planteamiento de posible expansión poblacional reciente, sería importante aumentar la muestra para elaborar análisis de neutralidad o modelos de expansión en todas las poblaciones a mayor detalle.

Algunas subespecies con amplia distribución geográfica o especies politípicas que coexisten con contacto geográfico han sido utilizadas como modelo para el estudio de procesos evolutivos y reproductivos debido a que, a menudo, son objeto de presiones de selección diferenciales, lo que resulta en distintos niveles de variación en las diferentes áreas geográficas y distintas condiciones ecológicas (Jones y Collins 1992; Ouma *et al.* 2011). En el presente estudio las variables morfológicas y de coloración evaluadas exhibieron en conjunto esquemas fiables de segregación entre los grupos geográficos. Selander (1959) señaló que no hay diferencias de tamaño en cada morfo con respecto a la edad y el sexo, pero precisó que ambas formas de Tabasco y Chiapas (zona de transición morfológica) son de menor tamaño que los localizados al norte de la zona de transición morfológica, es decir, Veracruz y Tamaulipas. Al respecto, bajo la clasificación de la forma clara y la forma oscura, los resultados encontrados aquí coinciden con los reportados por Selander al asumir la ausencia de dimorfismo sexual y de diferencias significativas en el tamaño debidas a la edad.

En materia de variación de los grupos geográficos se muestran algunas discrepancias con respecto al planteamiento de Selander ya que, por ejemplo, los resultados de este estudio sugieren que las poblaciones de ambos morfos de la zona de transición morfológica son de mayor tamaño en comparación a las poblaciones que se encuentran fuera de ella (CAFÉ NORTE, BLANCO YUCATÁN y BLANCO CENTROAMÉRICA).

Asimismo, Selander (1959) reconoció que las urracas de la Península de Yucatán son de menor dimensión con relación al resto de las aves. Las urracas peninsulares muestran un

tamaño corporal significativamente menor en todas las variables morfológicas evaluadas y en los análisis de función discriminante. La reducción del tamaño corporal y la elevada reflectancia del color del plumaje deben ser un reflejo de las probables presiones selectivas diferentes en dichos atributos con respecto a las del Golfo de México y Centroamérica.

En este contexto, la posibilidad de que sean las barreras ecológicas posteriores al evento vicariante en el Istmo de Tehuantepec las causantes de la divergencia fenotípica, y no las barreras geográficas (Wang *et al.* 2013) es, sin duda, otro factor potencial involucrado en la evolución del linaje peninsular. La provincia biogeográfica Península de Yucatán (Morrone 2005), tiene un relieve bajo, una acentuada influencia climática marina (cálida) y baja diversidad beta en comparación con otras regiones de México (Vázquez-Domínguez y Arita 2010). Esta caracterización ambiental y el reducido tamaño de las urracas peninsulares es consistente con la regla de Bergmann que postula un aumento del tamaño de animales homeotermos en climas fríos (Olson *et al.* 2009), mientras que en la zona de transición podría ser la riqueza de especies otro factor que explique el patrón del tamaño corporal. Olson y colaboradores (2009) sugieren que además de la temperatura, hay fuertes correlaciones con la disponibilidad de los recursos y una fuerte tendencia de reducción del tamaño corporal de las aves con el aumento de la riqueza de especies.

En la Península de Yucatán y la zona de transición morfológica el número de especies es menor si se compara con otras regiones donde se distribuye la urraca (*eg.*, Chiapas, centro y norte de Veracruz). La divergencia de tamaños, mayor en la zona de transición y menor en la Península de Yucatán, podría reflejar una diferenciación funcional en sus atributos con respecto a las otras poblaciones, donde las interacciones entre las demandas fisiológicas, el ambiente, la disponibilidad de los recursos y la riqueza de especies, han influido en los patrones de tamaño de *P. morio*.

Respecto a las variables morfométricas y de coloración, los resultados muestran que los individuos del morfo oscuro del norte (CAFÉ NORTE) y el morfo oscuro de la zona de transición morfológica (CAFÉ CONTACTO) son muy similares en coloración y tamaño. Lo anterior es consistente de manera parcial con los análisis y estructura genética, apoyando la hipótesis de una historia evolutiva independiente de las urracas oscuras con

respecto de sus homólogas del vientre y punta de cola blanca. Como evidencia de ello, se tiene además el dimorfismo sexual en el pico (mayor dimensión en los machos) presente sólo en las urracas oscuras. La variación intraespecífica en el tamaño del pico es usualmente baja en proporción a la variación entre especies (Grapputo *et al.* 1998). Sin embargo, en este atributo exclusivo de las urracas oscuras, sería interesante evaluar la función eco-fisiológica en el mecanismo y especialización del forrajeo. Asimismo, la reflectancia total en el espectro visible y la tonalidad del plumaje ventral también son divergentes con respecto a las aves de plumaje claro. Es posible que las diferencias encontradas en los caracteres morfológicos del pico y los fenotípicos se deban a adaptaciones a su alimentación y el ambiente, donde las adaptaciones de la forma del pico pueden estar cercanamente relacionada a los tipos de alimentos disponibles y, que seguramente contrastan en otras regiones de la distribución de estas aves (Rice *et al.* 2003; Milá *et al.* 2009; Haring *et al.* 2012; Calderón-Chávez 2013). Aunque falta profundizar en la caracterización de los genes involucrados en la expresión de estos rasgos, las diferencias encontradas podrían reflejar procesos de diferenciación genética y, posiblemente, de especiación.

Algo similar sucede con las urracas de vientre blanco de la zona de transición (BLANCO CONTACTO) y de Centroamérica (BLANCO CENTROAMÉRICA). La contribución de las variables vinculadas a la alimentación y al vuelo muestran que estas aves pueden reconocerse como poblaciones con una trayectoria evolutiva diferente de las demás al encontrarse desagrupadas. La aparición de una especialización de forrajeo durante la separación de las poblaciones puede incidir en el establecimiento de barreras al flujo genético después del contacto (Grapputo *et al.* 1998), lo que podría estar sucediendo en estas urracas de vientre blanco, pero que requiere analizarse con detalle respecto a la alimentación y especialización ecológica.

Las mismas variables morfométricas evaluadas por separado vinculan más a ambas formas de la zona de contacto que a las urracas claras de esta zona con las de Centroamérica (Fig. 3). Esto no contradice lo anterior, sino que respalda la hipótesis referente a la existencia de un evento de segregación y un nuevo contacto de poblaciones incompletamente separadas, donde las similitudes del tamaño de las urracas oscuras y claras evidencian el aspecto del

ancestro o las posibles correlaciones con la disponibilidad de los recursos y una tendencia de aumento del tamaño corporal de las aves con la reducción de la riqueza de especies (Olson *et al.* 2009). Aunque no se descarta el flujo de genes de urracas claras con las urracas oscuras, o algún tipo de conexión entre las urracas claras de México y Centroamérica, el tamaño, la pigmentación y el patrón del plumaje aparentemente son conservados y podrían estar involucradas en la diferenciación y la divergencia del linaje. Sin embargo, es importante no dejar de lado que en el caso del plumaje, los cambios de coloración en las aves pueden ser relativamente rápidos (Milá *et al.* 2009; Padial *et al.* 2010). Por ello, es necesario incluir un mayor número de muestras y otras variables para obtener análisis genéticos más robustos y algunas de estas hipótesis puedan ser validadas. Sin duda, falta conocimiento sobre la historia natural del grupo a través de su distribución ya que en función de ello, podrán confirmarse los argumentos planteados.

### ***Implicaciones taxonómicas***

Los trabajos previos realizados por Selander (1959, 1960) son el principal antecedente para el reconocimiento de la complejidad taxonómica y sistemática del grupo y desde su publicación dichos tópicos no habían sido reevaluados. En sus estudios Selander determinó que a pesar de las diferencias en el complejo, se trataba de una sola especie (*P. morio*) con diferentes fases de coloración. Desde su planteamiento y, de acuerdo con la presencia o ausencia del polimorfismo, el tamaño y los atributos geográficos, propuso la división de la especie en 4 subespecies:

1. *P. m. palliatus*: presente en el noreste de México, desde Tamaulipas y Nuevo León hasta el Centro de Veracruz y Sierra Madre Oriental hasta Córdoba. Los individuos son de tamaño grande y completamente cafés.
2. *P. m. morio*: presente en el sureste de México desde la costa del centro de Veracruz, este a oeste de Tabasco y norte de Chiapas (Palenque). Son polimórficas (ambos morfos) y de tamaño grande.
3. *P. m. cyanogenys*: presente en el extremo este de Tabasco, Centro América hasta Panamá, excepto El Salvador. Son de tamaño mediano y presentan la cola con las puntas blancas.



4. *P. m. vociferus*: presente en el norte de la Península de Yucatán, en Yucatán, Quintana Roo y Campeche. La punta de las plumas de la cola es blanca, pequeña y pálida, parecida a *cyanogenys*.

Actualmente, se reconoce una sola especie (AOU 1998) conformada por las subespecies *palliatus*, *morio* y *vociferus*, ya que *cyanogenys* se considera sinonimia de *morio* (Dos Anjos 2009; ITIS 2014). Sin embargo, los patrones resultantes aquí presentados no son coherentes con la clasificación anterior.

La diferenciación en los atributos morfológicos y fenotípicos sugieren una reestructuración taxonómica en el complejo de la urraca café, en la que cuatro grupos de urracas identificados (1. Morfo claro de la Península de Yucatán = *P. m. vociferus*; 2. Morfo claro de Centroamérica = *P. m. cyanogenys*; 3. Morfo claro de la zona de contacto; 4. Morfo oscuro del Norte + morfo oscuro de la zona contacto), deberían considerarse especies diferentes o candidatos confirmados a especie (De Queiroz 2005; De Queiroz 2007; Padial *et al.* 2010).

La variación encontrada proporciona una visión de los factores que impulsan la diferenciación entre las poblaciones (González *et al.* 2011), y aunque es cierto que estudios de genética más elaborados, ecología, conducta y vocalizaciones son necesarias para evaluar el grado de aislamiento entre los grupos delimitados en nuestro estudio, la evidencia presentada es un preámbulo para abordar detalladamente la evolución de las vías específicas involucradas en el reconocimiento y selección de la pareja que pueden impedir los eventos reproductivos y por lo tanto el flujo de genes, sobre todo en las aves con tamaño y coloración del plumaje significativamente divergentes. Aquí se mantiene la hipótesis de que la falta de monofilia debida a una radiación reciente dentro de las urracas no necesariamente implica que no sean entidades biológicas válidas (Padial *et al.* 2009).

## CONCLUSIONES

- La urraca café *Psilorhinus morio* presenta diferenciación fenotípica (tamaño y coloración) y una baja diferenciación genética a lo largo de su distribución geográfica y en la zona de transición morfológica.
- Se sugiere que la divergencia fenotípica ocurrió por vicarianza en el Istmo de Tehuantepec y que no ha pasado el tiempo suficiente para que ello se refleje en un aislamiento genético. Así, el complejo mantiene cierta variación genética ancestral y potencialmente un proceso de especiación incompleto.
- A pesar de la reducida muestra utilizada, los resultados muestran la necesidad de realizar una reestructuración taxonómica en el complejo.
- El uso de un mayor número de muestras, así como estudios de genética de poblaciones, etología y bioacústica, son necesarios para dar soporte a las hipótesis planteadas.

## LITERATURA CITADA

- Abramoff, M. D., P. J. Magelhaes y S. J. Ram. 2004. Image Processing with ImageJ. *Biophotonics International* 11:36–42.
- Amadon, D. 1944. The genera of Corvidae and their relationships. *The American Museum of Natural History* 1251:1–21.
- AOU. 1998. *Check-list of North American Birds*. American Ornithologist's Union, Washington, EUA.
- Arbeláez-Cortés, E., D. Roldán-Piña y A. G. Navarro-Sigüenza. 2014. Multilocus phylogeography and morphology give insights into the recent evolution of a Mexican endemic songbird: *Vireo hypochryseus*. *Journal of Avian Biology* EV1–EV11.
- Avise, J. C., J. Arnold, R. M. Ball, E. Bermingham, J. E. Neigel, C. A. Reeb, N. C. Saunders, J. C. Avise, T. Lamb, J. E. Neigell y A. Carol. 1987. Intraspecific Phylogeography: The

Mitochondrial DNA Bridge Between Population Genetics and Systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18:489–522.

- Backström, N., S. Fagerberg y H. Ellegren. 2008. Genomics of natural bird populations: a gene-based set of reference markers evenly spread across the avian genome. *Molecular Ecology* 17:964–80.
- Barber, B. R. y J. Klicka. 2010. Two pulses of diversification across the Isthmus of Tehuantepec in a montane Mexican bird fauna. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society* 277:2675–81.
- Barreira, A. S., M. G. Lagorio, D. A. Lijtmaer, S. C. Lougheed y P. L. Tubaro. 2012. Fluorescent and ultraviolet sexual dichromatism in the blue-winged parrotlet. *Journal of Zoology* 288:135–142.
- Barrera-Guzmán, A. O., B. Milá, L. A. Sánchez-González y A. G. Navarro-Sigüenza. 2012. Speciation in an avian complex endemic to the mountains of Middle America (Ergaticus, Aves: Parulidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 62:907–920
- Bentz, A. B. y L. Siefferman. 2013. Age-dependent relationships between coloration and reproduction in a species exhibiting delayed plumage maturation in females. *Journal of Avian Biology* 44:080–088.
- Bergman, T. J. y J. C. Beehner. 2008. A simple method for measuring colour in wild animals: validation and use on chest patch colour in geladas (*Theropithecus gelada*). *Biological Journal of the Linnean Society* 94:231–240.
- Bonaccorso, E. y A. T. Peterson. 2007. A multilocus phylogeny of New World jay genera. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 42:467–76.
- Bonaccorso, E., A. T. Peterson, A. G. Navarro-Sigüenza y R. C. Fleischer. 2010. Molecular systematics and evolution of the *Cyanocorax* jays. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 54:897–909.
- Brelsford, A. y D. E. Irwin. 2009. Incipient speciation despite little assortative mating: the yellow-rumped warbler hybrid zone. *Evolution* 63:3050–3060.
- Brelsford, A., B. Milá y D. E. Irwin. 2011. Hybrid origin of Audubon's warbler. *Molecular Ecology* 20:2380–2389.
- Brumfield, R. T., R. W. Jernigan, D. B. McDonald y M. J. Braun. 2001. Evolutionary implications of divergent clines in an avian (Manacus: Aves) hybrid zone. *Evolution* 55:2070–2087.
- Bulgin, N. L., H. L. Gibbs, P. Vickery y A. J. Baker. 2003. Ancestral polymorphisms in genetic markers obscure detection of evolutionarily distinct populations in the endangered Florida grasshopper sparrow (*Ammodramus savannarum floridanus*). *Molecular Ecology* 12:831–44.

- Calderón-Chávez, J. A. 2013. Diferenciación fenotípica y vocal del gorrión de Isla Guadalupe (*Carpodacus mexicanus amplus*). Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F.
- Campagna, L., P. Benites, S. C. Loughheed, D. A. Lijtmaer, A. S. Di Giacomo, M. D. Eaton, y P. L. Tubaro. 2012. Rapid phenotypic evolution during incipient speciation in a continental avian radiation. *Proceedings of The Royal Society* 279:1847–1856.
- Chesser, R. T., R. C. Banks, F. K. Barker, C. Cicero, J. L. Dunn, A. W. Kratter, I. J. Lovette, P. C. Rasmussen, J. V. Remsen, J. D. Rising, D. F. Stotz y K. Winker. 2011. Fifty-Second Supplement to the American Ornithologists' Union Check-List of North American Birds. *The Auk* 128:600–613.
- Cortés-Rodríguez, N., F. Jacobsen, B. E. Hernandez-Baños, A. G. Navarro-Siguenza, J. L. Peters y K. E. Omland. 2013. Coalescent analyses show isolation without migration in two closely related tropical orioles: the case of *Icterus graduacauda* and *Icterus chrysater*. *Ecology and Evolution* 3:4377–4387.
- Cuthill, I. C., A. T. D. Bennett, J. C. Partridge y E. J. Maier. 1999. Plumage Reflectance and the Objective Assessment of Avian Sexual Dichromatism. *The American Naturalist* 160:183–200.
- Davis, J. 1951. Notes on the Nomenclature of the Brown Jay. *The Condor* 53:152–153.
- De Queiroz, K. 2005. A Unified Concept of Species and Its Consequences for the Future of Taxonomy. *Proceedings of the California Academy of Sciences* 56:196–215.
- De Queiroz, K. 2007. Species concepts and species delimitation. *Systematic Biology* 56:879–86.
- Dor, R., R. J. Safran, Y. Vortman, A. Lotem, A. McGowan, M. R. Evans, and I. J. Lovette. 2012. Population genetics and morphological comparisons of migratory european (*Hirundo rustica rustica*) and sedentary east-mediterranean (*Hirundo rustica transitiva*) barn swallows. *Journal of Heredity* 103:55–63.
- Dos Anjos, L. 2009. Family Corvidae (Crows). Page 494 in J. Del Hoyo, A. Elliot, and J. Sargatal, editors. *Handbook of the birds of the World*. Vol. 14. Bush shrikes to Old World Sparrows. Lynx Edicions. Barcelona.
- Endler, J. A. 1990. On the measurement and classification of colour in studies of animal colour patterns. *Biological Journal of the Linnean Society* 41:315–352.
- Ericson, P. G. P., A. L. Jansén, U. S. Johansson y J. Ekman. 2005. Inter-generic relationships of the crows, jays, magpies and allied groups (Aves: Corvidae) based on nucleotide sequence data. *Journal of Avian Biology* 36:222–234.
- Excoffier, L., M. Foll y R. J. Petit. 2009. Genetic Consequences of Range Expansions. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 40:481–501.
- Excoffier, L. y H. E. L. Lischer 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology* 10, 564–567

- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39:783-791
- Folkestad, A., J. P. Wold, K.-A. Rørvik, J. Tschudi, K. H. Haugholt, K. Kolstad y T. Mørkøre. 2008. Rapid and non-invasive measurements of fat and pigment concentrations in live and slaughtered Atlantic salmon (*Salmo salar L.*). *Aquaculture* 280:129–135.
- Friesen, V. L., B. C. Congdon, H. E. Walsh y T. P. Birt. 1997. Intron variation in marbled murrelets detected using analyses of single-stranded conformational polymorphisms. *Molecular Ecology* 6:1047–58.
- Futuyma, D. R. 2005. *Evolution*. Sinauer Associates. EUA.
- González, C., J. F. Ornelas y C. Gutiérrez-Rodríguez. 2011. Selection and geographic isolation influence hummingbird speciation: genetic, acoustic and morphological divergence in the wedge-tailed sabrewing (*Campylopterus curvipennis*). *BMC Evolutionary Biology* 11:38.
- Grapputo, A., A. Pilastro y G. Marin. 1998. Genetic variation and bill size dimorphism in a passerine bird, the reed bunting *Emberiza schoeniclus*. *Molecular Ecology* 7:1173–82.
- Guevara-Chumacero, L. M., R. López-Wilchis, F. F. Pedroche, J. Juste, C. Ibáñez y I. D. L. A. Barriga-Sosa. 2010. Molecular phylogeography of *Pteronotus davyi* (Chiroptera: Mormoopidae) in Mexico. *Journal of Mammalogy* 91:220–232.
- Hackett, S. J. 1996. Molecular phylogenetics and biogeography of tanagers in the genus *Ramphocelus* (Aves). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 5:368–82.
- Haemig, P. D. 1989. Brown jays as army ant followers. *The Condor* 91:1008–1009.
- Hale, A. M., D. A. Williams y K. N. Rabenold. 2003. Territoriality and neighbor assessment in brown jays (*Cyanocorax morio*) in Costa Rica. *The Auk* 120:446–456.
- Hall, T. A. 1999. BioEdit: a User-Friendly Biological Sequence Alignment Editor and Analysis Program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41:95–98.
- Hackett, S. J. 1996. Molecular phylogenetics and biogeography of tanagers in the genus *Ramphocelus* (Aves). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 5:368–82.
- Hardy, J. W. 1969. A taxonomic revision of the new world jays. *The Condor* 71:360–375.
- Haring, E., B. Däubel, W. Pinsker, A. Kryukov y A. Gamauf. 2012. Genetic divergences and intraspecific variation in corvids of the genus *Corvus* (Aves: Passeriformes: Corvidae) - a first survey based on museum specimens. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* 50:230–246.
- Hellmayr, C. E. 1934. *Catalogue of the Birds of the Americas and the Adjacent Islands*. Field Museum of Natural History, Chicago, EUA.

- Hewitt, G. M. 2001. Speciation, hybrid zones and phylogeography - or seeing genes in space and time. *Molecular Ecology* 10:537–49.
- Howell, S. N. G. y S. Webb. 1995. *A guide to the birds of Mexico and northern Central America*. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Huelsenbeck, J. P., F. Ronquist, R. Nielsen y J. P. Bollback. 2001. Evolution Bayesian inference of phylogeny and its impact on evolutionary biology. *Science* 2310–2314.
- Irwin, D. E., A. Brelsford, D. P. L. Toews, C. MacDonald y M. Phinney. 2009. Extensive hybridization in a contact zone between MacGillivray's warblers *Oporornis tolmiei* and mourning warblers *O. philadelphia* detected using molecular and morphological analyses. *Journal of Avian Biology* 40:539–552.
- ITIS. 2013. Integrated Taxonomic Information System. Disponible en: <http://www.itis.gov/>. (Consultado: 2013, Diciembre 11).
- Jiggins, C. D. y J. Mallet. 2000. Bimodal hybrid zones and speciation. *Tree* 15:250–255.
- Jones, T. R., y J. P. Collins. 1992. Analysis of a hybrid zone between subspecies of the tiger salamander (*Ambystoma tigrinum*) in central New Mexico, USA. *Journal of Evolutionary Biology* 5:375–402.
- Kvist, L., M. Ruokonen, a Thessing, J. Lumme y M. Orell. 1998. Mitochondrial control region polymorphism reveal high amount of gene flow in Fennoscandian willow tits (*Parus montanus borealis*). *Hereditas* 128:133–43.
- Lawton, M. F. y R. O. Lawton. 1985. The breeding biology of the brown jay in Monteverde, Costa Rica. *The Condor* 87:192–204.
- Librado, P., and J. Rozas. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25:1451–1452.
- McCormack, J. E y E. C. Berg. 2010. Small-scale divergence in egg color along an elevation gradient in the Mexican Jay (*Aphelocoma ultramarina*): A condition-dependent response? *The Auk* 127:35–43.
- McCormack, J. E., A. T. Peterson, E. Bonaccorso y T. B. Smith. 2008. Speciation in the highlands of Mexico: genetic and phenotypic divergence in the Mexican jay (*Aphelocoma ultramarina*). *Molecular Ecology* 17:2505–21.
- McCormack, J. E., J. Heled, K. S. Delaney, A. T. Peterson y L. Knowles, L. 2011. Calibrating divergence times on species trees versus gene trees: implications for speciation history of *Aphelocoma* jays. *Evolution* 65:184–202.
- McKay, B. D. 2009. Evolutionary history suggests rapid differentiation in the yellow-throated warbler *Dendroica dominica*. *Journal of Avian Biology* 40:181–190.

- McLean, A. J., A. Toon, D. J. Schmidt, L. Joseph y J. M. Hughes. 2012. Speciation in chestnut-shouldered fairy-wrens (*Malurus* spp.) and rapid phenotypic divergence in variegated fairy-wrens (*Malurus lamberti*): a multilocus approach. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 63:668–78.
- Mettler, R. D. y G. M. Spellman. 2009. A hybrid zone revisited: molecular and morphological analysis of the maintenance, movement, and evolution of a Great Plains avian (Cardinalidae: Pheucticus) hybrid zone. *Molecular Ecology* 18:3256–3267.
- Microsoft. 2007. Microsoft Office Access 2007. Microsoft Corporation. EUA.
- Milá, B., R. K. Wayne, P. Fitze y T. B. Smith. 2009. Divergence with gene flow and fine-scale phylogeographical structure in the wedge-billed woodcreeper, *Glyphorynchus spirurus*, a Neotropical rainforest bird. *Molecular Ecology* 18:2979–95.
- Milá, B., B. H. Warren, P. Heeb y C. Thébaud. 2010. The geographic scale of diversification on islands: genetic and morphological divergence at a very small spatial scale in the Mascarene grey white-eye (Aves: *Zosterops borbonicus*). *BMC Evolutionary Biology* 10:158.
- Miller, A. H., H. Friedmann, L. Griscom y R. T. Moore. 1957. Distributional Checklist of the birds of Mexico. Part II. *Pacific Coast Avifauna* 33:1–436.
- Montaño-Rendón, M. L. A. Sánchez-González, G. Hernández-Alonso y A. G. Navarro-Sigüenza. 2015. Genetic differentiation in the Mexican endemic Rufous-backed Robin, *Turdus rufopalliatu*s (Passeriformes: Turdidae). *Zootaxa* 4034 (3): 495–514
- Morrison, M. L. y R. D. Slack. 1977. Flocking and foraging behavior of Brown Jays in northeastern Mexico. *The Wilson Bulletin* 89:171–173.
- Morrone, J. J. 2005. Hacia una síntesis biogeográfica de México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 76:207–252.
- Navarro-Sigüenza, A. G. y A. T. Peterson. 2004. An alternative species taxonomy of the birds of Mexico. *Biota Neotropica* 4:1–32.
- Navarro-Sigüenza, A. G., A. Townsend Peterson, A. Nyari, G. M. García-Deras y J. García-Moreno. 2008. Phylogeography of the *Buarremon* brush-finch complex (Aves, Emberizidae) in Mesoamerica. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 47:21–35.
- Navarro-Sigüenza, A. G., M. A. García-Hernández, y A.T. Peterson. 2013. A new species of Brush-Finch (Arremon; Emberizidae) from western Mexico. *The Wilson Journal of Ornithology*, 125(3):443–453.
- Ocean Optics. 2007. Spectra Suite Spectrometer Operating Software. Dunedin, Florida, EUA.
- Olson, V. A., R. G. Davies, C. D. L. Orme, G. H. Thomas, S. Meiri, T. M. Blackburn, K. J. Gaston, I. P. F. Owens, and P. M. Bennett. 2009. Global biogeography and ecology of body size in birds. *Ecology Letters* 12:249–259.

- Omland, K. E. y B. Kondo. 2006. Phylogenetic studies of plumage evolution and speciation in New World orioles (*Icterus*). *Acta Zoologica Sinica* 52:320–326.
- Ornelas, J. F., V. Sosa, D. E. Soltis, J. M. Daza, C. González, A. Espinosa de los Monteros, T. A. Castoe, P. S. Soltis, C. Gutie, C. Bell, y E. Ruíz-Sánchez. 2013. Comparative Phylogeographic Analyses Illustrate the Complex Evolutionary History of Threatened Cloud Forests of Northern Mesoamerica. *PlosOne* 8(2):e56283.
- Ornelas, J. F., y R. A. Jiménez. 2016. Historical and current introgression in a Mesoamerican hummingbird species complex: a biogeographic perspective. *PeerJ* 4:e1556
- Ouma, C., A. L. Roca, T. Were, E. O. Raballah, N. O. Oguge, W. G. Z. O. Jura, J. W. Ochieng, O. Hanotte, and N. Georgiadis. 2011. Genetic structure of Hartebeest populations straddling a transition zone between morphotypes. *J. Basic. Appl. Sci. Res* 1:131–149.
- Padial, J. M., S. Castroviejo-Fisher, J. Köhler, C. Vilà, J. C. Chaparro y I. De la Riva. 2009. Deciphering the products of evolution at the species level: the need for an integrative taxonomy. *Zoologica Scripta* 38:431–447.
- Padial, J. M., A. Miralles, I. De la Riva y M. Vences. 2010. The integrative future of taxonomy. *Frontiers in Zoology* 7:1–14.
- Pitelka, F. A., R. K. Selander y M. Alvarez del Toro. 1956. A hybrid jay from Chiapas, Mexico. *The Condor* 58:98–106.
- Posada, D. 2008. jModelTest: Phylogenetic Model Averaging. *Molecular Biology and Evolution* 25:1253–6.
- Questiau, S., M. C. Eybert, a R. Gaginskaya, L. Gielly y P. Taberlet. 1998. Recent divergence between two morphologically differentiated subspecies of blue throat (Aves: Muscicapidae: *Luscinia svecica*) inferred from mitochondrial DNA sequence variation. *Molecular Ecology* 7:239–45.
- Rambaut, A., M. A. Suchard, W. Xie y A. J. Drummond. 2013. Tracer: MCMC Trace Analysis Tool. Disponible en: <http://beast.bio.ed.ac.uk/>.
- Rice, N. H., E. Martínez-Meyer y A. T. Peterson. 2003. Ecological niche differentiation in the Aphelocoma jays: a phylogenetic perspective. *Biological Journal of the Linnean Society* 80:369–383.
- Ridgely, R. S., T. F. Allnutt, T. Brooks, D. K. McNicol, D. W. Mehlman, B. E. Young, y J. R. Zook. 2007. Digital Distribution Maps of the Birds of the Western Hemisphere, version 3.0. NatureServe, Arlington, Virginia, EUA.
- Robertson, J. M y A. D. Robertson. 2008. Spatial and temporal patterns of phenotypic variation in a Neotropical frog. *Journal of Biogeography* 35:830–843.



- Rohwer, V. G., F. Bonier y P. R. Martin. 2012. Juvenal plumage polymorphism in Yellow Warblers is not associated with Sex. *The Condor* 114:407–411.
- Sattler, G. D. y M. J. Braun. 2000. Morphometric variation as an indicator of genetic interactions between Black-Capped and Carolina Chickadees at a contact zone in the Appalachian Mountains. *The Auk* 117:427.
- Saunders, M. A. y S. V Edwards. 2000. Dynamics and Phylogenetic implications of mtDNA control region sequences in New World Jays (Aves: Corvidae ). *Journal of Molecular Evolution* 51:97–109.
- Savalli, U. M. 1995. The Evolution of Bird Coloration and Plumage Elaboration. *Current Ornithology* 12:141–190.
- Selander, R. K. 1959. Polymorphism in Mexican Brown Jay. *The Auk* 76:385–417.
- Selander, R. K. 1960. Subspecific Names of Mexican Brown Jays: A Correction. *The Auk* 77:224.
- SPSS. 2008. SPSS Statistics for Windows, Version 17.0. Chicago, EUA.
- Stevens, M., C. A. Párraga, I. C. Cuthill, J. C. Partridge y T. S. Troscianko. 2007. Using digital photography to study animal coloration. *Biological Journal of the Linnean Society* 90:2011–237.
- Sutton, G. M. y P. W. Gilbert. 1942. The Brown Jay's furcular pouch. *The Condor* 44:160–165.
- Swofford, D. L. 2002. PAUP\*. Phylogenetic analysis using parsimony (\*and other metods). Version 4. Sinauer Associates., Sunderland, Massachusetts, EUA.
- Tajima, F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123:585–595.
- Tamura, K., G. Stecher, D. Peterson y S. Kumar. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30(12): 2725–2729
- Thompson, J. D., T. J. Gibson, F. Plewniak, F. Jeanmougin y D. G. Higgins. 1997. The Clustal-X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research* 24:4876–4882.
- Vázquez-Domínguez, E. y H. T. Arita. 2010. The Yucatan peninsula: biogeographical history 65 million years in the making. *Ecography* 33:212–219.
- Villafuerte, R. y J. J. Negro. 1998. Digital imaging for colour measurement in ecological research. *Ecology Letters* 1:151–154.
- Wang, I. J., R. E. Glor y J. B. Losos. 2013. Quantifying the roles of ecology and geography in spatial genetic divergence. *Ecology Letters* 16:175–82.

- Williams, D. A. y A. M. Hale. 2008. Investment in Nesting Activities and Patterns of Extra- and Within-Group Genetic Paternity in a Cooperatively Breeding Bird. *The Condor* 110:13–23.
- Williams, D. A., M. F. Lawton y R. O. Lawton. 1994. Population growth, range expansion, and competition in the cooperatively breeding brown jay, *Cyanocorax morio*. *Animal Behaviour* 48:309–322.
- Williams, D. A. y K. N. Rabenold. 2004. Male-biased dispersal, female philopatry, and routes to fitness in a social corvid. *Journal of Animal Ecology* 74:150–159.
- XLSTAT. 2013. XLSTAT Software. Version 2013, Copyright Addinsoft Inc 1995-2015.

**Anexo 1.** Variación morfológica dentro de los grupos geográficos de acuerdo a la edad de los individuos. No se incluye a la población de la Península de Yucatán (grupo 3) debido a que no se examinaron individuos adultos. Se resaltan los valores de significancia en las variables con el estadístico  $P \leq 0.05$

GRUPO 1. BLANCO CONTACTO					GRUPO 2. BLANCO CENTROAMÉRICA					
VARIABLE	Homogeneidad de varianzas P	ANOVA		K-W Test		Homogeneidad de varianzas P	ANOVA		K-W Test	
		F	P	$X^2$	P		F	P	$X^2$	P
Tarso	0.065			0.12	0.943	0.002	3.97	0.080		
LongPico	0.578	0.25	0.780			0.271	1.01	0.429		
AnchoPico	0.186	1.70	0.192			0.098	7.14	<b>0.026</b>		
AnchoNostr	0.443	1.95	0.152			0.079	2.59	0.155		
AltoPico	0.140	2.43	0.098			0.003	1.14	0.382		
AltNostMan	0.198	0.69	0.508			0.000	1.17	0.372		
LongMand	0.123	0.15	0.860			0.030	0.51	0.623		
CuerdaAlar	0.144	4.88	<b>0.011</b>			0.343	1.36	0.327		
LongCola	0.798	7.25	<b>0.002</b>			0.784			4.75	0.093
GRUPO 4. CAFÉ CONTACTO					GRUPO 5. CAFÉ NORTE					
VARIABLE	Homogeneidad de varianzas P	ANOVA		K-W Test		Homogeneidad de varianzas P	ANOVA		K-W Test	
		F	P	$X^2$	P		F	P	$X^2$	P
Tarso	0.711	0.97	0.384			0.660	0.73	0.488		
LongPico	0.034	0.99	0.375			0.100	0.24	0.788		
AnchoPico	0.132	2.27	0.108			0.280	0.09	0.913		
AnchoNostr	0.030	2.58	0.081			0.281	1.36	0.272		
AltoPico	0.031			7.88	<b>0.019</b>	0.110	0.37	0.692		
AltNostMan	0.289			9.21	<b>0.010</b>	0.106	0.39	0.682	0.77	0.682
LongMand	0.033	1.18	0.310			0.519	0.25	0.781		
CuerdaAlar	0.280	9.80	<b>0.000</b>			0.664	0.45	0.641		
LongCola	0.807	7.74	<b>0.001</b>			0.297	0.66	0.521	1.15	0.563

**Anexo 2.** Variación morfológica dentro de los grupos geográficos de acuerdo al sexo de los individuos. Se resaltan los valores de significancia  $P \leq 0.005$  para las variables con diferencias entre machos y hembras. Se presenta los datos con las tres categorías de edad (A) y sólo adultos (B) (véase métodos). PIV= prueba de igualdad de varianzas; H= hembras; M= machos; DE= desviación estándar; EE= error estándar

<b>GRUPO 1. BLANCO CONTACTO</b>											
	MEDIA (mm)			PIV		t- Student test			M-W-U		
	H	M	Total	DE	EE	F	P	T		gL.	P (2-colas)
<b>A)</b>	<b>n = 26</b>	<b>n = 29</b>									
Tarso	46.64	47.32	47	2.24	0.3	4.761	0.050	0.672	12	0.514	
LongPico	28.41	29.44	28.96	1.42	0.19	0.01	0.923	-0.916	12	0.378	
AnchoNostr	5.48	5.59	5.54	0.35	0.05	0.828	0.381	-0.165	12	0.872	
LongMand	24.67	25.16	24.93	1.12	0.15	0.204	0.659	-0.635	12	0.537	
<b>B)</b>	<b>n = 9</b>	<b>n = 5</b>	<b>Total</b>	<b>DE</b>	<b>EE</b>	<b>F</b>	<b>P</b>	<b>t</b>	<b>gL</b>	<b>P (2-colas)</b>	<b>M-W-U</b>
AnchoPico	13.25	13.21	13.23	0.33	0.15	1.451	0.252	0.105	12	0.918	
AltoPico	16.15	15.97	16.09	0.65	0.17	0.318	0.583	0.518	12	0.614	
AltNostMan	9.79	9.45	9.67	0.39	0.1	2.288	0.156	1.673	12	0.12	
CuerdaAlar	20.49	20.3	20.42	0.59	0.16	0.036	0.852	0.55	12	0.592	
LongCola	21.71	21.24	21.54	1.01	0.27	0.051	0.825	0.823	12	0.426	
<b>GRUPO 3. BLANCA YUCATAN</b>											
	MEDIA (mm)			PIV		t- Student Test			M-W-U		
	H	M	Total	DE	EE	F	P	t		gL	P (2-colas)
<b>A)</b>	<b>n = 4</b>	<b>n = 4</b>									
Tarso	40.52	43.63	42.08	1.82	0.64	0.066	0.805	-5.467	6	<b>0.002</b>	
LongPico	24.76	25.76	25.26	1.46	0.52	0.066	0.805	-0.969	6	0.37	
AnchoNostr	4.53	4.6	4.57	0.31	0.11	0.171	0.694	-0.253	6	0.808	
LongMand	21.25	22.57	21.91	1.37	0.48	0.003	0.959	-1.485	6	0.188	
<b>B)</b>	<b>n = 4</b>	<b>n = 3</b>	<b>Total</b>	<b>DE</b>	<b>EE</b>	<b>F</b>	<b>P</b>	<b>t</b>	<b>gL</b>	<b>P (2-colas)</b>	<b>M-W-U</b>
AnchoPico	12.2	12.36	12.27	0.47	0.18	0.054	0.825	-0.399	5	0.707	
AltoPico	13.88	14.55	14.17	0.5	0.19	1.459	0.281	-2.309	5	0.069	
AltNostMan	8.17	8.68	8.39	0.51	0.19	0.517	0.504	-1.42	5	0.215	
CuerdaAlar	18.05	18.63	18.3	0.68	0.26	0.012	0.917	-1.158	5	0.299	
LongCola	19.4	19.9	19.61	0.75	0.28	4.409	0.09	-0.888	5	0.415	

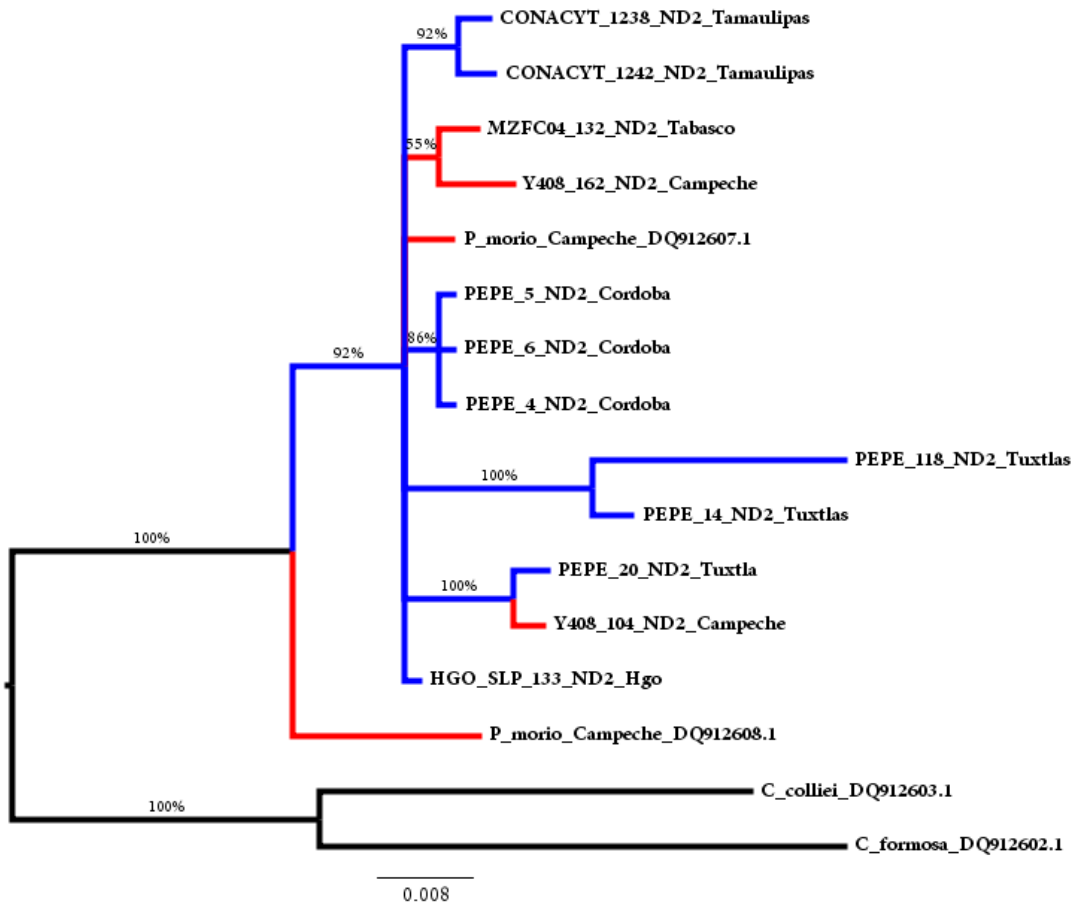
GRUPO 4. CAFÉ CONTACTO											
	MEDIA (mm)			DE	EE	PIV		t- Student test			M-W-U
	H	M	Total			F	P	t	gL	P (2-colas)	
<b>A)</b>	<b>n = 53</b>	<b>n = 50</b>									
Tarso	47.3	47.77	47.53	2.04	0.2	0.519	0.473	-1.179	101	0.241	
LongPico	27.92	29.46	28.67	1.84	0.18	0.443	0.507	-4.505	99	<b>0.000</b>	
AnchoNostr	5.34	5.47	5.4	0.46	0.05	0.446	0.506	-1.534	101	0.128	
LongMand	23.99	25	24.48	1.58	0.16					<b>0.002</b>	735.5
<b>B)</b>	<b>n = 27</b>	<b>n = 17</b>									
AnchoPico	13.43	13.81	13.58	0.66	0.1	1.629	0.208	-1.914	44	<b>0.062</b>	
AltoPico	15.92	16.77	16.26	0.76	0.11	0.579	0.451	-4.416	44	<b>0.000</b>	
AltNostMan	9.5	10.16	9.76	0.68	0.1	0.025	0.875	-3.566	44	<b>0.001</b>	
CuerdaAlar	20.37	20.66	20.48	0.8	0.12	0.885	0.352	-1.184	42	0.243	
LongCola	21.19	22.13	21.55	1.21	0.18	0.633	0.431	-2.689	42	<b>0.01</b>	
GRUPO 5. CAFÉ NORTE											
	MEDIA (mm)			DE	EE	PIV		t- Student test			M-W-U
	H	M	Total			F	P	t	gL	P (2-colas)	
<b>A)</b>	<b>n = 21</b>	<b>n = 13</b>									
Tarso	46.92	48.08	47.36	1.79	0.31	0.596	0.446	-1.884	32	<b>0.069</b>	
LongPico	26.61	29.04	27.54	1.96	0.34					<b>0.000</b>	34
AnchoNostr	5.29	5.31	5.3	0.45	0.08	5.056	0.032	0.014	32	0.989	
LongMand	22.71	24.72	23.48	1.57	0.27	0.346	0.56	-4.542	32	<b>0.000</b>	
<b>B)</b>	<b>n = 15</b>	<b>n = 5</b>									
AnchoPico	13.26	14.01	13.45	0.74	0.16	0.008	0.928	-2.11	18	<b>0.049</b>	
AltoPico	15.28	16.62	15.62	0.91	0.2	1.287	0.272	-3.551	18	<b>0.002</b>	
AltNostMan	8.91	9.97	9.18	0.75	0.17	0.296	0.593	-3.348	18	<b>0.004</b>	
CuerdaAlar	20.11	20.3	20.16	0.68	0.15	0.598	0.449	-0.557	18	0.585	
LongCola	21.15	20.76	21.06	0.94	0.21	0.249	0.624	0.804	18	0.432	

**Anexo 3.** Protocolo de extracción de ADN con el método de NACL Cloroformo.

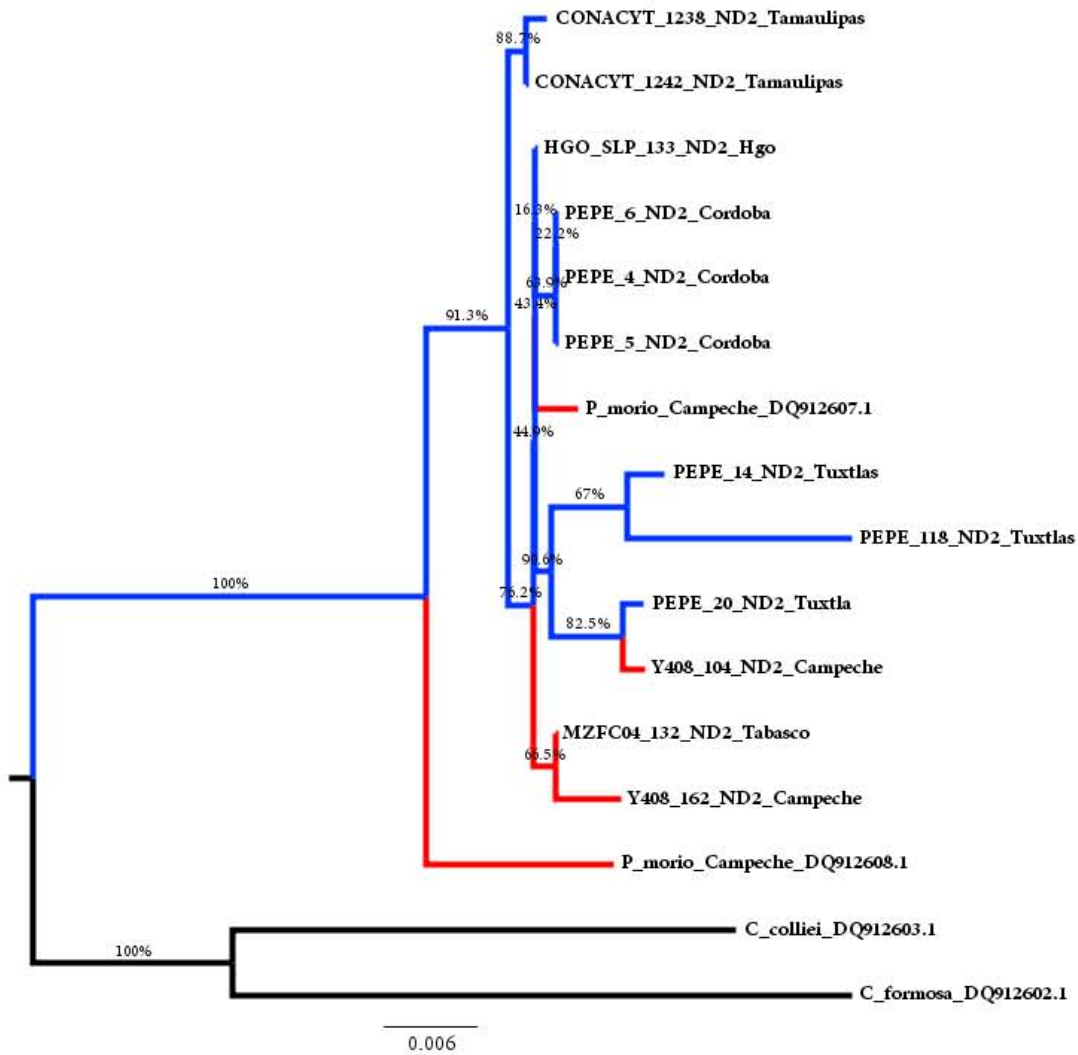
Se colocó aproximadamente 30 a 100 mg de tejido en un microtubo eppendorf de 2.0 mL al cual se añadieron 410µL de buffer de lisis (100 mMNaCl; 50 mM Tris ph 8.0; 100 mM EDTA), 90 µL de SDS al 10% y 20µL de proteinasa K. Posteriormente se incubó a 65°C durante dos o tres horas para homogeneizar el tejido en partículas finas. Una vez homogenizado, se añadieron 200 µL de NaCl saturado (6M) y se agitó manualmente por inversión durante 15 minutos. Después se incubó en baño de hielo por 10 minutos y se centrifugó a 10,000 rpm durante 10 minutos. Se transfirieron 400 µL del sobrenadante en un tubo limpio al cual se le agregó 350 µL de cloroformo: alcohol isoamílico (24:1), mismo que se agitó manualmente por inversión durante 15 minutos. En seguida se centrifugó a 14,000 rpm durante 5 minutos y se hizo la transferencia de 400 a 600 µL del sobrenadante a un tubo limpio al cual se adicionó 800 µL de etanol al 100% frío. Después de mezclar por inversión manual, se centrifugó nuevamente a 14,000 rpm durante 10 minutos y se decantó el etanol para posteriormente adicionar 500 µL de etanol al 80 %. Esta disolución se agitó por inversión manual durante 5 minutos para después centrifugar a 14,000 rpm durante 5 minutos. El alcohol se decantó y el ADN se mantuvo 40 °C durante 5 minutos para desechar la presencia del disolvente. Finalmente, el ADN se disolvió con 100 µL de agua destilada y se mantuvo en conservación a -20 °C para usarlo posteriormente en la amplificación y secuenciación.

**Anexo 4.** Reconstrucciones filogenéticas para el gen ND2.

**Figura A1.** Reconstrucción filogenética elaborado mediante Inferencia Bayesiana para el gen ND2. Las ramas en color negro representan al grupo externo, en azul a las urracas del morfo oscuro y en rojo a las urracas del morfo claro. Se señalan los valores de soporte de los nodos (probabilidad posterior).



**Figura A2.** Reconstrucción filogenética elaborado mediante Máxima Verosimilitud (ML) para el gen ND2. Las ramas en color negro representan al grupo externo, en azul a las urracas del morfo oscuro y en rojo a las urracas del morfo claro. Se señalan los valores de soporte de los nodos (valores de bootstrap).





**Figura A3.** Reconstrucción filogenética elaborado mediante Máxima Parsimonia (consenso de mayoría) para el gen ND2. Las ramas en color negro representan al grupo externo, en azul a las urracas del morfo oscuro y en rojo a las urracas del morfo claro. Se señalan los valores de soporte de los nodos (valores de bootstrap).

