



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
INSTITUTO DE BIOLOGÍA  
Sistemática

Genética de la conservación del loro corona blanca (*Pionus  
senilis*)

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

**M. en C. RIVERA ARROYO RICARDO CANEK**

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS:

**Dra. Bertha Patricia Escalante Pliego, Instituto de Biología, UNAM.**

COMITÉ TUTORAL:

**Dra. Claudia Patricia Ornelas García, Instituto de Biología, UNAM.**

**Dr. Rogelio Alejandro Alonso Morales, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM.**

Ciudad Universitaria, CDMX

octubre 2023



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**

INSTITUTO DE BIOLOGÍA  
Sistemática

Genética de la conservación del loro corona blanca (*Pionus  
senilis*)

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

**M. en C. RIVERA ARROYO RICARDO CANEK**

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS:

**Dra. Bertha Patricia Escalante Pliego, Instituto de Biología, UNAM.**

COMITÉ TUTORAL:

**Dra. Claudia Patricia Ornelas García, Instituto de Biología, UNAM.**

**Dr. Rogelio Alejandro Alonso Morales, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM.**

Ciudad Universitaria, CDMX

octubre 2023

COORDINACIÓN GENERAL DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
INSTITUTO DE BIOLOGÍA  
OFICIO: CGEP/CPCB/IB/0622/2023  
ASUNTO: Oficio de Jurado

**M. en C. Ivonne Ramírez Wence**  
Directora General de Administración Escolar, UNAM  
P r e s e n t e

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 13 de marzo de 2023 se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **DOCTOR EN CIENCIAS** del estudiante **RIVERA ARROYO RICARDO CANEK** con número de cuenta **302018994** con la tesis titulada "**Genética de la conservación del loro corona blanca (*Pionus senilis*)**", realizada bajo la dirección de la **DRA. BERTHA PATRICIA ESCALANTE PLIEGO**, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente: DR. ANTONIO GONZÁLEZ RODRÍGUEZ  
Vocal: DRA. KATHERINE RENTON  
Vocal: DR. MARCO ALEJANDRO SUÁREZ ATILANO  
Vocal: DR. EDUARDO RUÍZ SÁNCHEZ  
Secretario: DRA. CLAUDIA PATRICIA ORNELAS GARCÍA

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

**ATENTAMENTE**  
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"  
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 15 de agosto de 2023

**COORDINADOR DEL PROGRAMA**



**DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA**



c. c. p. Expediente del alumno

AGNS/RGA/EARR/rga

## **AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES**

Mi primer agradecimiento es al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM. por darme la oportunidad de seguirme preparando de manera profesional de tal manera que pude desarrollar esta investigación.

Es necesario y fundamental agradecer al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca proporcionada, la cual fue fundamental para lograr dedicarme de tiempo completo a la investigación, y al Programa de Apoyo a la Investigación y Proyectos de Innovación Tecnológica (PAPIIT), emitidos por la Oficina de Servicios de Apoyo al Personal Académico de la UNAM (IN208220); también a la Fundación Rufford e Idea Wild, que proporcionaron fondos para cubrir los gastos económicos y materiales necesarios para realizar el trabajo de campo.

De manera particular, quiero agradecer primero a la Dra. Patricia Escalante por su disposición en guiarme en este proyecto, su motivación aun en los momentos más complicados con la finalidad de seguir adelante, además de su gran amistad.

Expreso un fuerte agradecimiento al comité tutorial: Dra. Claudia Patricia Ornelas García. y Dr. Rogelio Alejandro Alonso Morales por sus críticas, revisiones, asesorías y muy concretos consejos en las revisiones, los cuales permitieron a modificar de forma satisfactoria esta investigación.

## AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Gracias a los coautores de los artículos de esta investigación: Dra Patricia Escalante por sus aportes certeros y su guía durante esta laboriosa actividad de someter a revisión los artículos. Al Dr. Alberto Cruz Silva por su apoyo total en la realización de los modelos de distribución potencial del loro *Pionus senilis*, con todo el trabajo que implicó desde esos días y noches en Puebla. Al biólogo Damián Aguilar Torres gracias al cual los datos de esta investigación hubieran sido imposibles recolectar; al biólogo Milton Úbeda-Olivas por su invaluable labor en campo. A la Mtra. María José Monteverde Suárez por su colaboración en los asuntos relacionados con la traducción al inglés que permitieron la obtención de los Grants y los primeros borradores de los artículos.

Agradezco al Dr. Rogelio Alejandro Alonso Morales por permitirme realizar actividades de laboratorio en sus instalaciones, así como a Juan Pablo Pintor Ríos por asesorarme en las técnicas de laboratorio, las cuales fueron esenciales para la obtención de datos genéticos, a todos los colaboradores de este laboratorio muchas gracias por recibirme de grata manera a pesar de interferir en sus actividades. También agradezco a Macaw Mountain Bird Park en Honduras y Rescate Animal Zoo Ave en Costa Rica por su contribución al muestreo de loros corona blanca, que fueron vitales para este trabajo.

Siempre llevaré en todo momento de mi vida profesional y personal a los guías de campo que aportaron valiosa información que nos permitió rastrear las poblaciones de loros corona blanca: Lázaro Chavarría, German de Catazaja, Mario Álvarez, Chankin William García, Esteban Berrones Benítez, Juan Carlos Orraca Corona, Neydy Perez, Leoni Zepol, Limberg Pérez Benavente y Luis Armando Ferman Cortez, así como el Hostal del Café y el Hotel El Salto del Meco en San Luis Potosí.

De manera especial, quiero dar las gracias a Saúl Guillermo García Rivera, porque sin tener ninguna obligación me brindó su apoyo en el trabajo de campo para la realización

de esta tesis, también conté con la compañía muy agradable y divertida de Liliana Torres Horta a pesar de que un escalón se atravesó.

También quiero agradecer a los sinodales Dra. Claudia Patricia Ornelas García, Dra. Katherine Rento, Dr. Antonio González Rodríguez, Dr. Edurardo Ruíz Sánchez y Dr. Marco Alejandro Suárez Atilano por los aportes, comentarios y críticas enfocadas a mejorar esta investigación.

Gracias también a todas y todos mis amigas y amigos y compañeras y compañeros: Gabriela Díaz, Andrea Natalia, María José Monteverde Suárez, Fauno Alberto Cruz, Ángel Fernando Soto, Carmina Martínez González, Sandra Vera Nancy Gabriel Santos, Diana Cortés Tenorio, Juan Carlos Orraca, Mauricio Gutiérrez Sánchez-Rüed, Eunice Rojas y Monserrat Gaspar Argote, Liliana Torres Horta, Amaranta, por apoyarme durante los momentos de esta investigación, alentarme y escucharme durante los tiempos más complicados que se vive de forma académica y personal sabiendo que aun a pesar de la distancia puedo contar con ustedes. Obviamente, no puede faltar un agradecimiento al restaurante “El Rey” por sus tardes de relajamiento y pláticas enriquecedoras con muchos estudiantes e investigadores.

Quiero agradecer de forma especial y con todo mi amor a mis padres Mtra. Ana Julia Arroyo Urióstegui y doctorante Ricardo Rivera Cortés por todo el apoyo recibido, su cariño, comprensión y en especial por estimularme a realizar esta formación académica.

Los amo en cada momento de la vida. También tengo que agradecer a mi hermana arquitecta Ixek Violeta Rivera Arroyo, por ser una gran persona y leal compañía. A mi hermano Mtro. Julio Antonio Rivera Arroyo por ser tan incisivo en que tenía que acabar esta investigación; igualmente, agradezco a mis sobrinas Maya y Yohuali por ser tan agradables compañías en cada momento de la vida: “las amo mucho”. Agradezco a la trabajadora social Evelinda López por soportar a un cuñado tan latoso. Por supuesto que



agradezco a Dharma P. Torres por ser una persona tan sobresaliente en todo lo que se propone.

Una dedicación especial a mi abuelita Martha Urióstegui que nos dejó en septiembre 2017, quien siempre estuvo conmigo apoyando, disfrutando y escuchando mis inquietudes profesionales y aunque no lograba comprender mis investigaciones siempre mostro un interés en mis anécdotas: se te extraña mucho, pero “Lo que perdemos al final siempre vuelve a nosotros... aunque a veces no del modo que esperamos”, entonces hasta que eso pase, espero estés en buena compañía con tu hermano Heriberto Urióstegui y tu Sobrino Juan Francisco.

Finalmente, agradezco a mi abuelita Felicitas Cortés y mi abuelito Saúl Rivera Navarrete que siempre me han querido y apoyado.

“En los sueños encontramos un mundo  
enteramente nuestro”

Albus Dumbledore

“Ya no tengo más que decirles, sólo así,  
abrazarles mucho, decirles que amor con amor  
se paga, que, así como ustedes me quieren a mí  
los quiero yo a ustedes y más todavía.”

AMLO

## ÍNDICE

Resumen	1
Abstract	3
Introducción general	5
Los psitácidos	9
Problemática de los psitácidos	12
Genética de la conservación aplicada en psitácidos	13
Modelo de estudio	22
Objetivos	25
General	25
Particulares	25
Presentación	26
Capítulo I	27
Current and future habitat conservation of the white-crowned parrot ( <i>Pionus senilis</i> ) based on ecological niche modeling	
Capítulo II	49
Phylogeography of the white-crowned parrot ( <i>Pionus senilis</i> )	

Capítulo III	66
Correspondencia geográfica de ejemplares cautivos de loro corona blanca ( <i>Pionus senilis</i> ) a partir de datos mitocondriales	
Discusión general	80
Recomendaciones de conservación para el loro corona blanca	85
Referencias Bibliográficas	86

## RESUMEN

El loro corona blanca (*Pionus senilis*) se distribuye desde el norte de Panamá hasta el noreste de México, se encuentra catalogado como especie en peligro de extinción en la NOM-ECOL-059 (SEMARNAT, 2010), mientras que en la lista roja de la UICN se registra como especie en riesgo menor, a pesar de que no se conocen las tendencias de sus poblaciones, aunque algunos indicadores evidencian que la gran mayoría se encuentra en descenso. Este trabajo se enfocó en desarrollar un modelo geográfico de centroide de nicho para la especie, así como un estudio filogeográfico que abarco desde el sur de Tamaulipas (México) hasta Alajuela (Costa Rica), usando genes mitocondriales para identificar los linajes de las poblaciones de loro corona blanca, por último, se identificó genéticamente la correspondencia geográfica de ejemplares en cautiverio para determinar cuáles son las poblaciones que están siendo saqueadas para el mercado ilegal.

Se estimaron las densidades de las poblaciones del loro corona blanca para comprender los problemas presentes y futuros que enfrenta esta especie, además se utilizó el modelo de nicho ecológico para identificar la zona de distribución de la especie en los escenarios actual y hacia el futuro. Los resultados muestran que la distribución geográfica potencial es de 585,034 km<sup>2</sup>, además las poblaciones mexicanas se ajustan al patrón de densidad poblacional del centroide de nicho sugerido por los modelos. Se estima que para el 2050, en el escenario con menor concentración de gases invernadero (RCP 2.6), se conservarán 496,972 Km<sup>2</sup> (84.9%) mientras que en un escenario con mayor concentración de gases de efecto invernadero (RCP 8.5) solo quedarían 315,038 km<sup>2</sup>; la tendencia a la reducción del hábitat será más drástica para el 2070, ya que en el escenario de RPC 2.6 se conservaría solo 359,332 Km<sup>2</sup>, mientras que en el de RCP 8.5 quedarán solo 286,920 Km<sup>2</sup> (46.9%), siendo posiblemente las zonas serranas, la Sierra Madre del Sur (México), la Selva Maya (Guatemala) y la Cordillera Centroamericana como las áreas de refugio de las poblaciones del loro corona blanca.

Recolectamos 55 ejemplares de loro corona blanca desde el sur de Tamaulipas hasta Costa Rica para realizar un estudio genético con datos mitocondriales (COI, ND2 y ND4) para inferir relaciones filogenéticas y analizamos la estructura filogeográfica, así como la

diversidad genética; encontramos tres linajes divergentes: dos separados geográficamente por el Istmo de Tehuantepec y el tercero en Costa Rica mantenido por la Depresión de Nicaragua. El análisis de varianza molecular y los análisis estadísticos fueron consistentes con poblaciones genéticamente distintas; esta estructuración genética es concordante con los patrones observados en otros vertebrados mesoamericanos, también realizamos un análisis filogenético de las secuencias de organismos silvestres y ejemplares en cautiverio para inferir el origen geográfico de estos últimos. Los resultados basados en estos genes indican que los cinco ejemplares de cautiverio analizados corresponden al linaje norte, el cual corresponde a las poblaciones de noreste de México

## ABSTRACT

The White-crowned parrot (*Pionus senilis*) is distributed from the north of Panama to the northeast of Mexico, it is listed as an endangered species in the NOM-ECOL-059 (SEMARNAT, 2010), while on the red list of the IUCN registers it as a species at lower risk despite the fact that the trend of its populations is not known, although some analysis show that the vast majority of its populations are in decline This work focused on developing a geographic model of niche centroid for the species, as well as a phylogeographic study that covers from the south of Tamaulipas (Mexico) to Alajuela (Costa Rica), based on mitochondrial genes to identify the lineages of the white-crowned parrot populations, finally, the geographic correspondence of specimens was genetically identified. In captivity to determine which populations are being looted for the illegal market,

The densities of the populations of the White-crowned parrot were estimated to understand the present and future problems that this species faces, in addition the ecological niche model was used to identify the distribution area of the species in the current and future scenarios. The results show that the potential geographical distribution is 585 034 km<sup>2</sup>, in addition, the Mexican populations conform to the population density pattern of the niche centroid suggested by the models, agreeing with the northern populations that presented the highest densities with the most suitable environmental conditions. It is estimated that by 2050, in the scenario with the lowest concentration of greenhouse gases (RCP 2.6), 496,972 km<sup>2</sup> (84.9%) will be conserved, while in a scenario with the highest concentration of greenhouse gases (RCP 8.5), only 315,038 km<sup>2</sup>; the habitat reduction trend will be more drastic by 2070, since in the RPC 2.6 scenario only 359,332 km<sup>2</sup> would be conserved, while in the RCP 8.5 scenario only 286,920 km<sup>2</sup> would remain. Possibly being the mountainous areas, the Sierra Madre del Sur (Mexico), the Selva Maya (Guatemala) and the Central American Cordillera as refuge areas for the populations of White-crowned parrot.

We collected 55 specimens of White-crowned parrot from southern Tamaulipas to Costa Rica to carry out a genetic study with mitochondrial data (COI, ND2 and ND4) to infer

phylogenetic relationships and we analyzed the phylogeographic structure as well as genetic diversity, we found three divergent lineages: two geographically separated by the Isthmus of Tehuantepec and the third in Costa Rica maintained by the Nicaraguan Depression. The analysis of molecular variance and the statistical analyzes were consistent with genetically distinct populations, this genetic structuring is consistent with the patterns observed in other Mesoamerican vertebrates, we also performed a phylogenetic analysis of the sequences of wild organisms and captive specimens to infer the geographic origin. Of the latter, the results based on these genes indicate that the five captive specimens analyzed correspond to the northern lineage, which corresponds to the populations of northeastern Mexico.



## INTRODUCCIÓN GENERAL

Para considerar a la biodiversidad en su sentido más amplio, no sólo debe analizarse la variabilidad ecológica (número de especies en una comunidad y sus interacciones), sino también la variabilidad genética, que es esencial para la persistencia y continuo evolutivo de las especies o linajes. Debido a ello, la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) reconoce la diversidad genética como una de las tres prioridades mundiales de conservación (Estrategia Mundial de Conservación, UICN-PNUMA-WWF 1980). Puesto que la variación genética es la materia prima de la evolución (Frankham et al. 2002), los estudios genéticos deberían ser una herramienta fundamental para cualquier programa de conservación, tomando en cuenta los actuales procesos de extinción (Frankham et al 2002; Avise 2001). La Genética siempre ha contribuido a la conservación, pero a partir de la década de 1980 se hace imprescindible para la protección y la restauración de la biodiversidad (Frankham et al. 2002).

Los estudios genéticos aplicados a la conservación integran una disciplina que se denomina Genética de la Conservación, la cual implica como base teórica a la Genética de Poblaciones en conjunto con diferentes métodos genéticos para preservar a las especies como entidades dinámicas, capaces de prevalecer ante condiciones ambientales cambiantes y reducir su riesgo de extinción (Frankham et al. 2010). La Genética de la Conservación se enfoca en el análisis de la variación de marcadores neutrales, las cuales son difíciles de identificar y caracterizar; sin embargo, la capacidad de predecir el alcance de esta variación podría ser más exitosa y aplicarse en futuros esfuerzos de conservación (Ryder 1986; Rocha y Gasca, 2007).

La Genética de la Conservación tiene como objetivo estudiar la diversidad genética para evitar los problemas relacionados con la endogamia, la reducción del flujo genético y la fragmentación del hábitat (Frankham et al. 2010; Rocha y Gasca, 2007). El potencial de la Genética para establecer planes de conservación se sugirió formalmente por primera vez hace más de 40 años (Frankel, 1974), pero es a partir de la década de 1980 cuando se hace

imprescindible para la protección y la restauración de la biodiversidad (Frankham et al. 2002, Frankham et al. 2010, Allendorf et al. 2013).

La Genética de la Conservación analiza con particular cuidado la pérdida de diversidad genética que produce una menor capacidad física individual y poca adaptabilidad principalmente en poblaciones pequeñas (Lande, 1987), debido a que la endogamia disminuye la diversidad genética y reduce las tasas reproductivas y de supervivencia, lo cual conduce a un mayor riesgo de extinción (Land y Lacy 2000; Westemeier et al. 1998). Como parte de estos análisis, las variantes neutrales se pueden usar para identificar variaciones adaptativas, pero la superposición de diferentes procesos mutacionales y regímenes selectivos sugiere que se debe tener extrema precaución al hacer tales identificaciones (Hedrick, 2001).

La Genética de la Conservación ha utilizado distintos marcadores moleculares y métodos que resuelven diferentes aspectos del patrón evolutivo. Las aloenzimas permitieron inferir patrones demográficos de las poblaciones, hibridación y sistemas de apareamiento; sin embargo, estos estudios fueron cuestionados por la evolución no neutra de algunos de los marcadores utilizados (Hudson et al. 2002). La implementación de las técnicas de manipulación de ADN sustituyó a los marcadores basados en enzimas, permitiendo estudiar la variación dentro de las secuencias y cuantificar las mutaciones entre los diferentes alelos. Los marcadores moleculares de amplificación aleatoria de ADN polimórfico (RADP) permitieron estudiar la diversidad genética y la diferenciación entre poblaciones; los polimorfismos de longitud de fragmentos amplificados (AFLP) sirvieron para determinar la diversidad genética, coeficientes de consanguinidad y endogamia, así como huella genética. Los microsatélites permitieron contestar preguntas evolutivas muy puntuales relacionadas con el monitoreo del flujo genético, introgresión (Vendramin et al. 2000) y análisis de paternidad (McCracken et al. 1999), hacer inferencias de parámetros demográficos y determinar patrones evolutivos de los procesos históricos del origen de especies. Las secuencias de ADN abordaron patrones de distribución biogeográfica e

historia evolutiva de los linajes (filogeografía), identificación y delimitación de especies. La principal limitación de la mayoría de los métodos radica en que sólo abordan una pequeña fracción del genoma, por lo que es necesario el uso de herramientas genómicas.

Los enfoques de agrupamiento bayesiano se derivan de las pruebas de asignación que usan genotipos individuales multilocus, para asignar en primer lugar a los individuos en grupos (poblaciones) de individuos para que los organismos de origen desconocido puedan asignarse a poblaciones potenciales de origen, teniendo en cuenta la probabilidad de que pertenezcan a cada población muestreada, sin suponer poblaciones predefinidas. Los programas más utilizados para estos análisis son Structure (Pritchard et al. 2000) y BAPS (Corander et al. 2004). Structure asigna a los individuos a un determinado número de poblaciones (K) tomando en cuenta sus genotipos, estimando las frecuencias alélicas de forma aleatoria y utilizando cadenas de Markov tipo Monte Carlo (MCMC) (Pritchard et al. 2010; Gaspari et al. 2013; Peacock et al. 2015). Mientras que BAPS usa datos de secuencias para determinar la estructura genética y permite obtener la asignación de individuos a grupos, donde el número de grupos está dado desde el supuesto de admixia; esta asignación a grupos se estima usando máxima verosimilitud (Corander et al. 2004)

Se han desarrollado estrategias que permiten inferir las discontinuidades genéticas entre poblaciones a partir de los genotipos individuales; esta estrategia funciona para resolver los vacíos que dejan el enfoque de aislamiento por distancia y los agrupamientos genéticos, los cuales no toman en cuenta el papel que tiene el ambiente en la estructura genética de las poblaciones, llamado autocorrelación espacial. Su fundamento se basa en que la probabilidad de las frecuencias alélicas de un sitio geográfico específico esté relacionada con frecuencias alélicas de sitios más cercanos que de sitios más alejados; también se puede estimar el número de poblaciones, asignar individuos a la población de origen y detectar individuos migrantes (Tensen et al 2016). Este tipo de método puede detectar estructuras en una fina escala espacial, incluso se pueden detectar el área de

contacto entre estas dos unidades genéticas, en contraste que no se estructuraron genéticamente sin la aplicación de datos espaciales (Colson et al. 2016).

Los estudios sobre Genética de la Conservación conforman una disciplina importante cuya evolución ha ido en aumento con la finalidad de contrarrestar la actual pérdida masiva de especies propiciada por rápido aumento de la población humana y los niveles de desarrollo resultado en una marcada degradación ambiental, particularmente en las últimas décadas, aumentando la extinción de especies cien o incluso mil veces en comparación con procesos naturales de extinción, precipitando así una nueva extinción masiva (Mendoza et al. 2007; Shivanna 2020). Este actual proceso de extinción inició en 1500 y ha afectado de forma particular a los vertebrados de los cuales se tiene documentada la extinción definitiva de 338 especies y otras 279 que se extinguieron en estado silvestre o están posiblemente extintas (Ceballos et al. 2015). Se estima que el 42 % de las 3,623 especies de invertebrados terrestres y el 25 % de las 1,306 especies de invertebrados marinos evaluadas en la UICN están clasificadas como amenazadas de extinción (Ceballos et al 2017). En el caso de los vertebrados terrestres de las 29,400 especies examinadas determinó que hay 515 especies al borde de la extinción (17% de los vertebrados evaluados) porque tienen menos de 1,000 individuos (Ceballos et al. 2020); los anfibios tienen a 41% de las especies están en peligro, en igual condición se encuentra 38% de los reptiles (Hoffman et al. 2010), se tiene catalogadas al 60% de las especies de primates dentro de alguna categoría de riesgo (Estrada et al. 2017).

El problema no radica sólo en la extinción de especies, además existe un enorme episodio de declives y extirpación de poblaciones lo cual se debe principalmente a la eliminación de poblaciones locales; esto tiene consecuencias negativas en el funcionamiento de los ecosistemas (Ceballos y Elrllich 2002; Ceballos et al. 2015); los vertebrados han experimentado una disminución en sus poblaciones de las 27,000 especies estudiadas el 32% tienen tendencias declive (Ceballos et al 2017), como ejemplo de esta defaunación se sabe que para 177 especies de mamíferos estudiados, todos han perdido el

30 % o más de sus rangos geográficos y más del 40 % de las especies han experimentado disminuciones severas de población (Ceballos et al 2017), en el caso de los primates se tiene documentado que el 75% tienen poblaciones en declive (Estrada et al. 2017). Las actividades humanas no solo están afectado a las poblaciones terrestres, pues hay evidencias de que los vertebrados marinos (peces, aves marinas, tortugas y mamíferos marinos) han disminuido en promedio de 22%, los peces marinos en 38% y las ballenas de 80 a 90% (McCauley et al. 2015)

Si bien solo 13% de especies de aves se encuentran en peligro de extinción los loros (psitaciformes) se encuentran entre los órdenes de aves más amenazados con el 28 % (111 de 398) de las especies existentes clasificadas como amenazadas según los criterios de la UICN (Berkunsky et al. 2014; Ola et al 2016). También las poblaciones de loros están disminuyendo como parte de este panorama se sabe que 56% de las especies de psitácidos presentan un declive en los tamaños de sus poblaciones (Berkunsky et al. 2014); como el caso de las poblaciones silvestres de loros grises africanos *Psittacus erithacus* que han disminuido en más del 50 % en muchas áreas debido a la sobreexplotación y la destrucción del hábitat (Dasgupta 2016), si bien se aprecia que la mayoría de las poblaciones de psitácidos están disminuyendo es necesario realizar estudios científicos para la gran mayoría de las especies que permitan corroborar estas apreciaciones (obs. Pers).

## **Los psitácidos**

El encuentro entre el hombre y el loro durante la historia no fue necesariamente desastroso. La figura del loro se conoce desde hace miles de años. En la cultura Moche de Perú (siglos I-VII dC) fueron adorados. En la cultura occidental, son mencionados tanto en la literatura griega como latina por Aesopus y Ovidio respectivamente. En todas las épocas y durante siglos, el interés humano en los loros ha surgido de su capacidad para imitar sonidos, pero también de su notable inteligencia y colores únicos. Siendo la propensión por reproducir nuestro lenguaje lo que despierta más interés y asombro. Actualmente son

capturados para alimento, adorno o trofeo de caza; también, para obtener sus plumas de vistosos colores y para tenerlos como mascotas, razón por lo cual se encuentran en peligro de extinción (Tejera y Artemis, 2001).

Al día de hoy se han identificado 390 especies de psitácidos en el mundo distribuidas en 86 géneros que incluye a loros, guacamayos, cacatúas, papagayos, periquitos, cotorras y loris. Sus dimensiones varían desde los 10 g (loros pigmeos, *Micrositta* spp.) hasta los 1.5 kg (Guacamayos). Las características morfológicas distintivas de este grupo de aves son un pico superior bruscamente curvado y coronado por una cera carnosa, lengua musculosa prensil, cabeza relativamente grande, cuerpo robusto y pies zigodáctilos, es decir, con dos dedos apuntando hacia adelante y dos apuntando hacia atrás (Tejera y Artemis, 2001).

Los loros son generalistas lo que representa una alta densidad y biomasa, en muchos ecosistemas tropicales y subtropicales (Terborgh et al. 1990; Collar 1997). Pueden emplear estrategias de cambio de dieta, provocando cambios de hábitat y movimientos para rastrear los recursos alimenticios. Presentan comportamientos de alimentación frugívoro que implica una gran diversidad de plantas incluyendo flores, frutas y semillas que son mordidas y en gran medida desperdiciadas (Collar 1997; Juniper y Parr 2010). Se han encontrado varios patrones, sugiriendo que las especies más grandes tienden a alimentarse en mayor proporción de semillas, mientras que las especies más pequeñas tienden a una alimentación más frugívora (Matuzak et al. 2008), y algunos loros también se alimentan de invertebrados (Collar 1997; Juniper y Parr 2010). Esta plasticidad en la dieta y la estrategia de alimentación puede influir en la medida en que los loros pueden responder a presiones humanas. Los loros tienen una función importante en los ecosistemas, aunque se les consideran como dispersores ineficientes ya que dañan las semillas; los loris (Loriinae) actúan como los principales polinizadores de la región de Australasia (Haugaasen 2008). Sin embargo, es muy poco lo que se sabe de las interacciones planta animal de los loros o el impacto de las poblaciones de loros en la dinámica de los bosques (Renton et al. 2015). Los

loros se agrupan en tres superfamilias (figura 1): Strigopoidea, Cacoatoidea y Psittacoidea (Joseph et al. 2011).

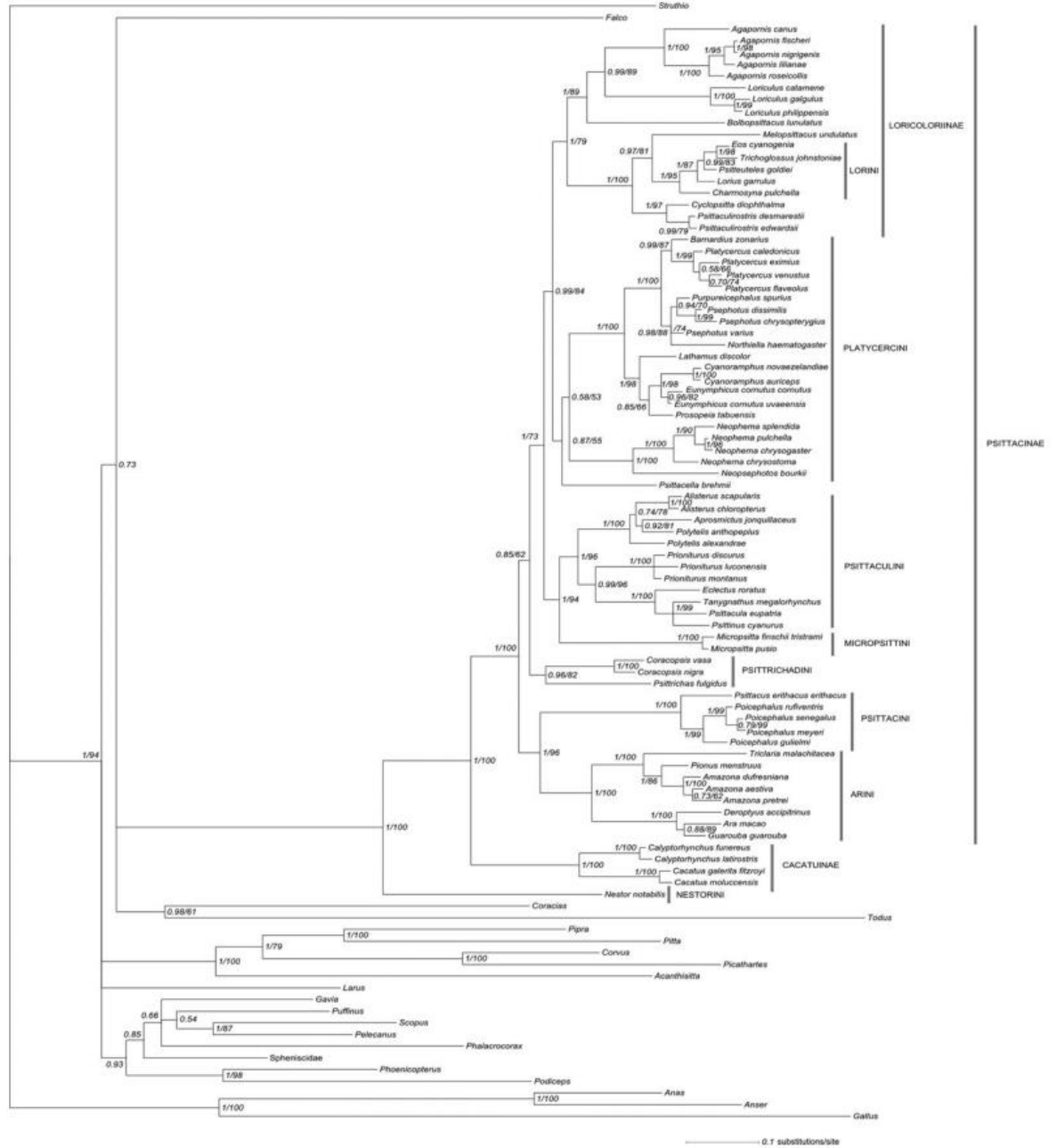


Figura 1. Árbol consenso de Inferencia Bayesiana del orden Psittaciformes, con la anotación de los nombres para cada clado (Schweizer et al. 2010).

## **Problemática de los psitácidos**

De las 390 especies de psitácidos existentes en el mundo, 111 (28 %) han sido catalogadas en riesgo de extinción y 56% presentan un declive en los tamaños de sus poblaciones, lo que significa que es la familia de aves más amenazada a nivel mundial (Pires, 2012). En América Latina y el Caribe, 44 de las 140 especies que existen están consideradas en riesgo de extinción; mientras que en México de las 22 especies 11 se encuentran en peligro de extinción; siete están amenazadas y cuatro bajo protección especial (Semarnat, 2010). La captura para el comercio local de mascotas se considera como la amenaza más crítica, otras amenazas importantes son la agricultura, la presión de la población rural, la destrucción de los nidos por los cazadores furtivos y el pastoreo agroindustrial (Berkunsky et al. 2014).

La eliminación, fragmentación y degradación de la cubierta vegetal natural afecta negativamente a las especies de psitácidos de diversas formas. La tala de selvas húmedas y secas, los incendios forestales y la tala selectiva de árboles que son ocupados como sitios de anidación afectan a la mayoría de sus poblaciones. Se calcula que esto ha contribuido a la degradación de más de 38 % del territorio nacional, con una pérdida de hábitat para 19 de las 22 especies, y de hasta 85% en los casos más drásticos (Snyder et al. 2000, Juniper y Parr 1998, Monterrubio-Rico et al. 2016). En este escenario de disminución progresiva y posible fragmentación de las poblaciones, es importante tener un plan de conservación para el grupo, que permita mantener la identidad genética de las poblaciones (Ryder, 1986).

En México, la captura de psitácidos con propósitos comerciales se ha intentado regular desde la década de 1970 (Iñigo-Elias y Ramos 1991). Se estima que se capturaban entre 65,000 y 78,500 pericos cada año. La tasa de mortalidad general para pericos capturados del medio silvestre excede 75% antes de llegar al consumidor final, lo que se traduce entre 50,000 y 60,000 pericos muertos (Cantú et al. 2007). En 2008, se estableció una veda total en la comercialización de psitácidos en México. Antes de esto, las especies



en aprovechamiento y las cuotas de captura todavía se autorizaban sin contar con conocimiento de la situación de las diferentes especies a lo largo de sus rangos de distribución y sin considerar la dinámica de las poblaciones en los diferentes hábitats, regiones o estados de la república.

Ante esta problemática, queda claro que los esfuerzos de conservación de hábitat y especies de psitácidos deben estar orientados a implementar estrategias que permitan una planeación sistemática de su biodiversidad, no obstante, para que esto sea eficiente es imprescindible contar con el conocimiento taxonómico, ecológico, reproductivo y geográfico (patrones de distribución) de este grupo. En el escenario de disminución progresiva y posible fragmentación de las poblaciones, es importante tener un plan de conservación para las especies, que permita mantener las poblaciones que formen unidades evolutivas, y que éstas tengan alta prioridad de conservación (Ryder, 1986).

### **Genética de la conservación aplicada en psitácidos**

Se han identificado 28 publicaciones en los últimos 22 años (desde 2000) concernientes a la Genética de la Conservación basadas en marcadores de microsatélites y secuencias mitocondriales y nucleares sobre genética de la conservación en psitácidos, que incluyen 23 especies. Si se tiene en cuenta que hay cerca de 390 especies de loros y cacatúas, el número de publicaciones concernientes a la genética de su conservación abarca una cantidad muy reducida de especies. Está claro que aún faltan muchas especies por atender y muchas de ellas deben tener una alta prioridad puesto como se ha manifestado existe una pérdida de las poblaciones de la mayoría de las especies de esta familia.

#### *Strigopoidea*

La familia de loros *Strigopoidea* está integrada por tres especies: kaka (*Nestor meridionalis*), kea (*Nestor notabilis*) y kakapo (*Strigops habroptilus*), todas endémicas de Nueva Zelanda y en peligro de extinción. Se han realizado estudios genéticos enfocados a

la conservación de estas especies (Wood et al. 2014). La propuesta de dos subespecies de kaka (*N. meridionales*), en las islas norte y sur de Nueva Zelanda, no obtuvo respaldo; sin embargo, sí se identificó un aislamiento genético entre las islas Norte y Sur a partir de nueve loci de microsatélites. Con base en estos resultados, se propone considerar a las dos poblaciones como dos Unidades de Manejo (MUs) y el traslado de kakas de la isla norte al sur simulando la dispersión natural (Dussex et al. 2015 a). Para el kea (*N. notabilis*), los datos de microsatélites indicaron la presencia de un cuello de botella antes de la llegada de los europeos a Nueva Zelanda, aproximadamente en un periodo de tiempo de 6,000 a 300 años, y no se observó una pérdida significativa de diversidad genética de los kea en los últimos 100 a 150 años, ya que no hay pérdida de haplotipos mitocondriales durante este periodo y los datos de los 15 loci de microsatélites no indican un cambio en la estructura poblacional al evaluar muestreos a través del tiempo, no obstante, es necesario conocer los actuales niveles de endogamia (Dussex et al. 2015 b).

El kakapo (*Strigops habroptilus*) es un loro nocturno que no vuela y en peligro crítico, pues ha desaparecido en casi todas las islas de Nueva Zelanda debido a la introducción de depredadores exóticos; actualmente tiene tres poblaciones en islas libres de depredadores. La población actual de 126 individuos enfrenta un cuello de botella, ya que de los 51 individuos fundadores todos, excepto uno, vienen de la misma población, lo que los hace particularmente susceptibles a la depresión por endogamia (Bergner et al. 2014). La baja tasa de eclosión en los kakapo (62%) indica que la depresión por endogamia puede ser un factor que contribuye a la lenta recuperación de la población.

A partir de 25 microsatélites se establecieron las relaciones de parentesco de 94 individuos con la finalidad de mejorar los programas de conservación del Kakapo (Bergner et al. 2014). Con los mismos microsatélites se ha encontrado evidencia de depresión por endogamia asociada con la homocigosidad materna que afectó la fecundidad de la hembra y el éxito de eclosión, en los machos homocigos se detectó más espermatozoides anormales. El impacto deletéreo de la endogamia particularmente en el éxito de eclosión tiene el

potencial de disminuir las tasas de crecimiento de la población, prolongando así el lapso de recuperación de esta especie (White et al. 2015). Con información de microsatélites y ADN mitocondrial, se caracterizó la historia genética y demográfica del kakapo, del que se analizaron 49 individuos vivos y 54 provenientes de museo. Con ello, se detectó una disminución significativa de la diversidad genética: el promedio de alelos de microsatélites disminuyó de 6.15 a 3.08 y la reducción de 17 a 3 haplotipos, de los cuales sólo se compartió uno entre las poblaciones histórica y contemporánea, evidenció un cuello de botella concordante con la llegada de los colonizadores europeos y el efecto de los depredadores introducidos a este ecosistema insular (Bergner et al. 2016).

#### Cacatuoidea

Para la cacatúa negra de Carnaby (*Calyptorhynchus latirostris*), se documentó una drástica reducción de 50% de sus poblaciones a partir de la década de 1960, debido a los efectos combinados de la caza furtiva ilegal, pérdida de hábitat, competencia por huecos de nidos y recursos alimenticios. Para aumentar el conocimiento y facilitar la toma de decisiones se describió la variabilidad genética con 20 microsatélites altamente polimórficos. Estos marcadores demostraron ser adecuados para detectar el comercio ilegal y proporcionaron una resolución genética extremadamente útil para contribuir a la conservación de sus poblaciones (White et al. 2009). Se examinaron a las especies cacatúa fúnebre (*Calyptorhynchus baudinii*) y cacatúa negra de Carnaby (*Calyptorhynchus latirostris*), ambas endémicas del sudoeste de Australia Occidental, por medio de 19 microsatélites; no se detectó disminución en la diversidad genética, pero sí cambios de alelos en las poblaciones de la región oriental, principalmente para la cacatúa negra de Carnaby, atribuido a la imposibilidad de que se formen parejas entre las poblaciones occidentales y orientales por eliminación de la vegetación nativa, estableciéndose tres Unidades de Manejo, dos para *C. latirostris* (occidente y oriente) y una para *C. baudinii* (White et al. 2014).

Para determinar cuáles fueron los efectos históricos de las fluctuaciones del nivel del mar en estructura genética de las cacatúas de las palmas (*Probosciger aterrimus*) y examinar las implicaciones en su conservación se examinó la estructura genética de mtDNA (dominio III, región de control) de 71 cacatúas de 17 sitios se obtuvieron 20 sitios polimórficos para 12 haplotipos agrupándose en seis clados de un paso. La mitad se vincularon en un clado que incluía aves del este de Nueva Guinea, Australia, y la otra mitad incluye aves del oeste de Nueva Guinea, con una divergencia entre el este y el oeste de 3.3%. Se observó una distancia genética de 0.39% entre los haplotipos del clado oriental, sugiriendo un ancestro común reciente. Los resultados indican que el aislamiento genético del este y oeste sucedió en algún momento durante el Pleistoceno, mantenidos por una barrera montañosa en la época en que se formaron extensos puentes terrestres en otras partes del área de distribución de la especie, y que esto ha mantenido su distintiva genética. Los linajes oriental y occidental son endémicos de cada área y deberían, por lo tanto, ser considerados para el estado de conservación independiente (Murphy et al. 2007).

### *Psittacoidea*

Para la especie en peligro crítico periquito vientre naranja (*Neophema chrysogaster*), de Australia y el sudeste de Tasmania, se analizaron catorce loci de microsatélites y el genoma completo de la mitocondria para 40 individuos, mostrando niveles moderados a bajos de variación genética, usando las estimaciones de heterocigosidad y riqueza alélica. El tamaño estimado de la población ha descendido de 150 pericos en 2004 a menos de 50 actualmente; por lo tanto, estos marcadores se pueden usar para determinar cambios en variación genética, parentesco, endogamia, flujo de genes, estructura genética y tamaño efectivo de la población tanto en las poblaciones silvestre como en la cautiva (Miller et al. 2013).

Se examinaron las secuencias del citocromo b para resolver la taxonomía de los pericos terrestres *Pezoporus wallicus*. La especie se distribuye de forma fragmentada en los

matorrales costeros del sudeste y sudoeste de Australia y la isla de Tasmania. Las divergencias dentro de las poblaciones orientales y Tasmania fueron muy bajas (0.0-0.6%); sin encontrarse una estructura genética entre ellas, evidenciando la existencia de flujo genético. Por el contrario, la divergencia entre las poblaciones orientales y occidentales fue alta (4.4-5.1%) (Murphy et al. 2011); esta magnitud de divergencia corresponde a la existente entre especies. Partiendo de este trabajo, la especie se dividió en dos: perico terrestre oriental (*Pezoporus wallicus*) y perico terrestre occidental (*Pezoporus flaviventris*). El perico terrestre occidental es una de las especies más amenazadas del mundo con aproximadamente 110 individuos, la mayoría de sus individuos se restringen al Parque Nacional Cabo Árido (Joseph et al. 2011).

El perico de Chatham (*Cyanoramphus forbesi*) es endémico de las islas Chatham de Nueva Zelanda. Se sabe que hibridan con el perico maorí cabecirrojo de Chatham (*Cyanoramphus novaezelandiae chathamensis*). A partir de un estudio con la región de control del ADN mitocondrial, se dividió el perico de Chatham en tres grupos de haplotipos; las principales diferencias entre los tres haplogrupos se encontraron dentro de los primeros 300 pb. El haplogrupo 3 incluyó loros genéticamente distintos a otras especies del género *Cyanoramphus*, mientras que los haplogrupos 1 y 2 estuvieron estrechamente relacionados con el perico maorí cabecirrojo de Chatham (Boon et al. 2001). Para medir la varianza genética en las poblaciones de periquitos de Chatham y detectar hibridación, se desarrollaron seis loci de microsatélites específicos de especie para el perico de Forbes (Chan et al. 2005). Los datos de microsatélites permitieron verificar la introgresión de alelos de *C. novaezelandiae chathamensis*, representando un problema para la conservación del raro perico de Chatham, detectando una extensa historia de hibridación en la población, puesto que no menos de 81% de todos los loros son híbridos. Sólo una pequeña proporción de aves con el morfotipo de perico de Chatham fueron genéticamente distintas del perico maorí cabecirrojo de Chatham, usando pruebas de asignación de ADN mitocondrial y microsatélites, por lo que la supervivencia del perico de Chatham dependerá de un

monitoreo cuidadoso y control genético de la población como una Unidad Evolutiva Significativa (ESU) para la conservación (Chan et al. 2006).

El Perico de Mauricio (*Psittacula eques*) es una de las especies insulares que habitan el océano Índico, las otras especies cotorra de las Seychelles (*Psittacula wardi*), loro de las Mascareñas (*Mascarinus mascarinus*), cotorra de Rodrigues (*Psittacula exsul*) ya están extintas. Los loros del género *Psittacula* se expandieron de la India a las islas del océano Índico donde divergieron y especiaron, de las cuales la única especie viva es *Psittacula eques* y de ahí colonizaron Asia y África (Kundu et al. 2012). El Perico de Mauricio pasó por un evento de cuello de botella; la actual población pasó de 20 individuos en 1980 a 500 en 2011, presentó relativamente niveles altos de heterocigocidad en los 16 microsatélites, presentando tres subpoblaciones, las cuales están bajo un efecto de homogeneización genética, derivada de las acciones de conservación (Tollington et al. 2013). Por medio de cuatro loci de microsatélites se detectó copula extra-pareja de 70 crías; solo seis coinciden con los perfiles genéticos de sus padres. Este comportamiento aumenta la variabilidad genética de la especie, permitiendo retener mayor variación genética (Tiawanna et al. 2009).

El loro gris africano (*Psittacus erithacus*) se extiende por el cinturón forestal de África Central y Occidental y es una de las especies más explotadas; de acuerdo con las cuentas recientes sobre el estado de esta especie en Camerún (Tamungang y Cheke 2012), se reconocen dos subespecies de loro gris africano (*P. e. erithacus* y *P. e. timneh*). La población de la isla Príncipe se describió originalmente como especie separada (*P. princeps*), pero actualmente se incluye en la especie nominal. Posteriormente se utilizaron 1,932 pb del genoma mitocondrial para aclarar las relaciones entre las dos subespecies reconocidas y la población de Príncipe. El muestreo incluyó 20 individuos de Príncipe, 17 de *P. e. erithacus*, y 13 de *P. e. timneh*. Encontramos que las dos subespecies continentales forman dos linajes independientes, que se separaron hace 2.4 millones de años (Ma), y que la población de Príncipe está compuesta por dos linajes que divergieron en alopatria. El linaje más común

desciende de los primeros loros colonizadores y evolucionó de forma aislada hasta 1.4 Ma; este linaje está más estrechamente relacionado con el *P. e. timneh* que con la subespecie *P. e. erithacus*. El segundo linaje consiste en ejemplares de *P. e. erithacus* del continente cercano que colonizaron la isla en tiempos más recientes (Melo y O’Ryan, 2007).

El lorito robusto del cabo (*Poicephalus robustus*) especie en peligro de extinción, se encuentra en los bosques de niebla de Sudáfrica, con menos de 1,600 individuos en libertad sobrevive bajo gran presión, debido a la fragmentación del hábitat, la recolección ilegal de aves silvestres y huevos para el comercio de mascotas (Downs et al. 2014

#### *Tribu Arinni*

El estudio de Russello y Amato (2004) fue la base para el desarrollo de más investigaciones para las especies del género *Amazona*. Utilizando secuencias de ADN mitocondrial, todas las subespecies del complejo *Amazona ochrocephala* están estrechamente relacionadas entre sí, separadas por distancias menores que las distancias entre miembros del complejo y otras especies de *Amazona*, y la división del complejo en tres especies (*A. ochrocephala*, *A. auropalliata*, y *A. oratrix*) no estuvo apoyada (Eberhard y Bermingham, 2004). No se detectó correlación entre la variación geográfica de las frecuencias de los alelos de microsatélites y los dialectos regionales del loro nuca amarilla (*Amazona auropalliata*); sí se detectó alta dispersión entre los machos de las poblaciones, en cambio existe un flujo de genes sesgado por las hembras. La fragmentación del hábitat no ha contribuido a la estructura de la población, sin embargo, se espera que potencialmente exista una reducción en el flujo de genes y la diversidad genética dentro de las próximas generaciones (Wright et al. 2005). Se recuperó la división del complejo *A. ochrocephala* en las tres especies *A. ochrocephala*, *A. auropalliata* y *A. oratrix* (Ribas et al. 2007a).

En el análisis filogeográfico del loro de frente azul (*Amazona aestiva*), basado en tres genes mitocondriales de 13 ejemplares, se soportaron dos clados, aunque con distancias

genéticas muy pequeñas (Ribas et al. 2007a). Se analizó la estructura genética de *Amazona aestiva* para identificar unidades de manejo y apoyar la planificación de conservación, analizando seis loci de microsatélites en 74 individuos, incluidas muestras de las dos subespecies (*A. a.aestiva* y *A. a.xanthopteryx*), sólo se detectó una diferenciación genética entre las poblaciones más distantes (Tocantis y Argentina), sin evidencia de endogamia dentro o entre poblaciones, lo que sugiere un apareamiento aleatorio entre individuos; tampoco se detectó una reducción reciente en el tamaño de las poblaciones (Leite et al. 2008). El análisis del fragmento de COI de 78 ejemplares de la especie recupera los dos grupos genéticos previamente identificados, el primero compuesto por las poblaciones nororientales correspondiente a la subespecie *A. aestiva* y el segundo en las localidades del suroeste que engloba a la subespecie *A. aestiva xanthopteryx*. Se detectó que ambas poblaciones han experimentado una expansión reciente probablemente debido a la expansión de la sabana, con bajo flujo de genes entre ellas (Caparroz et al. 2009a).

Se desarrollaron loci de microsatélites para el loro de San Vicente (*Amazona guildinguii*). Esta especie se considera vulnerable y los microsatélites se utilizaron para estimar la relación entre los individuos cautivos para ayudar en los programas de mejora genética que maximizan la diversidad genética y minimizan la endogamia (Rusello et al. 2005). La evaluación de siete loci de microsatélites detectó que los cazadores furtivos retiran las nidadas completas para las especies *Amazona collaria* y *Amazona agilis* (Ringler et al. 2012).

La filogenia reconstruida del complejo *Amazona leucocephala* a partir de ADN mitocondrial reveló grupos monofiléticos bien soportados que corresponden a las tres subespecies descritas formalmente (*A. leucocephala bahamensis*, *A. leucocephala caymanensis* y *A. leucocephala hesterna*); no se recuperaron dos subespecies (*A. l.leucocephala*, *A. leucocephala palmarum*). Para el perico de Bahamas (*A. leucocephala bahamensis*) se recuperaron tres unidades de conservación: las poblaciones de las islas Abaco, Inagua y Acklins. La identificación de la diversidad críptica en loros Bahamas tiene



implicaciones inmediatas para la conservación. Esta división implica que la población de Abaco requiere de un manejo inmediato debido al pequeño tamaño de su población (70 loros) y la destrucción de su hábitat. La población de Inagua es más grande (4,450 loros) y con una alta variación genética, además de que su hábitat no está siendo modificado; mientras que la población de la isla Acklins se encuentra extinta (Rusello et al. 2010).

Se analizaron secuencias de la región control y seis loci de microsatélites de individuos *Ara ararauna* muestreados a través de la distribución de la especie en Brasil. Los análisis de la estructura genética basados en ADNm mostraron evidencia de la existencia de dos poblaciones principales en el oeste y este de Brasil, que comparten algunos haplotipos de baja frecuencia. Este patrón filogeográfico parece haberse originado tras el aislamiento geográfico de poblaciones de *A. ararauna* hace aproximadamente 374,000 años y ha sido mantenido por el flujo génico restringido y la filopatría de las hembras. En contraste, la variación en los microsatélites no estuvo estructurada geográficamente. Debido a que las hembras se dispersan menos que los machos, las dos poblaciones regionales con haplogrupos de mtDNA bien diferenciados deberían considerarse como dos unidades de manejo diferentes para propósitos de conservación (Caparroz et al. 2009b).

Se realizó un análisis con dos genes mitocondriales (COI y ND2) de las especies de guacamaya verde (*Ara militaris*) y guacamaya verde limón (*Ara ambiguus*), especies cercanas, relación que se refleja por su similitud morfológica: la guacamaya verde tiene una distribución disjunta en México, así como en varias áreas de América del Sur; mientras que las guacamayas verdes limón tienen dos poblaciones más disyuntas desde Honduras hasta el este. Los datos apoyan el reconocimiento de las dos especies como linajes evolutivos distintos y se encontró estructura filogeográfica dentro de *A. militaris* entre las poblaciones recolectadas en el este y oeste de México; no se detectó divergencia de linaje entre *A. ambiguus* de Costa Rica y Ecuador (Eberhard et al. 2015). Se analizaron las poblaciones con nueve microsatélites, se usaron para analizar 86 muestras en siete localidades de guacamaya verde a lo largo de la Sierra Madre Occidental, la Sierra Madre del Sur y la Sierra

Madre Oriental en México. Se detectaron niveles moderados de diversidad genética, una alta estructura genética con una ruptura genética entre localidades separadas por la Meseta Central y el eje Volcánico Transmexicano, que sirven como barreras geográficas. Se observó que en tres localizaciones hay exceso de homocigotos, lo que podría indicar un pequeño tamaño efectivo de la población y en combinación con el aislamiento genético podría aumentar el riesgo de extinción de la especie, con dos grupos genéticos. Para el primero, comprende localidades en la Sierra Madre Occidental y la Sierra Madre del Sur el segundo, localidades de la Sierra Madre Oriental (Rivera-Ortíz et al. 2016). Los dos grupos deben considerarse como unidades de conservación independientes (Eberhard et al. 2015 y Rivera-Ortíz et al. 2016).

### **Modelo de estudio**

El género *Pionus* comprende ocho especies de loros que se distribuyen principalmente en los bosques de montaña y desde el norte de México hasta Sudamérica (Juniper y Parr 1998). Las especies del género *Pionus* presentan una distribución alopátrica, consistente con patrones de especiación por vicarianza, limitados por barreras que afectan a otros grupos de montaña, como la accidentada topografía que aísla los bosques de montaña que se encuentran rodeados por tierras bajas más cálidas (Ribas et al. 2007b). La diversificación del género *Pionus* se dio durante el Pleistoceno aproximadamente hace 4.7 y 5.8 millones de años (Ribas et al. 2007b).

El loro corona blanca (*Pionus senilis*) (figura 2) es la única especie del género que se distribuye hasta el norte de Mesoamérica. Se observa desde el sur de Tamaulipas, cubriendo la costa de la vertiente del Golfo de México, adentrándose a la península de Yucatán y Chiapas hasta el oeste del Istmo de Panamá. Las leyes mexicanas la catalogan como especie Amenazada (SEMARNAT, 2010), mientras que la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza las cataloga como en preocupación menor (IUCN, 2016), se encuentra en el apéndice II de CITES, donde figuran especies que no están necesariamente

amenazadas de extinción, pero que podrían llegar a estarlo a menos que se controle estrictamente su comercio (CITES, 2016).



Figura 2. Loro corona blanca (*Pionus senilis*)

En México, la especie sufre disminución de sus poblaciones e incluso ha sido extirpada al oeste de Quintana Roo y algunas zonas del Golfo de México (Salinas-Melgoza, y Renton, 2008), principalmente debido al impacto de las actividades humanas sobre su hábitat que incluye el bosque tropical perennifolio, bosque de encino y bosque bajo de montaña, el cual ha presentado una alta tasa de deforestación, principalmente para realizar actividades agropecuarias (Cantú et al. 2007). Como consecuencia de estas prácticas, de los 365,235 km<sup>2</sup> que comprendía la distribución histórica de la especie, actualmente sólo se extiende a 175,798 km<sup>2</sup>, perdiendo casi 51.8% de su rango de distribución y sólo 16.2% de esta superficie se encuentra protegida (Monterrubio-Rico et al, 2016). Esta especie también es comercializada en el mercado de mascotas: entre 1979 y 2005 se otorgaron permisos durante siete años de capturar ejemplares de forma legal con un promedio anual de 500 loros cabeza blanca, entre 2000 y 2001 se aseguraron 849 ejemplares de esta especie,

además se estima que al menos entre 2001-2006 se vendieron 89 ejemplares (Cantu et al. 2007). Los datos de la especie en los países de Centroamérica son escasos.

Ante esta problemática, queda claro que los esfuerzos de conservación del hábitat y del loro corona blanca deben poner especial énfasis en la pérdida de las poblaciones como el indicador más sensible de la pérdida de diversidad genética de esta especie. Al ser la pérdida de las poblaciones el anuncio de una probable extinción de la especie, es indispensable generar información que estime su situación actual y la estructura de las poblaciones remantes, incluyendo información genética sobre flujo génico y efectos de la fragmentación de los hábitats, con la finalidad de integrarla en planes de conservación en los cuales se mantenga la mayor variación genética y que permita mantener la identidad genética de las poblaciones que formen unidades evolutivas, además, que éstas tengan alta prioridad de conservación (Ryder, 1986). Este trabajo se enfocó en desarrollar un modelo geográfico del área potencial disponible para la especie, con el propósito de identificar los sitios adecuados para la supervivencia de las poblaciones. Estos resultados nos permiten hacer predicciones de las condiciones presentes en las zonas de distribución de la especie y el comportamiento que tendrán ante los cambios ambientales provocados por el cambio climático (Martínez-Meyer et al. 2012), de esta forma se identificará el estado, número y tamaño de las poblaciones de *Pionus senilis*. También se realizó un estudio filogeográfico con base en genes mitocondriales para identificar los principales eventos históricos, climáticos y geológicos, que dieron forma a la actual distribución y diversificación de los linajes de *Pionus senilis*. Por último, se identificó por medio de genes mitocondriales la correspondencia geográfica de ejemplares en cautiverio con la finalidad de saber de dónde provienen los ejemplares que se encuentran cautivos e identificar cuáles son las poblaciones que están abasteciendo este mercado ilegal.

## OBJETIVOS

### ***General***

Realizar un modelo de centroide de nicho actual que nos permita evaluar la pérdida y las características del hábitat del loro corona blanca, así como analizar la diversidad y estructura genética contemporánea de esta especie, para generar estrategias de conservación.

### ***Particulares***

1. Determinar el impacto provocado por el cambio de uso de suelo sobre el área de distribución potencial de la especie y caracterizar el centroide de nicho actual y desde los diferentes escenarios de cambio climático.

2. Analizar la diversidad y estructura genética dentro y entre poblaciones del loro corona blanca, identificar los principales eventos históricos y geológicos en México y Centro América, que dieron forma a la distribución y diversificación de *Pionus senilis*.

3. Identificar la correspondencia geográfica de ejemplares cautivos en México de *Pionus senilis* a partir de tres genes mitocondriales (COI, ND2 y ND4).

## PRESENTACION DE LA INVESTIGACIÓN

Esta tesis se conforma por tres capítulos. En el Capítulo I, se desarrolló un modelo geográfico del área potencial disponible para la especie con el propósito de identificar los sitios adecuados para la supervivencia de la especie. Estos resultados nos permitieron realizar un modelo de centroide de nicho tanto para el periodo actual como para predicciones futuras en diferentes escenarios de cambio climático. También se estimó la pérdida de la cobertura forestal en la distribución potencial del loro corona blanca (*Pionus senilis*).

En el Capítulo II, se presenta un estudio filogeográfico de las poblaciones de *Pionus senilis*, que permite evaluar los procesos históricos que determinaron la actual estructura de los linajes genéticos identificados; este capítulo fue publicado en la revista *Biota Tropical*.

En el Capítulo III, se identificó que los ejemplares en cautiverio en la zona del valle de México se agrupan en el linaje norte de la especie, esto tiene implicaciones importantes en la conservación de estas poblaciones, puesto que ser las poblaciones más cercanas a la Ciudad de México las hace las más saqueadas y cazadas ilegalmente para abastecer el mercado ilícito de mascotas, ya que ninguna de las especies de pericos que se distribuyen de forma natural en territorio nacional pueden ser comercializadas de forma legal a partir de la modificación que se realizó a la Ley General de Vida Silvestre en 2018.

Finalmente, en la discusión general de la tesis se atienden de manera integral los diferentes temas.

Type of the Paper (Article)

# Current and future habitat conservation of the white-crowned parrot (*Pionus senilis*) based on ecological niche modeling

Canek Rivera-Arroyo<sup>1</sup>, Patricia Escalante-Pliego<sup>2\*</sup>, José Alberto Cruz<sup>3</sup>, Damián Aguilar-Torres<sup>4</sup> Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, ORCID: 0000-0002-9201-3663; circoaty@gmail.com

<sup>2</sup> Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, ORCID: 0000-0002-5531-263X; tilmatura@ib.unam.mx

<sup>3</sup> Chignahuapan, 72570, Puebla, México. ORCID: 0000-0003-0260-2219; cruzsilvajac@yahoo.com.mx

<sup>4</sup> Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, ORCID: 0000-0002-6271-5760; damian\_190388@hotmail.com

\* Correspondence: tilmatura@ib.unam.mx; Tel.: +52 5554002995

## Abstract:

The White-capped parrot (*Pionus senilis*) is the only species of this genus distributed throughout Mesoamerica and lives in tropical rain and cloud forests. Although its populations are considered abundant, habitat loss and the capture of individuals for the pet trade are causing a decline in their populations. However, this species has not been included in any risk category by the IUCN. Population densities were estimated based on three-month fieldwork to understand the present and future problems that this species faces. Ecological niche modeling was used to identify the most suitable areas for the species for today and future scenarios.

The results show that the potential geographic distribution of the White-capped parrot is of 585,034 km<sup>2</sup>, of which one-third is located in Mexico (190,656 km<sup>2</sup>) and two-thirds in Central America (394,171 km<sup>2</sup>). Population densities of the Mexican populations adjust to the niche centroid population density pattern suggested by the models agreeing with the northern populations that had the highest densities with the most suitable environmental conditions. It is estimated that by 2050, under the least drastic scenario of climate change (RCP 2.6) they will conserve 496,972 Km<sup>2</sup> (84.9%) of the potential geographic distribution of the species. In contrast, in the most drastic scenario (RCP 8.5) the reduction implies that only 315,038 km (54.5%) of the current distribution would remain. The potential geographic distribution decrease in 2070 for the less drastic scenario (RPC 2.6) projects that 359,332 Km<sup>2</sup> (61.4%) will be conserved, while the decrease in RCP 8.5 values would conserve 286,920 Km<sup>2</sup> (46.9%) of the current distribution. These scenarios show the importance of the Natural Protected Areas in the Sierra Madre Oriental (Mexico), the Sierra Madre del Sur (Mexico), the Selva Maya (Guatemala), and the Central American Mountains as the areas with the highest probability for the conservation of this species.

**Keywords:** niche centroid, population density, climate change, potential distribution, Psittacidae species.

---

## 1. Introduction

To study extinction processes, it is important to know the abundance and distribution of a species since these variables are used to evaluate the conservation status and develop a management plan. An episode of population decline and

extirpation often precedes species extinction. These changes also have negative consequences for ecosystem functions [1]. The populations of 56% of psittacine species are currently declining [2].

The white-crowned parrot is threatened the most by the capture of individuals for the pet trade, habitat destruction and degradation, and climate change [3]. However, it is difficult to document population dynamics in the entire distribution area of a species, given the high-related expenditures and the small number of available financial supports [4].

Ecological niche modeling is a tool that analyses the ecological factors that limit species distribution by projecting them in potential geographic distribution [5,6,7]. Algorithms use climatic variables to estimate the potential distribution of a species based on presence-only records [8]. Results have allowed the prediction of the distribution and abundance of a species when the conditions that determine its structure change due to anthropogenic or natural factors [7]. In climate change prediction models, these climate changes (represented by climatic variables such as temperature and precipitation) can modify the distribution and abundance of a species. It is therefore necessary to analyze how climatic variables change species' occurrence patterns to understand their conservation possibilities under different change scenarios [9].

Climatic and topographic variables have also been used to generate potential distribution models that show that temperature, precipitation, and topography affect a species' habitat selection and demographic rates [10,11]. Additionally, the niche centroid distance concept suggests that the abundance of a species decreases as the distance to its optimal point (niche centroid) increases within an ecological space [12,13]. Currently, niche centroid studies, together with potential distribution models, help us in the conservation of species in different geographical contexts and at different scales. [14,15,16].

The white-crowned parrot (*Pionus senilis*) is classified as of Least Concern by the International Union for Conservation of Nature [17]. It is included in CITES Appendix II [18] due to pressures from the pet trade that affect its populations. In Mexico, the species is considered as threatened [19]. Its distribution encompasses the south of Tamaulipas, the Gulf of Mexico coast, the Yucatan Peninsula, Chiapas, Guatemala, the Caribbean coast of Belize, Honduras, Nicaragua, and the west of the Isthmus of Panama [20]. The species is mainly found in lowlands up to 1,500 m above sea level [12,22]. Its main habitat is tropical rainforest, pine-oak forest, savannah, and lower montane forest. It can also be found in disturbed areas, secondary forests, or crop areas [23] and in maize and mango plantations (personal observation). In Mexico, populations of this species have declined to the extent that populations in the west of Quintana Roo and some areas in the Gulf of Mexico have even been removed [20], mainly due to the impact of human activities on its habitat. It is well known that the deforestation rates in tropical rain, oak, and lower montane



forests are high, mostly because the land is cultivated to carry out farming activities [24].

Considering the conservation problems faced by the white-crowned parrot species and the need to improve conservation actions, the objectives of our study were to estimate the *Pionus senilis* population densities in Mexico; to evaluate the contribution of the current records (2008-2018); to predict the potential geographic distribution, the relationship between the density and the climatic niche by means of the distance to the niche centroid of the species; to assess the impact caused in Mexico by land cover change (understood as the transformation of the original vegetation cover by anthropogenic factors); and to determine how much of the potential geographic distribution is protected by the natural reserve systems in Mexico and Central America.

## 2. Materials and Methods

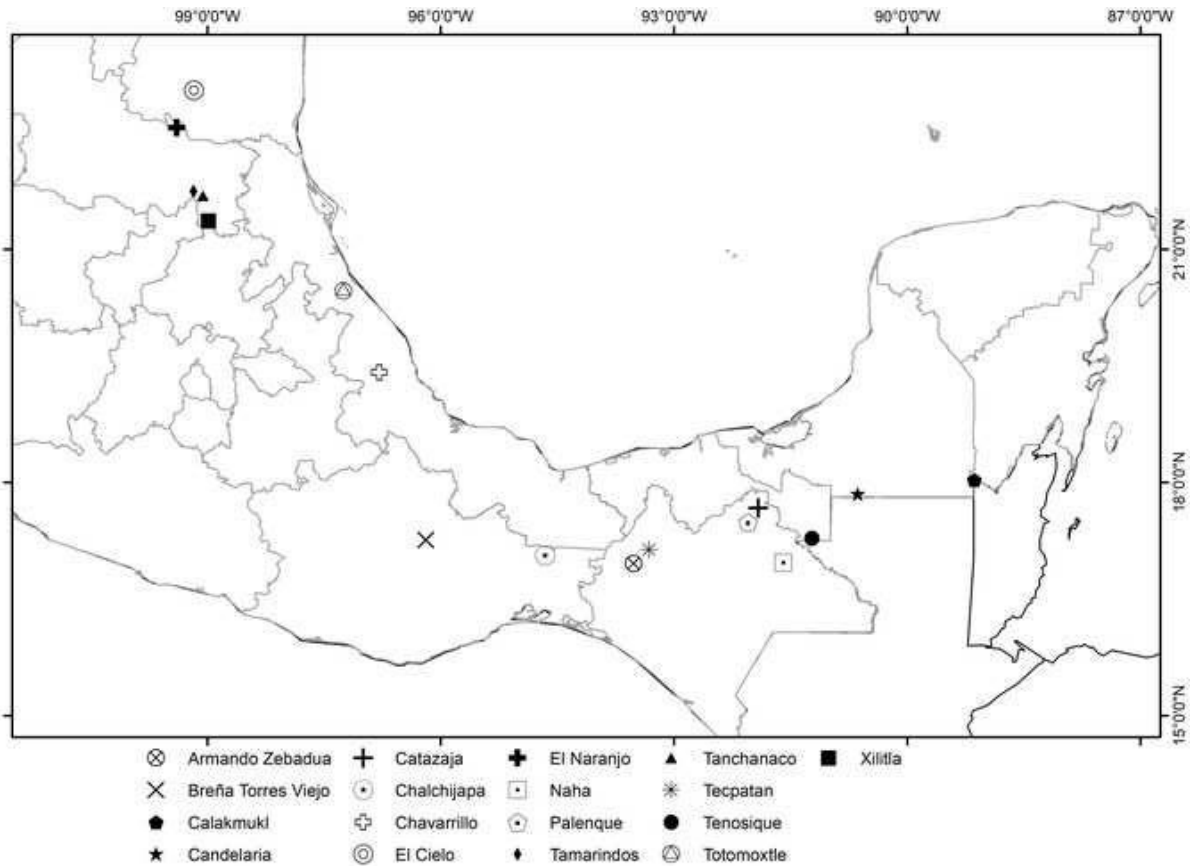
### 2.1. Population densities of *Pionus senilis*

The fieldwork was carried out during the breeding season of 2018 (between March and May) in 17 localities in Mexico (Table 1; Figure 1) that were previously selected from the evidence of species present in the last ten years (2008- 2018).). To see how populations behaved in different habitats, four different types of habitats were selected to see how the populations behaved in each: primary forest, patches of secondary forest, agricultural areas, and semi-urban areas, which differ markedly in their structural and floristic composition. Primary forests are typically extensive masses of more than 500 ha of continuous forest, mainly within a Protected Natural Area (PNA). Secondary forest patches are small remnants (generally <20 ha) that were selectively felled in the past but retained a closed canopy and an important floristic composition. Agricultural areas are large expanses of agroforestry systems with a variable shade canopy of remnant forest trees, naturally regenerated species, and planted fruit and timber trees. Semi-urban areas are populated areas associated with forest masses larger than 100 ha.

**Table 1.** Localities studied in Mexico for the white-crowned parrot, with number of transects and type of habitat.

Location	Number of transects	Type of habitat
Armando Zebadua	5	Forest patch
Breña Torres Viejo	5	Forest patch
Calakmul	5	Primary Forest
Candelaria	5	Agriculture
Catazaja	5	Agriculture
Chalchijapa	5	Primary Forest
Chavarillo	5	Semi-urban area
El Cielo	6	Semi-urban area
El Naranjo	5	Semi-urban area

Naha	6	Primary Forest
Palenque	5	Semi-urban area
Tamarindos	4	Agriculture
Tanchanaco	4	Agriculture
Tecpatan	5	Agriculture
Tenosique	5	Agriculture
Totomoxtle	4	Agriculture



**Figure 1.** Sampling locations for the white-crowned Parrot (*Pionus senilis*).

Surveys were conducted using linear transects because they are considered more efficient and possibly less biased than point counts [25,26,27], assuming that line transects tend to produce higher encounter rates per unit of effort than point counts [28]. It can be highly advantageous to use this method to search for rare species, since the transect routes are important for such species and they can be traveled, especially if the terrain is very uneven. A disadvantage to counting points is that errors when estimating distance to subjects are squared in density calculations, which means that distance estimates must be especially precise [29]. There may be a problem if the routes are too close to each other because a parrot

may very likely be observed near the next sampling route, causing a serious bias that is usually greater in transect counts than in point counts. Therefore, it is better to ensure that routes are spaced out by two kilometers [30].

We surveyed 83 transects. Each transect measured 800 m long with no fixed width [31,32]. Most of the localities were found in altitudes between 0 and 900 meters above sea level, although some were at 1,350 meters above sea level. Transects were separated by 2000 meters to increase their independence [30]. The same person took all transects, and the count along each transect was performed only once. The method consisted of walking in a straight line to count individuals and measuring the perpendicular distance to everyone using a laser range finder and the observation angle [31]. Observations were made considering the following aspects: all individuals were counted, all individuals were registered in their initial position (never in movement), and all measurements were exact; therefore, possible auditory records were not considered [28]. Counts were made from sunrise to 11 am since the parrots are the most active at this time of day [20], and individuals can be seen clearly in the morning daylight.

To estimate the density of white-crowned parrots (individuals/km<sup>2</sup>) in each surveyed locality using Distance 6.0 software [33] and included all the transects where the presence of the species was detected. We included the identifier, length, number of individuals, and distance perpendicular to the transect [34]. An exploratory analysis to establish the most suitable detectability value ( $w$ ) using a semi-normal model (“half-normal”) with cosine adjustment terms (Hnc).

Half-normal, negative exponential, uniform, and hazard-rate with cosine adjustment (Hnc), polynomials (Hnp), and cosine (Unc) terms were used. Following the principle of parsimony, the model was selected based on the minimization of the Akaike Information Criterion (AICc; [26]). Estimation was performed post-stratifying for the locality variable; the density of each locality was calculated using the detection function for each model and the size of the cluster.

## 2.2. Ecological niche models

Models of potential geographic distribution were generated for current and future projections using MaxEnt software [35] with 1,357 records (figure 2A) that were obtained from the electronic databases of the National Commission for the Knowledge and Use of Biodiversity (537 records) [36] and the Global Biodiversity Information Facility (809 records) [37], and the 11 records the field work of this study for all known distribution of the species ranging from Mexico to Panama. No duplicate entries were used, and each was spatially unique in a ~1 km resolution. All 19 climatic variables available in Worldclim Project 2.1 [38,39,40,41] were used. Although it has been shown that the application of all the climatic variables can cause an over-fitting of the model [42], using all the variables is a conservative approach that is more reliable for estimating the potential geographic distribution of a species [43], mainly with the uncertainty that is generated when making future projections [44]. All variables performed best in time projections [45], surely because

MaxEnt considers environmental variables separately when building models and provides stable rankings for the importance of variables [46]. All variables had a resolution of  $0.008333^\circ$  (~1 km) and the models were built and evaluated for the geographic space where occurrence data were exclusively available for an additional buffer of  $2^\circ$  [47,48]. We modified the default options in Maxent by assigning ten replicates of the model that were generated using the bootstrap method. 30% of the registries was used to validate the model. Options created response curves making “pictures of predictions,” “do jackknife” measured variable importance, auto-features were activated in MaxEnt, and “do campling” was deactivated [49]. The logistic output of the models was selected. The generated models were reclassified as binary maps (presence/absence) using the minimum training presence threshold because it has the lowest omission values and the smallest presence area, which allows for the elimination of commission errors [50].

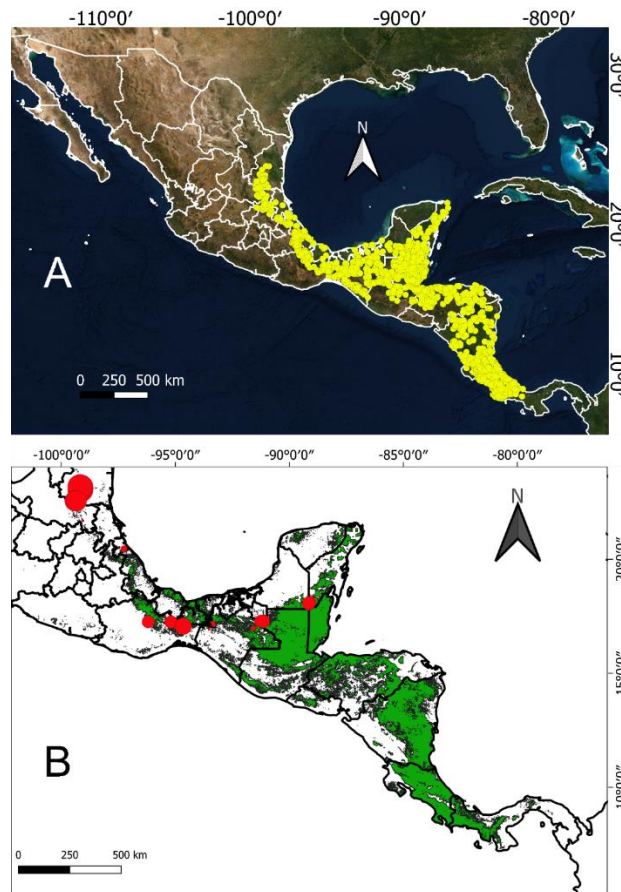
Models were evaluated under the Partial Receiver Operating Characteristic (ROC), which weighs omission errors, does not take absences into account, and only evaluates the range of predicted values [51]. The tool for Partial-ROC version 1.0 [48] was used. To obtain the adequacy values, the two data subsets were contrasted with the reclassified model (MaxEnt). Also, the number of objects associated to the different adequacy values was extracted and divided between the total objects of the model. 50% of bootstrap points were used, the number of samples with replacement was 1,000, and the omission threshold was 95%. The radio value of the 1,000 iterations of the data used for training and testing models was averaged, and the probability that the value would be equal to or less than one was tested using a Z-test [51]. Models with good performance had radio average values greater than one and probability values of zero.

Future projections were generated using four scenarios of different greenhouse gas concentrations. Representative concentration pathways (RCP) of 2.6, 4.5, 6, and 8 were projected in a near future (2046-2065) and in a distant future (2081-2100), using de MIROC-5 General Circulation Model. The extrapolation area to future projections includes all countries within the distribution range of the species, namely Mexico, Guatemala, El Salvador, Belize, Honduras, Costa Rica, and Panama. The extrapolation area does not include other adjacent countries because the main goal is to evaluate the role of PNAs in the conservation of *Pionus senilis* during the climate change event in the countries responsible for its conservation.

### 2.3. Niche centroid

To model the spatial distribution of the density of the white-crowned parrot, we extracted the values of the environmental variables included in the ecological niche model for all pixels where the binary distribution map obtained in the previous step predicted the species as "present" in ArcGis v. 10.1 [52]. These data were then organized into a matrix containing the values of the environmental variables (columns) in the pixels (rows) where the species was predicted to be "present". The

environmental variables were standardized in  $z$  to allow direct comparisons between dimensions; This procedure makes the variables measured at different scales and units comparable and reduces some problems related to collinearity [53,13]. As the standardized variables have a zero mean, the multi-dimensional zero point represents the niche centroid using the Mahalanobis distance [54]. The value of the niche centroid is where all climatic variables are equal to zero [55]. Using the best-fit regression, in this case the polynomial regression (Figure 2B)—we relate the current density to the distance niche centroid. To identify the spots with the shortest distances to the centroid (i.e., greatest expected density) through the entire potential area, distance values were classified in quartiles [55,13]. We generated a map niche centroid for current and future models for the white-crowned parrot to observe both the change in the potential geographic distribution area and the change between the most favorable climatic conditions in the population density of the species within its potential geographic distribution.



**Figure 2.** Presences records (A) and Current potential geographic distribution (B) of the White-crowned Parrot (*Pionus senilis*), and population densities (red dots, size = density). Black lines = borders between countries and Mexican states.

#### 2.4. Changes in land use

To evaluate change in vegetation cover, we used two databases that allow evaluating land use in Mexico only, since for the rest of the distribution area, and there are no complete databases that allow this analysis. These were series II and V of land use change in Mexico [56,57], ). Using a link in the database allowed identifying the loss of the White-crowned parrot habitat. By using ArcGis 10.1 [52], both databases were reclassified, and non-suitable areas were considered, including urban, agricultural, livestock farming, and pastures.

### 3. Results

#### 3.1. Population densities of *Pionus senilis*

In total, we obtained 32 records from our transects and sighted 221 white-crowned parrots in 11 of the 17 localities sampled. Individuals were not registered in Palenque, Catazaja, Candelaria, Chavarrillo, Xilitla, and Tamarindos, so they were not included in the Distance analysis. The recognition of individuals was procured in an average distance of  $47.7 \pm 28.9$  m (range = 17-120 m, n = 29). The density model with the lowest AIC was chosen for each locality (Table 2) It can be observed that in agricultural areas the densities are small. In the case of Tanchanaco it is 4.3 (individuals/km<sup>2</sup>) and Totomoxtle 13.3 (individuals/km<sup>2</sup>); in the forest patches, different density sizes were observed, 8.68 (individuals/km<sup>2</sup>) in Armando Zebadua, Tecpatan of 12 (individuals/km<sup>2</sup>) and in Breña Torres Viejo 28.93 (individuals/km<sup>2</sup>).

**Table 2.** Models according to the AIC criteria, densities, and deviations in each one of the localities of *Pionus senilis*.

Localidad	Model	Density (ind/km <sup>2</sup> )	DS
Selva El Ocote	Uniform/Cosine	8.68	4.68
Breña Torres	Hazard/Cosine	28.93	11.32
Calakmul	Uniform/Cosine	26.53	9.64
Chalchijapa	Hazard/Cosine	36.22	12.24
El Cielo	Half- normal/Hermite	57.20	18.37
El Naranjo	Half- normal/Hermite	46.78	28.84
Naha	Uniform/Cosine	9.07	8.14
Tanchanaco	Uniform/Cosine	4.30	2.58
Tecpatan	Uniform/Cosine	12.05	11.57
Tenosique	Hazard/Cosine	29.28	9.45

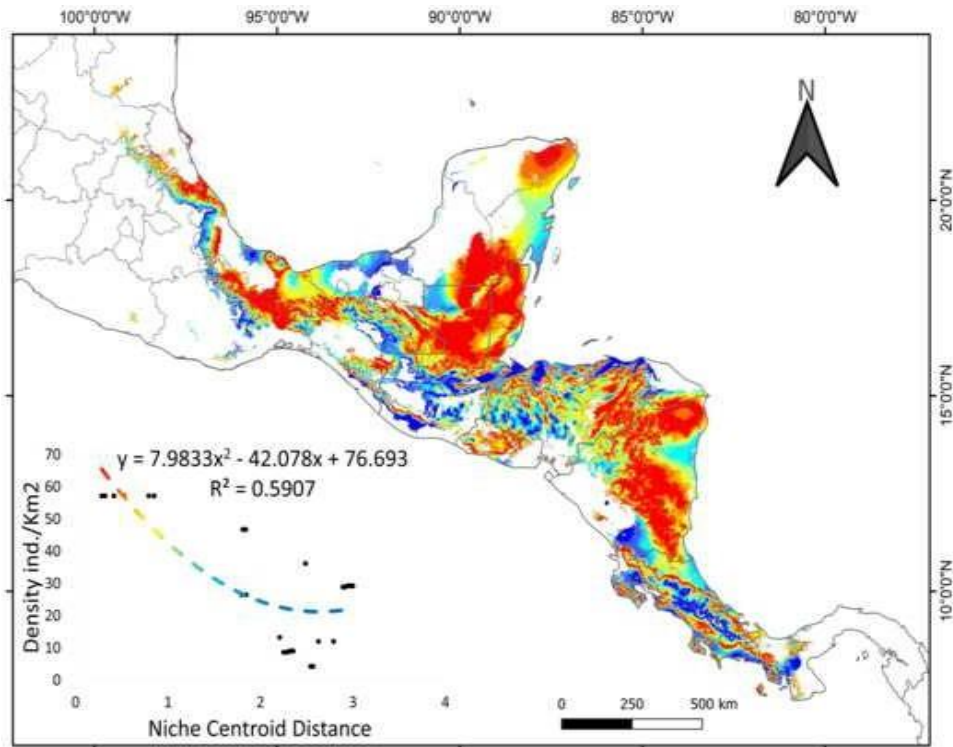
As can be seen, the habitats with higher densities were primary forests: Calakmul with 26.53 (individuals/km<sup>2</sup>), Tenosique with 29.28 (individuals/km<sup>2</sup>), and Chalchijapa with 36.22 (individuals/km<sup>2</sup>), although Naha presented a lower density (9.07 individuals/ km<sup>2</sup>). Finally, the highest densities were registered in two localities in the semi-urban area: El Naranjo with 46.78 (individuals/km<sup>2</sup>)

and El Cielo 57.2 (individuals/km<sup>2</sup>); this may be associated with factors such as the availability of food resources. Habitats with forest in the localities seem to have optimal conditions for the white-crowned parrot populations, although the density variations may be associated with the difficulty to perform observations in areas with a dense forest coverage such as Naha, while in areas with clear areas or with a vegetation that is not so closed there is more possibility of meeting of parrots (Figure 2).

### 3.2. *Potential geographic distribution and niche centroid*

The obtained potential geographic distribution (Figure 2) had better predictions than would have been expected by chance (X<sup>2</sup> test, with all models:  $p < 0.01$ ,  $DF = 1$ ). Also, the potential geographic distribution of the white-crowned parrot showed low omission levels (i.e., the model is good for predicting most of the data from the primary source), indicating a predictive power higher than 85% for presence data. The current potential geographic distribution predicts that the species is distributed throughout 585,034 km<sup>2</sup>, from the south of Tamaulipas to the north of Panama. Mexico has the most distribution area (190,656 km<sup>2</sup>), followed by Nicaragua (103,798 km<sup>2</sup>), Guatemala (94,620 km<sup>2</sup>), Honduras (94,387 km<sup>2</sup>), Costa Rica (49,733 km<sup>2</sup>), Panama (30,240 km<sup>2</sup>), and Belize (21,600 km<sup>2</sup>).

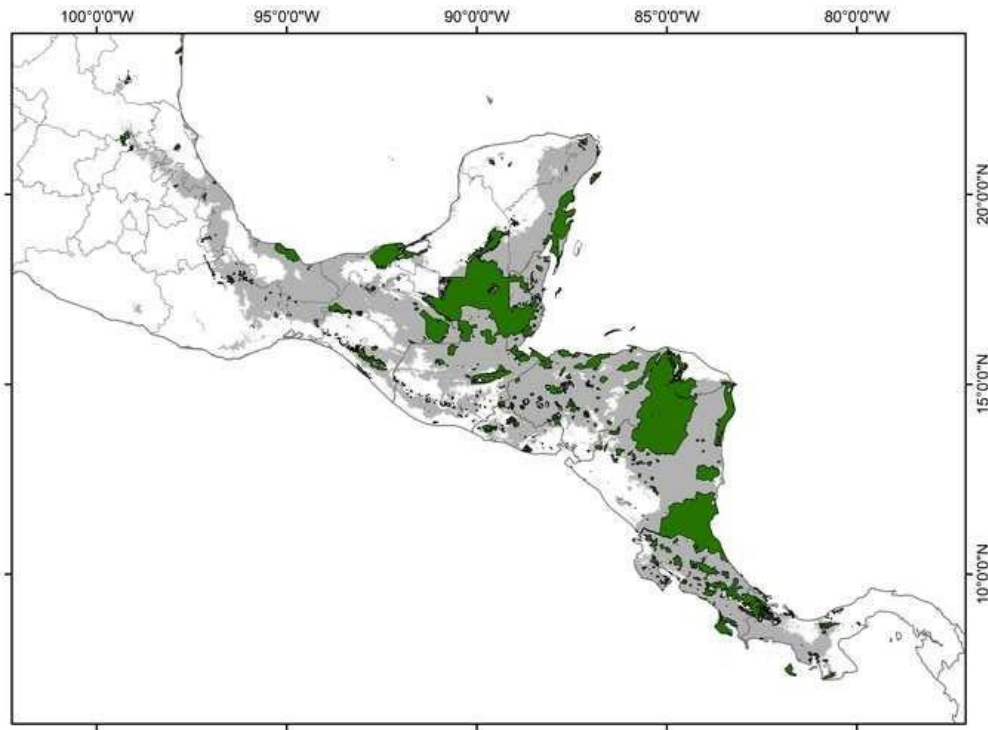
The density relationship with the niche centroid meets the premise that the populations of a species will be more abundant at the niche centroid. The polynomial model had the regression with the best fit with  $R^2 = 0.5907$  (Figure 3). The niche centroid modeling also allows us to identify that the best conditions for the species are found in the foothills of the Sierra Madre Oriental, in addition to the Maya Forest shared by Belize, Guatemala, and Mexico, the Selva Lacandona and the jungle in the south of the Yucatan Peninsula. In Honduras and Nicaragua there is another point where environmental conditions are optimal for this species (Figure 3).



**Figure 3.** Prediction of the current potential geographic distribution of the white-crowned parrot (*Pionus senilis*) with suitability of the niche centroid within a pixel going from greater suitability (red color) to lower suitability (dark blue) and relationship between abundance and niche centroid of white-crowned parrot (*Pionus senilis*) populations in Mexico.

The potential geographic distribution of the species is protected in a Protected Natural Area of 165,719 km<sup>2</sup>, which means that only 28.3% of its overall potential geographic distribution is protected. In Mexico, only 32,973 km<sup>2</sup> (17%) of the potential distribution of the species is included in some PNAs (Figure 4). Four study sites are located inside Biosphere Reserves (El Cielo, Cañón del Usumacinta, Naha, and Selva El Ocote). The observations in Calakmul were made outside of the reserve polygon. In the other countries, the area of distribution found within PNAs were Nicaragua 45,892 km<sup>2</sup> (44.2%), Guatemala 31,546 km<sup>2</sup> (37.6%), Honduras 23,718 km<sup>2</sup> (25.1%), Costa Rica 12,516 km<sup>2</sup> (25.2%), Panama 9,523 km<sup>2</sup> (31.4%), and Belize 8,110 km<sup>2</sup> (37.5%).





**Figure 4.** Protected natural areas in the prediction of the current distribution (green) of the white-crowned parrot. Black lines = borders between countries and Mexican states.

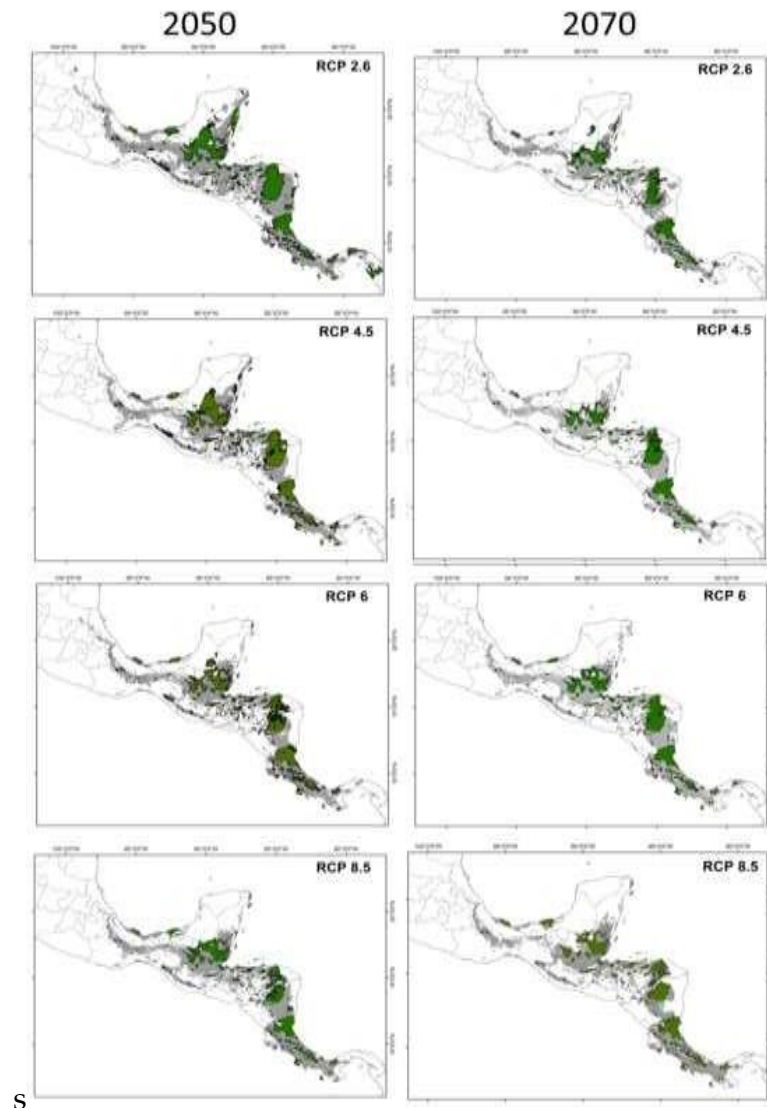
### 3.3. Land cover change

According to our analysis of digital vegetation maps of Mexico [53,54], the parrot's potential geographic distribution has experienced the loss of primary vegetation at a high rate, contracting from 112,432 km<sup>2</sup> (59.3%) in 1991 to 45,565 km<sup>2</sup> (13.8%) in 2016. The medium-altitude semi-evergreen forest was reduced from 32,592 km<sup>2</sup> to 10,721 km<sup>2</sup>, i.e., 5.6% of the distribution area. The tropical highland evergreen forest went from 27,122 km<sup>2</sup> to 12,015 km<sup>2</sup> (6.3%), while the rain forest decreased from 10,851 km<sup>2</sup> to 3,671 km<sup>2</sup> (1.9%). Over the same period, the oak forest grew smaller from 2,420 km<sup>2</sup> (1.35%) to 500 km<sup>2</sup> (0.26%), and pine forests went from 3,319 km<sup>2</sup> (1.75%) to 1,032 km<sup>2</sup> (0.54%). At present, 34.8% of the vegetation in the potential geographic distribution of the white-crowned parrot is classified as secondary vegetation and grew from 12,615 km<sup>2</sup> (6.6%) in 1991 to 66,377 km<sup>2</sup> in 2016, of which 18,839 km<sup>2</sup> correspond to arboreal vegetation in the mid-altitude semi-evergreen forest, followed by arboreal vegetation in the tropical highland evergreen forest with 8,315 km<sup>2</sup>, and shrubby vegetation in the tropical highland evergreen forest with 7,680 km<sup>2</sup>.

The analysis of the changes in use indicated that these areas had been affected by the land cover change. The potential geographic distribution of the white-crowned parrot in Mexico indicates that in 1991, 23,807 km<sup>2</sup> was used for agriculture and 38,619 km<sup>2</sup> was induced grassland, which increased to 30,220 km<sup>2</sup> and 42,768

km<sup>2</sup>, respectively, by 2016. Urban areas also grew during this period, going from 780 km<sup>2</sup> in 1991 to 2,026 km<sup>2</sup> in 2016.

The potential geographic distribution that the area with optimal conditions for the development of the white-crowned parrot will shrink, even in the best-case predictions of the future (2046-2065). The RCP 2.6 model shows that 496,972 km<sup>2</sup> will be preserved, i.e., 84.9% of the distribution of the species, whereas according to the RCP 8.5 model only 315,038 km<sup>2</sup> will be maintained, i.e., 54.5% of the current distribution. It is predicted that current suitable areas will contract more strongly in Mexico, since the Yucatan Peninsula, the south of Tamaulipas, and central Veracruz will be excluded from the distribution (Figure 5).



**Figure 5.** potential geographic distribution (gray) for the near future (2050) and distant future (2070) under different concentrations of greenhouse gases (RCP), obtained with a white-crowned parrot niche centroid approach and compared to Protected Natural Areas (green). Black lines = Borders between countries and Mexican states.

The decrease in the potential geographic distribution of the white-crowned parrot is greater for the 2081-2100 period (Figure 5), where the least severe RCP 2.6 model shows only 359,332 km<sup>2</sup> with suitable conditions for the species, whereas the RCP 8.5 model predicts a reduction of the distribution area to 286,920 km<sup>2</sup>. The strong decrease in the white-crowned parrot potential geographic distribution will be greater in Mexico, where it will be restricted to the Sierra Madre Oriental, Selva Lacandona, and Sierra Madre del Sur. The potential geographic distribution will also decrease in the north of Guatemala and in large areas in Honduras and Nicaragua.

The projections also show that even the environmental conditions will change in the Protected Natural Areas. In Mexico, the projections for suitable areas in 2050 and 2070 show that they will go from 2,035 km<sup>2</sup> to 509 km<sup>2</sup>, disappearing entirely from El Cielo (Tamaulipas). In Chiapas, the white-crowned parrot will only be found in the PNAs in the Selva Lacandona, and it will even decrease in the PNAs of the Yucatan Peninsula. There will also be a decrease in the coverage of the species in the Guatemalan PNAs, which will be mostly restricted to the PNAs in the Maya Forest. In Honduras and Nicaragua, it will be found in the protected areas located in the western region (Figure 5). In contrast, Panama will tend to increase its geographical areas with optimal environmental conditions for this species.

#### 4. Discussion

White-crowned parrot populations are vulnerable, and their current and long-term survival depends on the protection of the areas suitable for their survival that are currently available to them. Additional reductions in primary vegetation and degradation due to fire or logging can be devastating for this species, as observed in 2019 when extensive forest fires reduced the coverage of large tracts of primary vegetation in Chiapas and Campeche. Therefore, the conservation of parrots will likely require preserving and restoring extensive forest areas that are currently within potential.

##### 4.1. Population densities of *Pionus senilis*

Distance sampling methods have been shown to be adequate for estimating the densities of parrot populations [34,58]. We presented the white-crowned parrot population densities throughout its distribution, although no individuals were found in some localities. However, the accumulated records from the localities with observations were sufficient to reliably estimate their densities, which is encouraging given this study's time frame and resources. Density estimates performed in this study follow what has been reported for other species of the genus [59], and for other species of medium-size parrots [60].

The conditions can influence the variation in density estimates in each locality because they differ in habitat preservation status. For example, in Palenque, Catazajá, Candelaria, Chavarrillo, Xilitla, and Tamarindos, the loss of vegetation

coverage is so high that the habitat is highly fragmented. At the same time, other areas, such as Calakmul and Selva El Ocote, have large patches of preserved forest. Another factor that can affect an individual's detection is whether or not it can be observed since it is easier to find them in more fragmented areas (Breña Torres Viejo, Chalchijalpan, Tecpatan, and Tenosique) than in areas that are well preserved (Naha and Calakmul), where it is more difficult to detect and identify them. The northern populations had the highest densities, starting with El Cielo, a Protected Natural Area with restricted access that holds one of the last patches of tropical deciduous forest in northern Mexico [61], followed by El Naranjo, which has maintained its high population density despite the loss of vegetation coverage and the high fragmentation of the area. These were the only localities with plantations, particularly mango crops, where white-crowned parrot individuals were observed to feed. As reported by other studies [62], these results show that the species feeds on different crops. It has been found that population size in psittacines is related to habitat quality—the highest densities are found in preserved environments [63]—although similar population densities can also be found in fragmented areas that still have some primary vegetation [64]. These observations may explain what is happening in El Naranjo, which is located 45 km away from El Cielo.

In contrast, results in Naha show a low population density in what is considered good habitat quality. The habitat characteristics of high tropical forests make it challenging to detect individuals and encumber a proper individual count, or it may be that only a small group of individuals was present at that moment. Evidence shows that some parrot species move long distances locally [65]; therefore, it is possible that white-crowned parrots were not in the area at our visit.

#### *4.2. Ecological niche models and niche centroid distance*

Ecological niche modeling represents a conceptualization of the distribution of favorable climatic conditions where the species is found [66]. These can be projected into geography to obtain an adequate hypothesis of the potential geographic distribution, although environmental projections can differ when represented in a graphic form. The model developed in this study is consistent with previous models [67,68,69]. Our results show that the conditions in central Veracruz are not suitable for the species; this is in line with previous studies that found that the current conditions in this region are not suitable, even though the historical distribution of the species included this area. Today, its presence is unlikely in this area due to the removal of vegetation [67,69].

Our model establishes that the region in Los Tuxtlas is suitable for the species; however, the white-crowned parrot is considered rare in the area and has yet to be registered in several years [70]. Although it is considered that the species mainly inhabits the south of the Yucatan Peninsula, the model includes the northeast as a suitable area, and there are new records in the northern part [71]. These results

corroborate the model proposed by [68] where the white-crowned parrot is not restricted to the south of the Yucatan Peninsula.

The relationship between density and niche centroid was mostly negative (Figure 3), indicating that there is a higher concentration of organisms of *Pionus senilis* in optimal environmental conditions near the niche centroid. The negative relationship is congruent with other North American birds [13,71]. Knowledge of the abundance within their distribution range can be used for species conservation (Ureña-Aranda et al. 2015), regardless of how little it has been used [73,741,75]. In the case of *Pionus senilis*, we observed that the areas near the niche centroid (Figure 3, red-orange color), where a higher density of organisms is inferred to *Pionus senilis*, will decrease noticeably in the near (Figure 5) and distant future (Figure 5). Therefore, a greater effort to conserve the species should be made in these areas.

At present, the abundance-distance to niche centroid relationship must be interpreted very carefully. It is a controversial topic with evidence that not all organisms have such a relationship between abundance and distance to niche centroid, which is still under experimentation with virtual species (e.g. [76,77,78,79]). It is thus necessary to improve several aspects in developing these methods [80,18,53] and to include other biotic and abiotic variables [82]. Finally, genetic studies must be considered because it has been observed that genetic variation is not necessarily related to niche centroid distance [83,84].

#### 4.3. Land cover change

Psittacine populations are associated with areas dominated by forests, which they use as feeding and nesting areas. However, these populations are threatened by overexploitation by the pet trade and habitat destruction [85]. Given these factors, areas without anthropogenic alterations are necessary for the populations to prevail. Habitat loss for this species is mainly caused by changes in land use, especially in tropical highland evergreen forests, which are used for farming areas. The most substantial change in land use is in the coastal plains of the Gulf of Mexico, which has caused almost the entire plant coverage to be lost, with some surviving patches in Los Tuxtlas and in a few municipalities, such as Huimanguillo and Cardenas (Tabasco). [67] reported that in 2000 there was a 49% decrease in the species' original distribution, the equivalent of 109,000 km<sup>2</sup>. [66] reported a 52% loss comprising a current distribution of 175,798 km<sup>2</sup>. Our model estimates that the white-crowned parrot's potential geographic distribution area covers 111,942 km<sup>2</sup> of forests, of which 45,565 km<sup>2</sup> are primary vegetation, and 66,377 km<sup>2</sup> is secondary vegetation [57]. Habitat fragmentation is still ongoing in the area, and some forest areas (such as Tecpatan, Naha, and Tenosique) have been eliminated (personal observation).

Although it was not possible to establish how the habitat of this species has been modified in Central America, it is known that the processes of change in land use have altered this region. Central America has a surface of approximately 528,026 km<sup>2</sup>, of which 400,000 km<sup>2</sup> (75%) still had forest coverage in 1950 [86]. In 2000, forests

occupied 60% and other vegetation types 13%, while farming systems covered 8% (42,242 km<sup>2</sup>). Over the last 20 years, this area has undergone an important transformation. By 2010, farming systems were predominant with 279,853 km<sup>2</sup> (53%), and the surface with original vegetation was reduced to 232,331 km<sup>2</sup> (44%), of which 40% corresponded to forests [87]. These changes imply that the white-crowned parrot's habitat has also been reduced in Central America.

#### *4.4. Implications for conservation*

All the different climate change scenarios imply a reduction in the white-crowned parrot distribution area. It is essential to mention that in any scenario, a decrease in the potential geographic distribution area implies a decline in the population of this species: in Mexico, populations of the white-crowned parrot will be displaced to the mountain areas in the Sierra Madre Oriental and Sierra Madre del Sur; in Central America, the reduction will be slightly less drastic. Potential geographic distribution of the change in the white-crowned parrot's distribution with a correlative approach based solely on climatic variables is only a rough forecast of the future changes in the potential geographic distribution. It is also likely that the species' response to climate change is not only mediated by these factors. Biological mechanisms, such as physiological traits, phenotypic plasticity, local adaptations, species interactions, dispersal capacities, or food availability, must be considered for future changes in the distribution area [88]. Another important factor is that the pet trade in psittacines must be halted. The biological parameters may be able to mitigate or improve the speed of the distribution change caused by temperature [89]. Most data for this species have not been generated, so in this study, we only analyzed the trends in habitat change that have caused the reduction of potential geographic distribution that were inhabited, that have been converted, or that are at risk of turning into areas that are not suitable for the survival of the species.

In light of our results, we hypothesize that climate change can be a significant causal factor in the decline in populations of the white-crowned parrot, but it is not the only main cause. It is probable that climate change, combined with known impacts, such as increased fires, habitat loss, and illegal hunting, contribute to population loss. Conservation of the white-crowned parrot will only be possible if all these factors are considered. A viable management plan must try to decrease pressures that are generated due to climate change and direct factors.

Modeling has fundamental implications for understanding biodiversity and decision-making for conservation management [14,15,90]. As well as the density data, they also provide valuable reference information to evaluate future changes that help to reduce the bias in the projections of future distribution by integrating demographic data with the distribution dynamics [91], thus allowing the aspects timing of species distribution, including future density trends and species

persistence. Assuming that local density is an indicator of habitat quality, the relative suitability of habitats can be more accurately modeled using density data [92]. In addition, this information was combined with the changes in land use and vegetation caused in the last 31 years [56,57] and the distribution area of the species that is found within some of the protected natural areas [93] (Jonas Geldmann et al 2018.)

**Author Contributions:** All authors contributed to the study conception and design. Canek Rivera-Arroyo, and Aguilar-Torres Damián performed material preparation, and data collection. Analyses were performed Canek Rivera-Arroyo, Patricia Escalante-Pliego, and José Alberto Cruz. Canek Rivera-Arroyo wrote the first draft of the manuscript and all authors commented on previous versions of the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

**Funding:** This study was developed with the support of the Biological Science Graduate Program of the National Autonomous University of Mexico (UNAM), PAPIIT project IN208220 (Dirección General de Apoyo al Personal Académico, UNAM), the National Council of Science and Technology (CONACYT Mexico), and the Rufford Foundation and Idea Wild, which provided funds for the financial costs and the materials required for field work.

**Data Availability Statement:** The species records were obtained from the GBIF portal ([www.gbif.org](http://www.gbif.org)). They were processed to eliminate duplicate records, and possible errors. The World Clim layers used for the elaboration of the potential distribution models can be found freely in the portal <https://www.worldclim.org/>. The field data obtained by authors can be made available upon request.

**Acknowledgments:** We thank all the field guides who provided valuable information to monitor the white-crowned parrot populations: Lázaro Chavarría, German de Catazaja, Mario Álvarez, Chankin Wiliam Garcia, Esteban Berrones Benitez, Juan Carlos Orraca Corona, Neydy Perez, Leoni Zepol, Limberg Perez Benavente, Luis Armando Ferman Cortez, and Saúl Garcia Rivera.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

Ethics approval: There was no direct interaction between the researchers and the specimens, nor was there any disturbance of their habitat, only the presence of the birds in their original positions was recorded.

## References

1. Ceballos, G.; Ehrlich, P.R.; Barnosky, A.D.; García, A.; Pringle, R.M.; Palmer, T.M. Accelerated modern human-induced species losses: Entering the sixth mass extinction. *Science Advances* **2015** *1*:e1400253. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1400253>
2. Berkunsky, I., Quillfeldt, P.; Brightsmith, D.J.; Abbud, M.C.; Aguilar, J.M.R.E.; Alemán-Zelaya, U.; Aramburú, R.M.; Arce Arias, A.; McNab, R.; Balsby, T.J.S.; Beissinger S.R.; et al. Current threats faced by Neotropical parrot populations. *Biological Conservation* **2014** *214*: 278-287. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2017.08.016>
3. Kummar, D.T.; Kumar, S. S.; Prasad, M.R. Current Status and Possible Causes of Reptile's Decline. *International Research Journal of Environment Sciences*, **2014** *3*(9): 75-79. <http://www.isca.in/IJENS/Archive/v3/i9/14.ISCA-IRJEvS-2014-154.pdf>
4. Seoane, J.; Viñuela, J.; Díaz-Delgado, R.; Bustamante, J. (2003). The effects of land use and climate on red kite distribution in the Iberian Peninsula. *Biological Conservation* **2003** *111*: 401-414. [https://doi.org/10.1016/S0006-3207\(02\)00309-9](https://doi.org/10.1016/S0006-3207(02)00309-9)
5. Popa-Lisseanu, A.G.; Delgado-Huertas, A.; Forero, M.G.; Rodríguez, A.; Arlettaz, R.; Ibáñez, C. Bats' Conquest of a Formidable Foraging Niche: The Myriads of Nocturnally Migrating Songbirds. *PLoS ONE* **2007** *2*(2):e205. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000205>

6. Strubbe, D.; Matthysen, E. Predicting the potential distribution of invasive ring-necked parakeets *Psittacula krameri* in northern Belgium using an ecological niche modelling approach. *Biological Invasions* **2008** <https://doi.org/10.1007/s10530-008-9266-6>.
7. Soberón, J.; Nakamura, M. (2009). Niches and distributional areas: concepts, methods, and assumptions. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **2009** *106*:19644-19650. <https://doi.org/10.1073/pnas.0901637106>
8. Fischer, J.; Lindenmayer, D.B.; Nix, H.A.; Stein, J.J.L.; Stein, J.A. Climate and animal distribution: a climatic analysis of the Australian marsupial *Trichosurus caninus*. *J. Biogeography* **2002** *28*:293-304. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2699.2001.00554.x>
9. Harris, R.M.; Grose, M.; Lee, G.; Bindoff, N.L.; Porfirio, L.L.; Fox-Hughes, P. (2014). Climate projections for ecologists. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Climate Change* **2014** *5*:621-637. <https://doi.org/10.1002/wcc.291>
10. Marini, M.A.; Barbet-Massin, M.; Martinez, J.; Prestes, N.P.; Jiguet, F. Applying ecological niche modelling to plan conservation actions for the Red-spectacled Amazon (*Amazona pretrei*). *Biological Conservation* **2010** *143*:102-112. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2009.09.009>
11. Kreakie, B. J.; Fan, Y.; Keitt, T.H.. Enhanced Migratory Waterfowl Distribution Modeling by Inclusion of Depth to Water Table Data. *PLoS ONE* **2012** *7*(1) e30142. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030142>
12. Yañez-Arenas, C.; Martínez-Meyer, E.; Mandujano, S.; Rojas-Soto, O. Modelling geographic patterns of population density of the white-tailed deer in central Mexico by implementing ecological niche theory. *Oikos* **2012** *121*:2081–2089. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2012.20350.x>
13. Martínez-Meyer, E.; Díaz-Porrás, D.; Peterson, A.T.; Yañez-Arenas, C. Ecological niche structure and range wide abundance patterns of species. *Biology Letters* **2013** *9*:20120637. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2012.0637>
14. Ferrer-Sánchez, Y.; Rodríguez-Estrella, R. Identifying best conservation areas for an endangered and endemic raptor in Cuba through abundance spatial modeling: A niche-centroid distances approach. *Global Ecology and Conservation* **2021** *31*:e01877
15. Liu YL. Tolerance niche expansion and potential distribution prediction during Asian openbill bird range expansion. *Ecology and evolution*. **2021** *11*(10): 5562-5574. <https://doi.org/10.1002/ece3.7456>
16. Tapia, L.; Gil-Carrera, A.; Domínguez, J. Caution Is Needed When Using Niche Models to Infer Changes in Species Abundance: The Case of Two Sympatric Raptor Populations. *Animals* **2021** *11*: <https://doi.org/10.3390/ani11072020>
17. IUCN (International Union for Conservation of Nature) (2019). <http://www.iucnredlist.org/details/22685548/0>. (Accessed on 10 April 2019).
18. CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora) (2016). Apéndice I, II y III. 1-47.
19. SEMARNAT (2010). Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010. Protección ambiental—Especies nativas de México de flora y fauna silvestres—Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio—Lista de especies en riesgo (77 pp.). Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. <http://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/agenda/DOFsr/DO2454.pdf>
20. Salinas-Melgoza, A.; Renton, K. Ficha técnica de *Pionus senilis*. In: *Fichas sobre las especies de Aves incluidas en el Proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-ECOL-2000. Parte 2*. Escalante-Pliego, P. Ed. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. Bases de datos SNIB-CONABIO. Proyecto No. W042. **2008** México, D.F.
21. Forshaw, J. M. Parrots of the world. Third Edition. Lansdowne Press. Melbourne, Australia **1989** 180p.
22. Collar, N. J. Family Psittacidae (parrots). In *Handbook of the birds of the world, 4*. Del Hoyo, J.E.; Sargatal, J. Eds. Lynx Editions, Barcelona, Spain **1997** 280-477 p.
23. Howell, S.N.; Webb, S. A guide to the birds of Mexico and northern Central America. Oxford University Press. New York, USA. **1995**.
24. Rosete-Verges, F.A.; Pérez-Damián, J.L.; Villalobos-Delgado, M.; Navarro-Salas, E.N.; Salinas-Chávez, E.; Remond-Noa, R. El avance de la deforestación en México 1976-2007. *Madera Bosques*, **2014** *20*(1):21-35. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1405-04712014000100003](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-04712014000100003)
25. Thompson, F.R. III; Robinson, S.K.; Donovan, T.M.; Faaborg, J.; Whitehead, D.R.; Larsen, D. Biogeographic, landscape, and local factors affecting cowbird abundance and host parasitism levels. In *The ecology and management of cowbirds* Cooke, T.L.; Robinson, S.K.; Rothstein, S.I.; Sealy, S.G.; Smith, J.N.M. Eds.. University of Texas Press, Austin, Texas, USA **1998** Pp. 271-279.
26. Buckland, S.T.; Anderson, D.R.; Burnham, K.P.; Laake, J.L.; Borchers, D.L.; Thomas, L. Introduction to distance sampling. Oxford University Press, New York, New York, USA **2001**.



27. Cassey, P.; Craig, J.L.; McArdle, B.H.; Barraclough, R.K. Distance sampling techniques compared for a New Zealand endemic passerine (*Philesturnus carunculatus rufusater*). *New Zealand Journal of Ecology* **2007** 31(2). 223-231.
28. Buckland, S.T.; Anderson, D.R.; Burnham, K.P.; Laake, J.L. Distance Sampling: Estimating Abundance of Biological Populations. London: Chapman and Hall. **1993** 441p.
29. Verner, J. Assessment of counting techniques. In Current ornithology. Vol. 2. Johnston, R.F. Ed., Plenum Press, New York, USA **1985** Pp. 247-302
30. Marsden, S.J. Estimation of parrot and hornbill densities using a point count distance sampling method. *Ibis* **1999**. 141:377–390. <https://doi.org/10.1111/j.1474-919X.1999.tb04405.x>
31. Bibby, C.J.; Burgess, N.D.; Hill, D.A.; Mustoe, S.H. Bird Census Techniques. 2nd edition. Academic Press, London Great Britain **2000**.
32. Buckland, S.T. Point-transect surveys for songbirds: robust methodologies. *Auk* **2006** 123:345–357. <https://doi.org/10.1093/auk/123.2.345>
33. Thomas, L.; Buckland, S.; Rexstad, E.; Laake, J.; Strindberg, S.; Hedley, S.L.; Bishop, J.R.B.; Marques, T.A.; Burnham, K.P. Distance software: design and analysis of distance sampling surveys for estimating population size. *J. Applied Ecol.* **2010** 47:5-14. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2009.01737.x>.
34. Buckland, S.T.; Marsden, S.G.; Green, R.E. Estimating bird abundance: making methods work. *Bird Conservation International* **2008** 18:91-108. <https://doi.org/10.1017/S0959270908000294>
35. Phillips, S.J.; Anderson, R.P.; Schapire, R.E. Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling* **2006** 190:231–259. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2005.03.026>
36. CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad). Portal de Geoinformación Sistema Nacional de Información sobre Biodiversidad. <http://www.conabio.gob.mx/informacion/gis/> (accessed on 1 April 2018).
37. GBIF (Global Biodiversity Information Facility) (2018). Secretariat: GBIF Backbone Taxonomy. <https://doi.org/10.15468/39omei> Accessed via <https://www.gbif.org/species/5284517>. (Accessed on 1 April 2018)
38. Moss, R., Edmonds, J.A.; Hibbard, K.A.; Manning, M.R.; Rose, S.K.; van Vuuren, D.P.; Carter, T.R.; Emori, S.; Kainuma, M.; Kram, T.; Meehl, G.A.; et al. The next generation of scenarios for climate change research and assessment. *Nature* **2010** 463:747-756. <https://doi.org/10.1038/nature08823>
39. Weyant, J.; Azar, C.; Kainuma, M.; Kejun, J.; Nakicenovi, N.; Shukla, P.R.; Rovere, E.; Yohe, G. Report of 2.6 versus 2.9 Watts/m2 RCP evaluation panel. <http://www.ipcc.ch/meetings/session30/inf6.pdf> **2009**.
40. Thomson, A.M.; Calvin, K.V.; Smith, S.J.; Kyle, G.P.; Volke, A.; Patel, P.; Delgado-Arias, S.; Bond-Lamberty, B.; Wise, M.A.; Clarke, L.E.; Edmonds, J.A. RCP4.5: pathway for stabilization of radiative forcing by 2100. *Climate Change* **2011** 109(1):77. <https://doi.org/10.1007/s10584-011-0151-4>
41. Hijmans R.; Phillips, S.; Leathwick, S.J.; Elith, J.; Hijmans, M.R. Package ‘dismo’. *Circles*. **2017** 9(1):1-68. [doi.org/10.1111/j.1365-2486.2006.01256.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2006.01256.x)
42. Peterson, A.T.; Nakazawa, Y. Environmental data sets matter in ecological niche modelling: an example with *Solenopsis invicta* and *Solenopsis richteri*. *Global Ecology and Biogeography* **2008** 17:135–144. <https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2007.00347.x>
43. Jakob, S.S.; Martínez-Meyer, E.; Blattner, F.R. Phylogeographic analyses and paleodistribution modeling indicate Pleistocene in situ survival of *Hordeum* species (Poaceae) in southern Patagonia without genetic or spatial restriction. *Molecular Biology and Evolution* **2009** 26:907-923. <https://doi.org/10.1093/molbev/msp012>
44. Araujo, M.B.; Anderson, R.P.; Barbosa, A.M.; Beale, C.M.; Dormann, C.F.; Earl, R.; O’Hara, R.B. Standards for distribution models in biodiversity assessments. *Science Advances* **2019** 5:eaat4858. DOI: 10.1126/sciadv.aat4858
45. Radosavljevic, A.; Anderson, R.P. Making better Maxent models of species distributions: complexity, overfitting and evaluation. *J. Biogeography* **2014** 41:629-643. <https://doi.org/10.1111/jbi.12227>
46. Bradie, J.; Leung, R.P. A quantitative synthesis of the importance of variables used in MaxEnt species distribution models. *J. Biogeography* **2017** 44:1344-1361. <http://doi:10.1111/jbi.12894>
47. Cooper, J.C.; Soberón, J. Creating individual accessible area hypotheses improves stacked species distribution model performance. *Global Ecology and Biogeography* **2018** 27:156-165. <https://doi.org/10.1111/geb.12678>
48. Da Re, D.; Olivares, A.P.; Smith, W.; Vallejo-Marín, M. Global analysis of ecological niche conservation and niche shift in exotic populations of monkey flowers (*Mimulus guttatus*, *M. luteus*) and their hybrid (*M. x robertsii*). *Plant Ecology & Diversity* **2020** 13:1-14. <https://doi.org/10.1080/17550874.2020.1750721>

49. Papes, M.; Gaubert, P. Modelling ecological niches from low numbers of occurrences: Assessment of the conservation status of poorly known viverrids (Mammalia, Carnivora) across two continents. *Diversity and Distributions* **2007** 13: 890-902. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4642.2007.00392.x>
50. Peterson, A.T.; Papes, M.; Soberón, J. Rethinking receiver operating characteristic analysis applications in ecological niche modeling. *Ecological Modelling* **2008** 213:63-72. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2007.11.008>
51. Narayani, B. Tool for Partial-ROC. Biodiversity Institute, Lawrence, KS Ver. 1.0. **2008**.
52. ESRI (Environmental Systems Research Institute). ArcGIS Desktop: Release 10. Redlands, CA: Environmental Systems Research Institute. **2011**.
53. Yañez-Arenas, C.; Martín, G.; Osorio-Olvera, L.; Escobar-Luján, J.; Castaño-Quintero, S.; Chiappa-Carrara, X.; Martínez-Meyer, E. The abundant niche-centroid hypothesis: key points about unfilled niches and the potential use of supraspecific modeling units. *Biodiversity Informatics* **2020** 15:92-102. <https://doi.org/10.17161/bi.v15i2.13218>
54. Yañez-Arenas, C.; Guevara, R.; Martínez-Meyer, E.; Mandujano, S.; Lobo, J.M. Predicting species' abundances from occurrence data: effects of sample size and bias. *Ecol. Model.* **2014** 294, 36-41. [doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2014.09.014](https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2014.09.014)
55. Yañez-Arenas, C.; Martínez-Meyer, E.; Mandujano, S.; Rojas-Soto, O. Modelling geographic patterns of population density of the white-tailed deer in central Mexico by implementing ecological niche theory. *Oikos* **2012** 121: 2081-2089. doi: 10.1111/j.1600-0706.2012.20350.x
56. INEGI (1997). Uso del suelo y vegetación, escala 1:250000, serie I (continuo nacional), escala: 1:250000. Instituto Nacional de Ecología – Dirección de Ordenamiento Ecológico General e Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. <https://http://geoportal.conabio.gob.mx/metadatos/doc/html/usv250kcs1agw.html> (Accessed on 1 June 2018)
57. INEGI (2016). Conjunto de Datos Vectoriales de Uso de Suelo y Vegetación. Escala 1:250 000. Serie VI (Capa Union), escala: 1:250 000. edición: 1. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Aguascalientes, México. <http://geoportal.conabio.gob.mx/descargas/mapas/imagen/96/usv250s6gw> (Accessed on 1 June 2018)
58. Legault, A.; Theuerkauf, J.; Baby, E.; Moutin, L.; Rouys, S.; Saumoé, M.; Verfaille, L.; Barré, N.; Chartendault, V.; Gula, R. Standardising distance sampling surveys of parrots in New Caledonia. *Journal of Ornithology* **2013** 154:19-33. <https://doi.org/10.1007/s10336-012-0864-9>
59. Marsden, S.J.; Royle, K. Abundance and abundance change in the world's parrots. *Ibis* **2015** 157:219–229. <https://doi.org/10.1111/ibi.12236>
60. Marsden, S.J.; Symes, C.T. Abundance and habitat associations of parrots at a hillforest site in Papua New Guinea. *Pacific Conservation Biology* **2006** 12:15-21. <https://doi.org/10.1071/PC060015>
61. Vargas-Contreras, J.A.; Hernández-Huerta, A. H. Distribución altitudinal de la Mastofauna en la reserva de la Biosfera “El Cielo”, Tamaulipas, México. *Acta Zool. Mex. (n. ser.)* **2001** 82:83-109. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0065-17372001000100005](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0065-17372001000100005) 695
62. Harvey, C.; González-Villalobos, J. Agroforestry systems conserve species-rich but modified assemblages of tropical birds and bats. *Biodiversity Conservation* **2007** 16:2257-2292. <https://doi.org/10.1007/s10531-007-9194-2>
63. Kinnaird, M.F.; O'Brien, T.G.; Lambert, R.F.; Purmiasa, D. Density and distribution of the endemic Seram cockatoo *Cacatua moluccensis* in relation to land use patterns. *Biological Conservation* **2003** 109:227-35. [https://doi.org/10.1016/S0006-3207\(02\)00150-7](https://doi.org/10.1016/S0006-3207(02)00150-7)
64. Enkerlin-Hoefflich, E.C. Comparative ecology and reproductive biology of three species of *Amazona* parrots in northeastern Mexico. PhD. dissertation. Texas A & M University, College Station **1995**
65. Renton, K.; Salinas-Melgoza, A. Climatic variability, nest predation, and reproductive output of Lilac crowned Parrots (*Amazona finschi*) in tropical dry forest of western Mexico. *Auk* **2004** 121:1214-1225. <https://doi.org/10.1093/auk/121.4.1214>
66. Peterson, A.T. Predicting species' geographic distributions based on ecological niche modeling. *Condor* **2001** 103:599-605. [https://doi.org/10.1650/0010-5422\(2001\)103\[0599:PSGDBO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1650/0010-5422(2001)103[0599:PSGDBO]2.0.CO;2)
67. Ríos-Muñoz, C.A.; Navarro-Sigüenza, A.G. Efectos del cambio de uso de suelo en la disponibilidad hipotética de hábitat para los psitácidos de México. *Ornitología Neotropical* **2009** 20:491-509. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_nlinks&pid=S1870-3453201600030110300062&lng=en](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_nlinks&pid=S1870-3453201600030110300062&lng=en)
68. Plasencia-Vazquez A.H.; Escalona-Segura, G.E. Caracterización del área de distribución geográfica potencial de las especies de aves psitácidas de la Península de Yucatán, México. *Revista de Biología Tropical*

- 2014 62(4):1509-1522. [http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-77442014000400020&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442014000400020&lng=en&tlng=es).
69. Monterrubio-Rico, T.C.; Charre-Medellín, J.F.; Pacheco-Figueroa, C.; Arriaga-Weiss, S.; Valdez-Leal, J.; Cancino-Murillo, R.; Escalona-Segura, G.E.; Bonilla-Ruz, C.; Rubio-Rocha, Y. Distribución potencial histórica y contemporánea de la familia Psittacidae en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* **2016** 87:1103–1117. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2016.06.004>
  70. De Labra, M.A.; Escalante, P.; Monterrubio-Rico, T.C.; Coates-Estrada, R. Hábitat, abundancia y perspectivas de conservación de psittacidos en la reserva de Los Tuxtlas, Veracruz, México. *Ornitología Neotropical* **2010** 2:599-610. <https://www.researchgate.net/publication/233695266>
  71. Chablé-Santos, J.; Selem-Salas, C. New records of *Columbina minuta*, *Pionus senilis* and *Basileuterus culicivorus* in Yucatan state, Mexico. *Cotinga* **2011** 33:76-77. <https://www.researchgate.net/publication/292895206>
  72. Osorio-Olvera, L.; Yáñez-Arenas, C.; Martínez-Meyer, E.; Peterson, A.T. Relationships between population densities and niche-centroid distances in North American birds. *Ecology Letters* **2020** 23:555-564. <https://doi.org/10.1111/ele.13453>
  73. Manthey, J.D.; Campbell, L.P.; Saupe, E.E.; Soberón, J.; Hensz, C.M.; Myers, C.E.; Lira-Noriega, A. A test of niche centrality as a determinant of population trends and conservation status in threatened and endangered North American birds. *Endangered Species Research* **2015** 26(3): 201-208. DOI: <https://doi.org/10.3354/esr00646>
  74. Ureña-Aranda, C.A.; Rojas-Soto, O.; Martínez-Meyer, E.; Yáñez-Arenas, C.; Landgrave-Ramírez, R.; Espinosa de los Monteros, A. Using range-wide abundance modeling to identify key conservation areas for the micro-endemic Bolson tortoise (*Gopherus flavomarginatus*). *PLoS One* **2015** 10:e0131452. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0131452>
  75. Martínez- Gutiérrez, P.G.; Martínez- Meyer, E.; Palomares, F.; Fernández, N. Niche centrality and human influence predict rangewide variation in population abundance of a widespread mammal: The collared peccary (*Pecari tajacu*). *Diversity and Distributions* **2018** 24:103-115. <https://doi.org/10.1111/ddi.12662>
  76. Dallas, T.; Decker, R.R.; Hastings, A. Species are not most abundant in the centre of their geographic range or climatic niche. *Ecology Letters* **2017** 20:1526-1533. <https://doi.org/10.1111/ele.12860>
  77. Dallas, T.A.; Hastings, A. Habitat suitability estimated by niche models is largely unrelated to species abundance. *Global ecology and biogeography* **2018** 27(12):1448-1456. <https://doi.org/10.1111/geb.12820>
  78. Soberón, J.; Peterson, A.T.; Osorio-Olvera, L. A comment on “Species are not most abundant in the centre of their geographic range or climatic niche”. *BioRxiv* **2018** 266510. doi:10.3897/rethinkingecology.3.24827
  79. Dallas, T.; Pironon, S.; Santini, L. Weak support for the abundant niche-centre hypothesis in North American birds. *BioRxiv*. **2020** <https://doi.org/10.1101/2020.02.27.968586>.
  80. Santini, L.; Pironon, S.; Maiorano, L.; Thuiller, W. Addressing common pitfalls does not provide more support to geographical and ecological abundant- centre hypotheses. *Ecography* **2019** 42(4):696-705. <https://doi.org/10.1111/ecog.04027>
  81. Jiménez-Valverde, A. Sample size for the evaluation of presence-absence models. *Ecological Indicators* **2020** 114:1-7. [doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106289](https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106289).
  82. Dallas, T.A.; Santini, L. The influence of stochasticity, landscape structure and species traits on abundant-centre relationships. *Ecography* **2020** 43(9):1341-1351. <https://doi.org/10.1111/ecog.05164>
  83. Lira-Noriega, A.; Manthey, J.D. Relationship of genetic diversity and niche centrality: a survey and analysis. *Evolution* **2014** 68(4):1082-1093. <https://doi.org/10.1111/evo.12343>
  84. Pironon, S.; Papuga, G.; Villellas, J.; Angert, A.L.; García, M.B.; Thompson, J.D. Geographic variation in genetic and demographic performance: new insights from an old biogeographical paradigm. *Biological Reviews* **2017** 92(4): 1877-1909. <https://doi.org/10.1111/brv.12313>
  85. Pires, S.F. The illegal parrot trade: a literature review. *Global Crime* **2012** 13(3): 176-190. <https://doi.org/10.1080/17440572.2012.700180>
  86. Myers, N.; Tucker, R. Deforestation in Central America: Spanish legacy and North American consumers. *Environmental Review* **1987** 11(1):55-71. <https://doi.org/10.2307/3984219>
  87. van der Zee, A.; van der Zee, J.; Meyrat, A.; Poveda, C. (2012). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). **2012** 90pp.
  88. Hoffmann, A.A.; Sgro, C.M. Climate change and evolutionary adaptation. *Nature* **2011** 470:479-485. DOI: 10.1038/nature09670
  89. Sekercioglu, C.H.; Primack, R.B.; Wormworth, J. The effects of climate change on tropical birds. *Biological Conservation*, **2012** 148:1-18. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2011.10.019>

90. Zanin, M.; Palomares, F.; Mangabeira, A.L. Effects of climate change on the distribution of felids: mapping biogeographic patterns and establishing conservation priorities. *Biodiversity and Conservation* **2021** 30:1375-1394
91. Schurr, F.M.; Pagel, J.; Cabral, J.S.; Groeneveld, J.; Bykova, O.; et al. How to understand species' niches and range dynamics: a demographic research agenda for biogeography. *Journal of Biogeography* **2012** 39: 2146-2162.
92. Howard, C.; Stephens, P.A.; Pearce-Higgins, A.S.; Gregory, R.D.; Willis, S.G. Improving species distribution models: the value of data on abundance. *Methods in Ecology and Evolution* **2014** 5(6) 506-513. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12184>
93. Geldmann, J.; Coad, L.; Barnes, M.D.; Craigie, I.D.; Woodley, S. A global analysis of management capacity and ecological outcomes in terrestrial protected areas. *Conservation Letters* **2018** 11:e12434. <https://doi.org/10.1111/conl.12434>



## Phylogeography of the white-crowned parrot (*Pionus senilis*)

Canek Rivera-Arroyo<sup>1</sup>, Patricia EscalantePliego<sup>1\*</sup>,  
 Damián Aguilar-Torres<sup>2</sup> & Milton F. Úbeda-Olivas<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Biología, Ciudad de México, México.

<sup>2</sup>Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, Ciudad de México, México.

<sup>3</sup>URKU Estudios Amazónicos, Tarapoto, Peru.

\*Corresponding author: [tilmatura@ib.unam.mx](mailto:tilmatura@ib.unam.mx)

RIVERA-ARROYO, C., ESCALANTE-PLIEGO, P., AGUILAR-TORRES, D., ÚBEDA-OLIVAS, M.F.

**Phylogeography of the white-crowned parrot (*Pionus senilis*).** Biota Neotropica 22(4): e20221382. <https://doi.org/10.1590/1676-0611-BN-2022-1382>

**Abstract:** The white-crowned parrot *Pionus senilis* (von Spix, 1824) is distributed throughout Middle America, inhabiting the Gulf of Mexico coastal area from Tamaulipas (Mexico) to northern Panama. We used mitochondrial data (COI, ND2 and ND4) from 55 specimens to infer phylogenetic relationships, and analyzed the phylogeographic structure, genetic diversity, divergence periods, and historical demography to explore phylogeographic patterns. We found three divergent lineages: two geographically separated by the Isthmus of Tehuantepec, and the third, in Costa Rica by the Nicaragua Depression. The analysis of molecular variance and statistical analyses were consistent with genetically distinct populations. The Central American lineage diverged 1.33 million years ago, whereas the other two lines branched off 1.19 million years ago. This phylogenetic pattern has been reported in other species of Middle American birds.

**Keywords:** *Psittacidae*; genetic structure; conservation genetics.

## Filogeografia do maitaca-de-testa-branca (*Pionus senilis*)

**Resumo:** A curica-de-testa-branca *Pionus senilis* (von Spix, 1824) está distribuída por toda a América Central, habitando a área costeira do Golfo do México de Tamaulipas (México) ao norte do Panamá. Usamos dados mitocondriais (COI, ND2 e ND4) de 55 espécimes para inferir relações filogenéticas e analisamos a estrutura filogeográfica, diversidade genética, períodos de divergência e demografia histórica para explorar padrões filogeográficos. Encontramos três linhagens divergentes: duas geograficamente separadas pelo Istmo de Tehuantepec, e a terceira, na Costa Rica pela Depressão da Nicarágua. A análise de variância molecular e as análises estatísticas foram consistentes com populações geneticamente distintas. A linhagem da América Central divergiu há 1.33 milhão de anos, enquanto as outras duas linhas se ramificaram há 1.19 milhão de anos. Este padrão filogenético foi relatado em outras espécies de aves da América Central.

**Palavras-chave:** *Psittacidae*; estrutura genética; genética da conservação.

## Introduction

A comprehensive study of biodiversity must not only include ecological variability, but genetic variability as well, since it is essential for the persistence and evolutionary continuum of a species or lineage (Frankham et al. 2002). The International Union for Conservation of Nature places genetic diversity as one of the three global priorities for conservation (IUCN 1980). The order Psittaciformes has the highest number of endangered species among groups of birds, with 111 (28%) of the 360 species listed as in danger of extinction and shrinking population sizes in 56% of its species (Berkunsky et al. 2017). Given the current extinction processes, the genetic studies needed to support conservation programs are of

utmost importance (Avice 2002, Frankham et al. 2002, Olah et al. 2022).

Phylogeography can be considered a theoretical bridge between population genetics and phylogenetic biology. Ever since phylogeography was conceived and has been applied, it has made valuable contributions to the comprehension and protection of biodiversity (Avice et al. 2016). Information thus obtained may be useful to determine possible evolutionarily significant units (ESUs), which are needed to apply conservation plans. Phylogeographic studies have been applied to solve the existence of several cryptic Psittacidae taxa (Russello and Amato 2004; Joseph et al. 2011; Murphy et al. 2011). They have made it possible to observe the effect of fragmentation and bottlenecks on population structure (Ringler et al. 2012; Miller et al.

2013; Bergner et al. 2016), as well as elucidate how evolutionary history has woven the current diversity patterns in the species (Murphy et al. 2007; Caparroz et al. 2009; Murphy et al. 2011). These studies have fostered awareness of how important the preservation of a species' evolutionary potential is for it to persist, thus improving our understanding of factors associated with habitat fragmentation, the effect of endogamy, and loss of populations. Since species lacking robust information are in particular need of such studies, it is fundamental that genetic data be obtained to distinguish their phylogeographic patterns.

The genus *Pionus* has eight species of parrots, four of which are allopatrically distributed in mountain forests from northern Mexico to South America, and four others are in the lowlands (Juniper & Parr 1998, Ribas et al. 2007). This is consistent with speciation patterns caused by vicariance, since mountain groups are limited by boundaries related to topographic diversity isolating the mountain forests surrounded by lower, warmer lands (Ribas et al. 2007). The genus *Pionus* diversified in the late Miocene and early Pliocene, approximately 4.7 to 5.8 million years ago (Ribas et al. 2007). The white-crowned parrot is the only species in the genus that is distributed in northern Middle America, and it expands from Mexico (from southern Tamaulipas along the Gulf of Mexico coastline to the Yucatan Peninsula and Chiapas) to the west of the Isthmus of Panama. Mexican laws have cataloged it as a Threatened species (NOM-059, SEMARNAT 2010), whereas the International Union for Conservation of Nature has it listed as of Least Concern (IUCN 2016).

Spix described the species *Pionus senilis* in 1824 from a specimen that was later determined to have been obtained from Veracruz, Mexico. The species was considered monotypic until Griscom (1929) described *P. s. decoloratus* from the populations in southern Quintana Roo (Mexico), Guatemala, Honduras, and western Panama. The latter is distinguished by the darker purple, less blue, plumage on the chest and throat; the abdomen and sides are an olive green instead of a bright green, and the primary feathers are mostly bright blue with little green. The typical *P. senilis* is greener and has a green stripe between the blue and dark areas of the inner vanes of the external primary feathers. The above description explains that the southern populations (southeastern Nicaragua, Costa Rica and Panama) are differentiated by these characteristics, and that those in Quintana Roo (Mexico), Belize, Honduras, and northern Nicaragua are intermediate.

This species' populations have dwindled in Mexico and have even vanished from western Quintana Roo and several areas along the Gulf of Mexico (Salinas-Melgoza & Renton 2008). This is mostly due to the impact that human activity has had on its habitat (evergreen tropical forest, oak forest, and lower mountain forest), which has been highly deforested for farming. As a result, it inhabits only 48% of its original area, and only 16.2% of this surface is protected (Monterrubio-Rico et al. 2016). Further, this species is illegally sold as a pet (Cantú et al. 2007). There is little data on the species in Central American countries.

Given its progressive depletion and possible population fragmentation, a conservation plan for the species is important because it would then be possible to keep the populations comprising evolutionary units safe and flag them as of high conservation priority (Ryder 1986). To achieve this goal, we investigate population differentiation patterns with three mitochondrial markers applied at the

intraspecific level with genealogy analyses. These data would facilitate the study of population evolution, deductions concerning lineage colonization, diversification and extinction, and the identification of geological or ecological causes that influenced the populations (Avisé 1998, Domínguez-Domínguez and VázquezDomínguez 2009).

Following this need to learn more about the white-crowned parrot (*Pionus senilis* [Von Spix 1824]), we decided to perform a phylogeographic analysis with these main objectives: a) identifying genetic lineages within the entire distribution area of the species, b) revealing the likely geological events that allowed the current distribution of the distinct haplotypes, and c) identifying the geographic barriers that have influenced the distribution of genetic lineages.

## Material and Methods

### 1. Biological samples

Blood samples were taken from white-crowned parrot specimens between 2017 and 2019 using collection permit SGPA/DGVS/05058/17. Each sample was georeferenced. One 0.1-ml blood sample was taken from each parrot, conserved on an FTA card, and placed in the National Bird Collection at the Institute of Biology of the National Autonomous University of Mexico (Universidad Nacional Autónoma de México, UNAM). We collected and analyzed samples from 59 individuals from 11 localities ranging from northern Mexico (state of Tamaulipas) to Costa Rica (Table 1, Figure 1). The capture of wild samples was unsuccessful because of the challenge of catching the parrots while foraging, the difficulties in finding and climbing to their nests, and time constraints. We resorted to collecting samples of captive individuals in the locations studied with the certainty that these individuals were captured in the area. This conclusion was based on the information provided by owners, and on the fact that many rural people collect nestling's locality. They keep them as pets and perhaps sell them to people that look for them illegally, but they cannot afford to buy them in the illegal trade, a situation more likely in cities. Additional samples were facilitated by the Macaw Mountain Bird Park (Honduras), and Rescate Animal Zoo Ave (Costa Rica). Each sample was georeferenced. One 0.1-ml blood sample was taken from each parrot, conserved on an FTA card, and placed in the National Bird Collection at the Institute of Biology of the National Autonomous University of Mexico (Universidad Nacional Autónoma de México, UNAM). We collected and analyzed samples from 59 individuals from 11 localities ranging from northern Mexico (state of Tamaulipas) to Costa Rica (Table 1, Figure 1).

### 2. DNA extraction, PCR amplification and marker sequencing

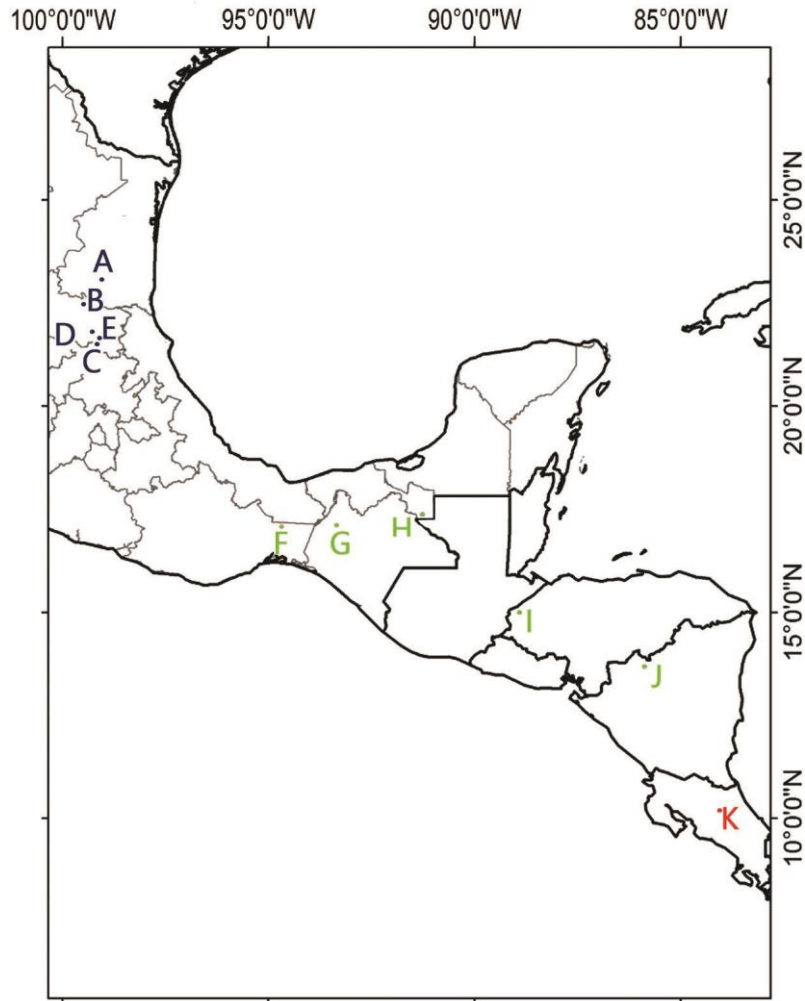
Genome DNA was obtained using a modified technique to extract DNA from animal tissue using phenol-chloroform. We amplified mitochondrial fragments *NADH dehydrogenase II (ND2)*, *NADH dehydrogenase 4 (ND4)*, and *cytochrome oxidase I (COI)*. We were able to amplify 55 individuals with the three genes. The ND2 gene was amplified using L5215 (Hackett 1996) and H6313 primers (Bonaccorso et al. 2010), ND4 and LEU primers were used for ND4

(Arévalo et al. 1994), and COI was amplified using COIbird F1 and COIbird R1 primers (Hebert et al. 2004).

The amplification reactions caused by the polymerase chain reaction (PCR) (12.5 µL) were prepared with 6 µl 10% trehalose,

**Table 1.** Localities and number of collected the white-crowned parrot (*Pionus senilis*) samples.

Country	State	Locality	Samples	ID	Latitude	Longitude
Mexico	Tamaulipas	El Cielo	9	RCRA1 – RCRA3, RCRA25 – RCRA30	23.024	–99.148
Mexico	San Luis Potosí	El Naranjo	2	RCRA4, RCRA5	22.572	–99.343
Mexico	San Luis Potosí	Aquismon	1	RCRA6	21.624	–99.028
Mexico	San Luis Potosí	Xilitla	2	RCRA7, RCRA8	21.375	–99.990
Mexico	San Luis Potosí	Santos	1	RCRA9	21.572	–99.961
Mexico	Oaxaca	Chalchijalpan	3	RCRA14 – RCRA16	17.057	–94.656
Mexico	Chiapas	Tecpatan	3	RCRA17 – RCRA19	17.137	–93.318
Mexico	Tabasco	Tenosique	5	RCRA20 – RCRA24	17.256	–91.133
Honduras	Copán	Macaw Mountain	11	Hon-23 – Hon-33	14.851	–89.154
Nicaragua	Jinotega	Wiwili	10	Nica 13-1, Nica 14-2, Nica 15-4, Nica 16-3, Nica 17-5, Nica 18-6, Nica 19-7, Nica 20-8, Nica 21-9, Nica 22-10	13.584	–85.803
Costa Rica	Alajuela	Zoo Ave	12	Avezoo1 – Avezoo 12	10.012	–88.276



**Figure 1.** Sampling areas of the white-crowned parrot (*Pionus senilis*) along its distribution Centroamerica. A. El Cielo, Tamaulipas; B. El Naranjo SLP; C. Xilitla SLP; D. Aquismon, SLP; E. Santos, SLP; F. Chalchijalpan, Oaxaca; G. Tecpatan, Chiapas; H. Tenosique, Tabasco; I. Macaw Mountain, Copán; J. Wiwili, Jinotega and K. Zoo Ave, Alajuela. The colors represent the three unique genetic lineages of this work: Northern (blue), Center (green) and Southern (red).

2  $\mu$ l distilled water, 10 mM PCR buffer, 0.2 mM of each dNTP, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.3  $\mu$ M of each primer, 0.5 units of Taq DNA polymerase, and approximately 50 ng of genome DNA. Both DNA chains were sequenced using the amplification primers and the dideoxy method (Sanger et al. 1977). The PCR products were sent for sequencing to the Biodiversity and Human Health Genome Sequencing Laboratory (Laboratorio de Secuenciación de la Biodiversidad y de la Salud) at the UNAM Institute of Biology and to Macrogen (Maryland, USA).

### 3. Sequence analysis

Sequences were edited using BioEdit v7.2 software (Hall 1999), and chromatograms were manually checked using FinchTV v1.4 software. In addition, each sequence was compared to the information available at GenBank using the basic local alignment search tool (BLAST), which made it possible to establish a 96–99% identity in each sequenced case. MEGA v10 software was used to read sequences (Tamura et al. 2011).

Genetic diversity indicators, such as number of mitochondrial haplotypes (h), number of polymorphic sites (S<sub>n</sub>), genetic diversity (H), average number of differences between pairs of sequences ( $\pi$ ), and nucleotide diversity (k), were calculated using DNAsp v10 software (Rozas & Rozas 1999). Different summary statistics were also implemented to determine whether the markers assume a neutral evolution model: Tajima's D (Tajima 1989), Fu (Fu & Li 1993) and F<sub>s</sub> (Fu 1997). We used MEGA v10 software to identify the genetic distances between groups (Tamura et al. 2011) and individuals were assembled into groups established by phylogenetic trees using the Kimura twoparameter substitution model.

An analysis of molecular variance (AMOVA) (Excoffier et al. 2005) was conducted to determine whether genetic variation and differentiation between the groups had a structured distribution. This analysis breaks variance down into (a) differences in haplotype composition among individuals from individual populations (variance within a population); (b) differences in haplotype composition of individuals from different populations (variance between populations);



and (c) differences in haplotype composition between groups of populations (variance between  $F_{ST}$  regions). We performed this analysis using GenAIEx v6.0 software (Peakall & Smouse 2006) with 9999 permutations. To know whether a species' gene flow follows an isolation by distance model (i.e., whether the geographic distances and genetic distances between different pairs of populations are correlated), we performed a Mantel test using GenAIEX v6.0 software (Peakall and Smouse 2012). This analysis assumes that genetic distances increase with geographic distance. The test computes the correlation between a geographic distance matrix versus a genetic distance matrix, then permutes the matrices and computes the same test statistic under each permutation and compares the original test statistic with the distribution of the test statistic from the permutation to generate the p-value.

#### 4. Relationships between haplotypes and genealogical analyses

We constructed a haplotype network in PopART v1.7 (Leigh & Bryant 2015) using the MJN algorithm, to represent the relationships between haplotypes at each sampling locality. PopART v1.7 software starts from the number of paired substitutions to introduce medium vectors that represent the haplotypes the concatenated 55 individuals. An analysis was also performed with Split Tree v4 software (Huson & Bryant 2006) using Neighbor Net with the GTR substitution model and 400 bootstrap replicas.

We reconstructed genealogical relationships using Bayesian inference (BI) and maximum likelihood (ML). The matrix for these analyses included 55 sequences of COI, ND2 and ND4 from the samples collected in the field, in addition to sequences belonging to *Pionus chalcopterus* (GenBank Access: MF784450.1) that we included as an external group. Molecular evolution models were estimated with jModelTest v2.1.1 (Posadas 2008), using the corrected Akaike's Information Criterion (AICc) (Alfaro and Huelsenbeck 2006). TN93 was the best model for ND2 (Tamura and Nei 1993 + 3 rates), TIM1 for ND4 (Posada, 2008), and HKY for COI (Hasegawa et al. 1985). The best model for the concatenated sequences (COI + ND2 + ND4) was TIM3 (Posada 2008). We used MrBayes v3.2 (Ronquist and Huelsenbeck 2003) and RAxML v7.8 software (Stamatakis 2014), respectively, to reconstruct Bayesian inference and maximum likelihood. MrBayes made two independent runs of 30,000,000 generations and four Markov chains (Markov Chain Monte Carlo), testing a tree every 2,000 generations at a temperature of 0.3 and burning 30% of the generated data. The remaining trees were summarized as majority consensus. In RAxML, the ML+ through bootstrap search was performed with 10 searches and 10,000 replicas. Trees were displayed in FigTree v1.4.0 (Rambaut 2014).

#### 5. Molecular clock

We analyzed the molecular clock by implementing the BEAST v.1.6.1 program (Drummond & Rambaut 2007) to estimate the divergence time in a tree of species. We used the 55 concatenated sequences of the three-mitochondrial markers, calibrating with *Pionus chalcopterus* to 2.2 million years in the past when the two species branched off (Ribas et al. 2007). We ran a simulation to determine when the three white-crowned parrot lineages separated, using GTR as the substitution rate, with estimated base frequencies, gamma shape distribution (with 4 categories), proportion of invariant sites, a relaxed molecular clock with uncorrelated lognormal

distribution and a Yule tree prior. We performed the BEAST analysis three times with 100 million generations each time and took a sample every 1000 steps using the Yules speciation tree, an uncorrelated relaxed clock model with log-normal distribution. After running the analyses through BEAST, we used TRACER v.1.6 to observe the parameters of the results. We then combined the tree files (.tree) using LOGCOMBINER and summarized them as a maximum clade credibility tree produced by TREEANNOTATOR (Drummond & Rambaut 2007) after burning 30%. This tree was displayed in Figtree.

#### 6. Historical demography

To evaluate whether the data were consistent with the occurrence of selection at a molecular level or with past demographic expansion, we calculated the observed distribution of the number of differences between pairs of haplotypes using DnaSP v5.10 software to distinguish whether the populations, Northern (14), Central (30), and Southern (11) were in demographic equilibrium (Librado & Rozas 2009).

### Results

#### 1. Analysis of genetic diversity and differentiation

We obtained amplification products with the COI gene from 59 individuals, with the ND2 gene from 55 individuals, and with the ND4 gene from 58 individuals, though only 55 individuals simultaneously exhibited all three fragments. No insertions or deletions were found, and the start and stop codons were at the expected sites. Base composition patterns were those expected for avian mtDNA. No compositional bias was found in the bases. The three genes were concatenated in 55 individuals, resulting in a total dataset of 2222 base pairs. Seventeen variable sites, 16 informative sites and five haplotypes were found. General haplotype diversity ( $h$ ) was 0.706 and nucleotide diversity ( $\pi$ ) was 0.00254. Tajima's  $D$  was  $D = 1.412$  ( $P > 0.10$ ). Statistical data  $F_u$  and  $F_L$ 's  $F = 1.64$  and  $F_u$ 's  $F_s = 1.65$  ( $P > 0.10$ ) were not significant (Table 2).

We detected four haplotypes with COI and ND2, three with ND4, and five with the concatenated sequences when all of the samples were analyzed as a single group. Almost every population exhibited a single haplotype, even those with a larger sample size (Nicaragua, Costa Rica, and Honduras). Nucleotide diversity was also low ( $\pi = 0.00254$ ) (Table 2). The genetic distances between groups were less than 1%:

0.23% between populations in northern Mexico and Central America, 0.58% between northern Mexico and Costa Rica, and finally 0.54% between Central America and Costa Rica.

The comparison by pairs of the  $F_{ST}$  values showed high differentiation between the population groups (Table 3). The comparison of central populations (southern Mexico, Honduras, and Nicaragua) with those from the south (Costa Rica) had the highest  $F_{ST}$  value (0.992), while the comparison of populations from the north (northeastern Mexico) with those from the south had an  $F_{ST}$  value of 0.956. The lowest  $F_{ST}$  value was obtained when the populations from the north were compared with those from the center (0.904). AMOVA results showed that the greatest genetic difference occurs between the population groups with 99.5% of differences, whereas the difference within the populations is 0.18%. The

correlation between the geographic distance matrix and the genetic distance matrix was moderately significant ( $r = 0.568$ ,  $p < 0.05$ , Figure 2), indicating that partly a process of isolation by distance undergone by this species' populations (Table 4).

## 2. Relationships between haplotypes and their geographic distribution

The haplotype network showed the relationships of the three haplogroups and their frequencies found in the 55 individuals (Figure 3). In the network, the green haplogroups of the Costa Rican specimens are separated by 12 mutations from the other two groups (Hap 1, southern group). All of the specimens from the populations in northeastern Mexico are included in a single haplogroup (blue) (Hap 5, northern group). The populations in southern Mexico, Honduras and Nicaragua are in the pink-cherry-purple haplogroup and are widely distributed (Haps 2-4, central group). The latter group has three haplotypes: haplotype 2, which is common, haplotype 4 in three

individuals from Tenosique, and haplotype 3 in a specimen from Nicaragua (Figures 3 and 4).

The Red Split Tree analysis also produced three groups (Figure 5), which are similar to those reported by prior analyses. The first southern group included individuals from Costa Rica, the second central group had individuals from southern Mexico (Tecpatan, Tenosique, and Chalchijalpal localities) and northern Central America (Honduras and Nicaragua), and specimens from northeastern Mexico (states of Tamaulipas and San Luis Potosí) comprised the third northern group.

## 3. Genealogical analysis

Phylogenetic analyses were performed to estimate the genealogical relationships between the detected groups (Figure 6). The tree constructed from Bayesian inference coincides with the topology obtained by maximum likelihood. The analyzed samples were grouped into three clades: the first with 11 specimens from Costa Rica; the second

**Table 2.** Genetic diversity indices obtained for the white-crowned parrot (*Pionus senilis*).

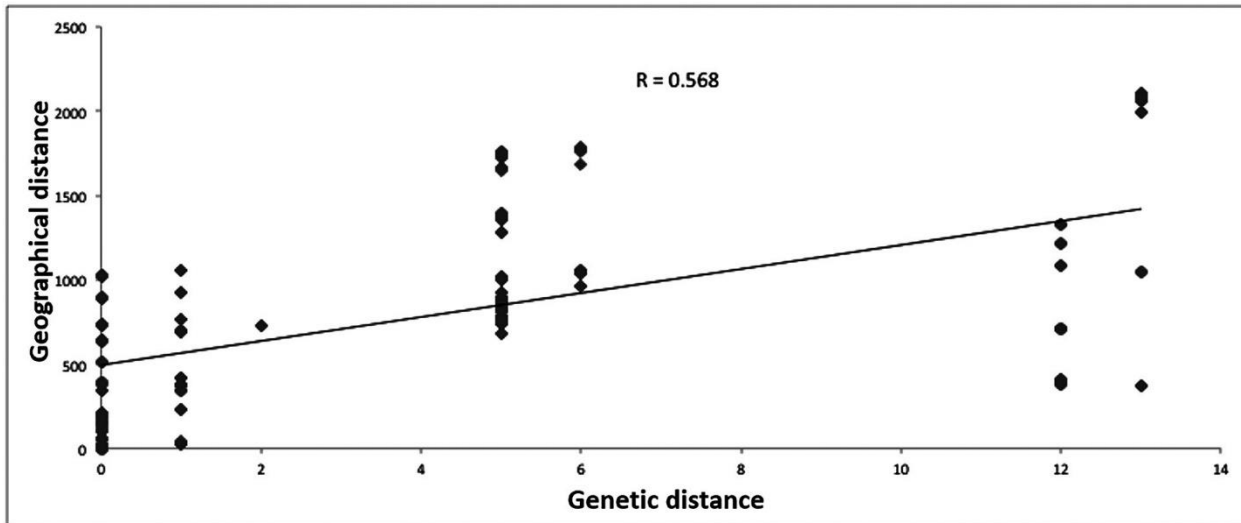
Gene fragment	N	Nt	H	S	Hd	Pi	Dt	Fu y Li	Fs fu
COI	60	677	4	12	0.655	0.00297	0.90837	1.23	1.53
ND2	56	767	4	12	0.674	0.00222	0.90837	1.04	1.23
ND4	58	778	3	10	0.627	0.00283	2.488	1.14	1.21
Concatenated	55	2222	5	34	0.706	0.00254	1.412	1.64	1.65

N = sample size, Nt = base pairs, H = haplotypes, S = polymorphic sites, Hd = haplotype diversity, Pi = nucleotide diversity, Dt = D Tajima significant at  $p < 0.10$ .

**Table 3.** Genetic differentiation for the white-crowned parrot (*Pionus senilis*) groups.

		%	F <sub>ST</sub>	G <sub>ST</sub>	N <sub>ST</sub>
Northern	Southern	0.4%	0.956	0.785	0.956
Northern	Central	0.3%	0.904	0.793	0.904
Southern	Central	0.5%	0.992	0.894	0.992

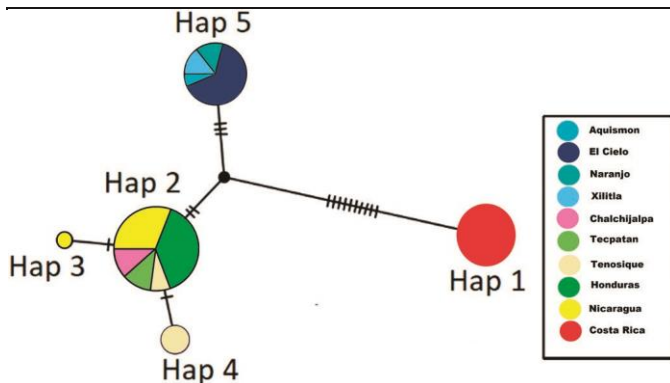
% genetic distance F<sub>ST</sub>, genetic differentiation between populations; G<sub>ST</sub>, genetic differentiation between populations; N<sub>ST</sub> nucleotide diversity between populations.



**Figure 2.** Concatenated Mantel test for all populations of the white-crowned parrot (*Pionus senilis*). The AMOVA test produced genetic diversity distribution values of 99.5% between the groups; the rest is distributed among the populations.

**Table 4.** AMOVA summary for the white-crowned parrot (*Pionus senilis*) populations using concatenated mitochondrial gene sequences.

Source	df	SS	Components variation	% variation
Among groups	2	1687.759	45.610	99.5
Among populations within groups	8	4.136	0.085	0.32
Within groups	49	6.889	0.14	0.18
Total	59	1698.78	45.835	100%

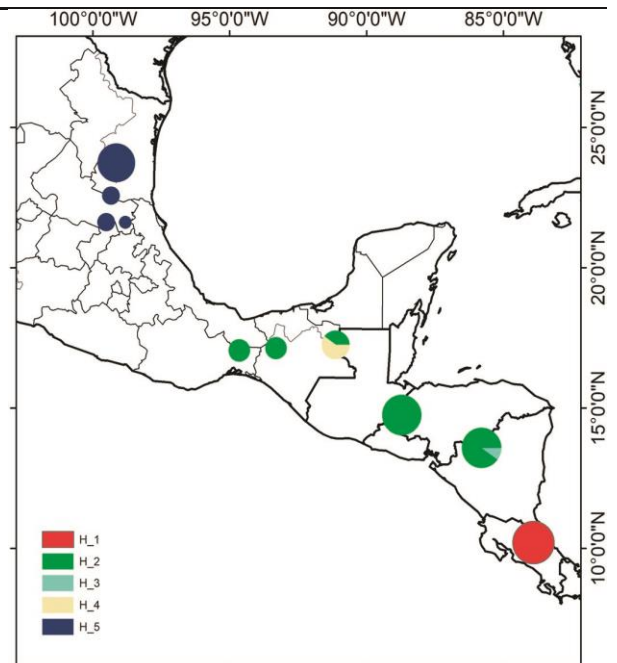


**Figure 3.** Concatenated haplotype network of the white-crowned parrot (*Pionus senilis*) for populations in Mexico, Honduras, Nicaragua, and Costa Rica using nucleotide sequences ND2, ND4 and COI. Dashes on haplotype network branches indicate mutations between haplotypes and the sizes of circles are proportional to the number of samples for each haplotype.

with 30 specimens from Nicaragua, Honduras, and the localities of Tecpatan, Tenosique, and Chalchijalpa, Mexico; and the third with 14 individuals from the populations in northern Mexico, namely El Cielo, El Naranjo, Xilitla and Santos.

#### 4. Molecular clock

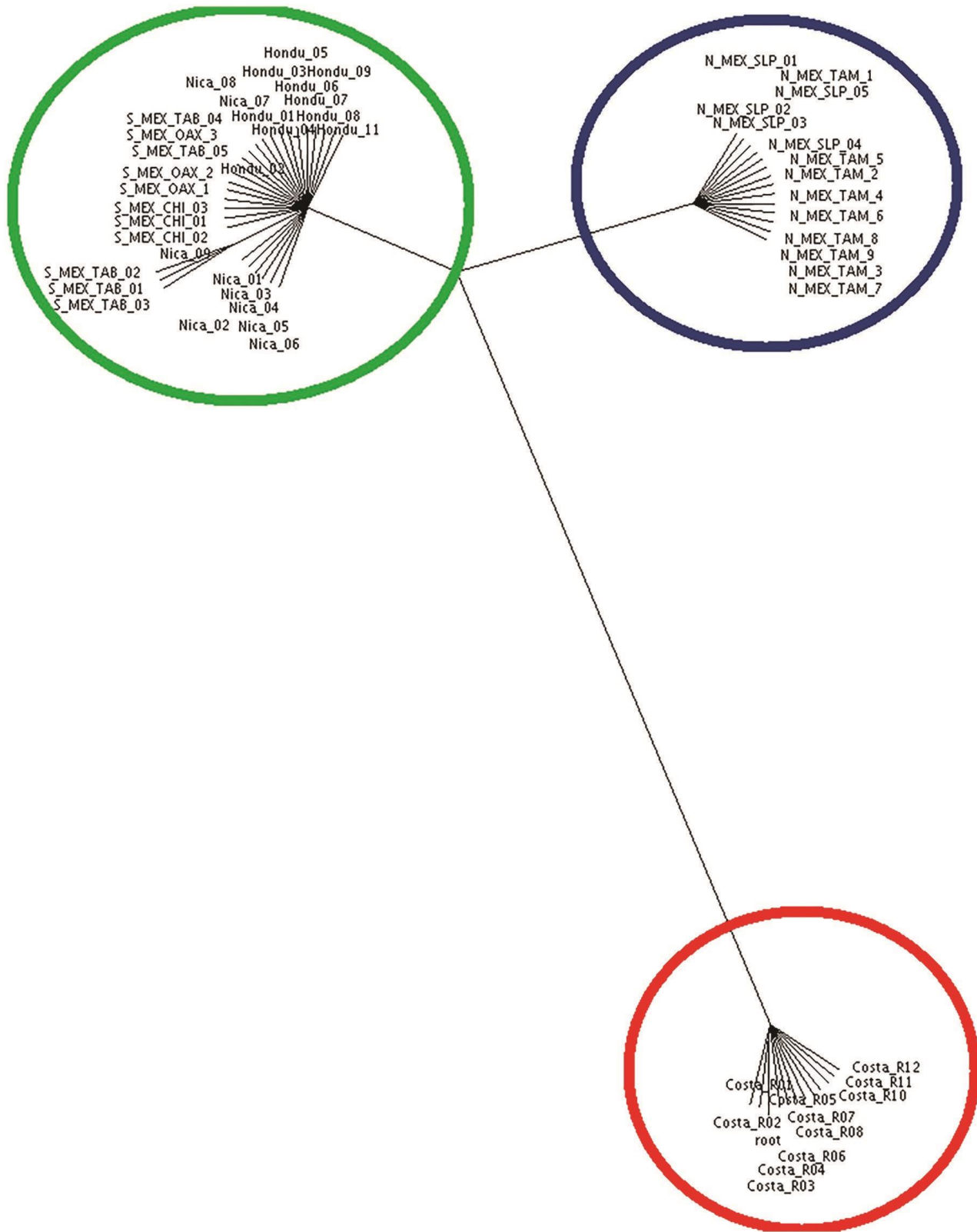
The BEAST analyses produced a high effective sample size (ESS)



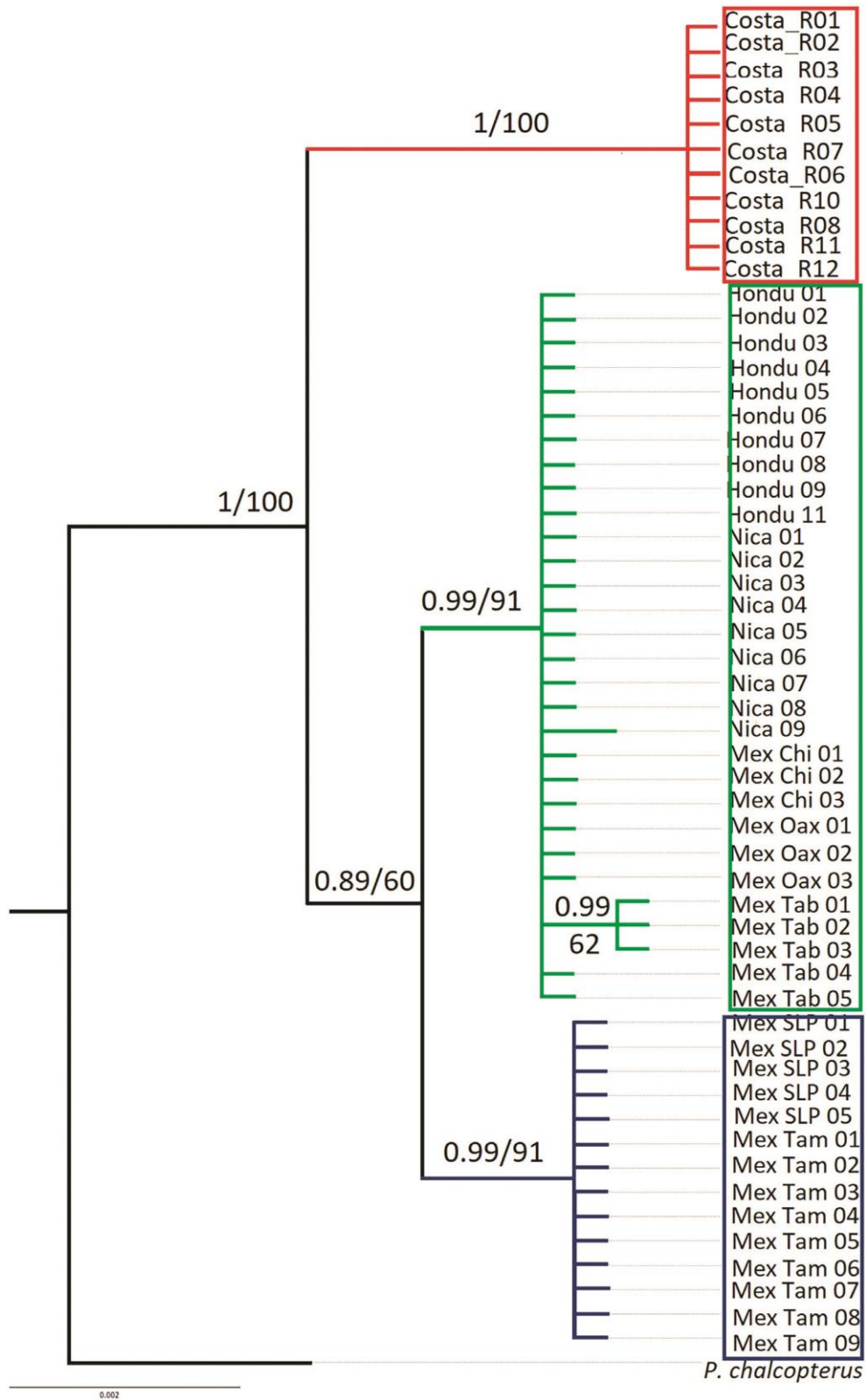
**Figure 4.** Geographical distribution and statistical parsimony network of concatenated haplotypes of white-crowned parrot (*Pionus senilis*) overlaid

(200) for all parameters, indicating that the posterior distribution

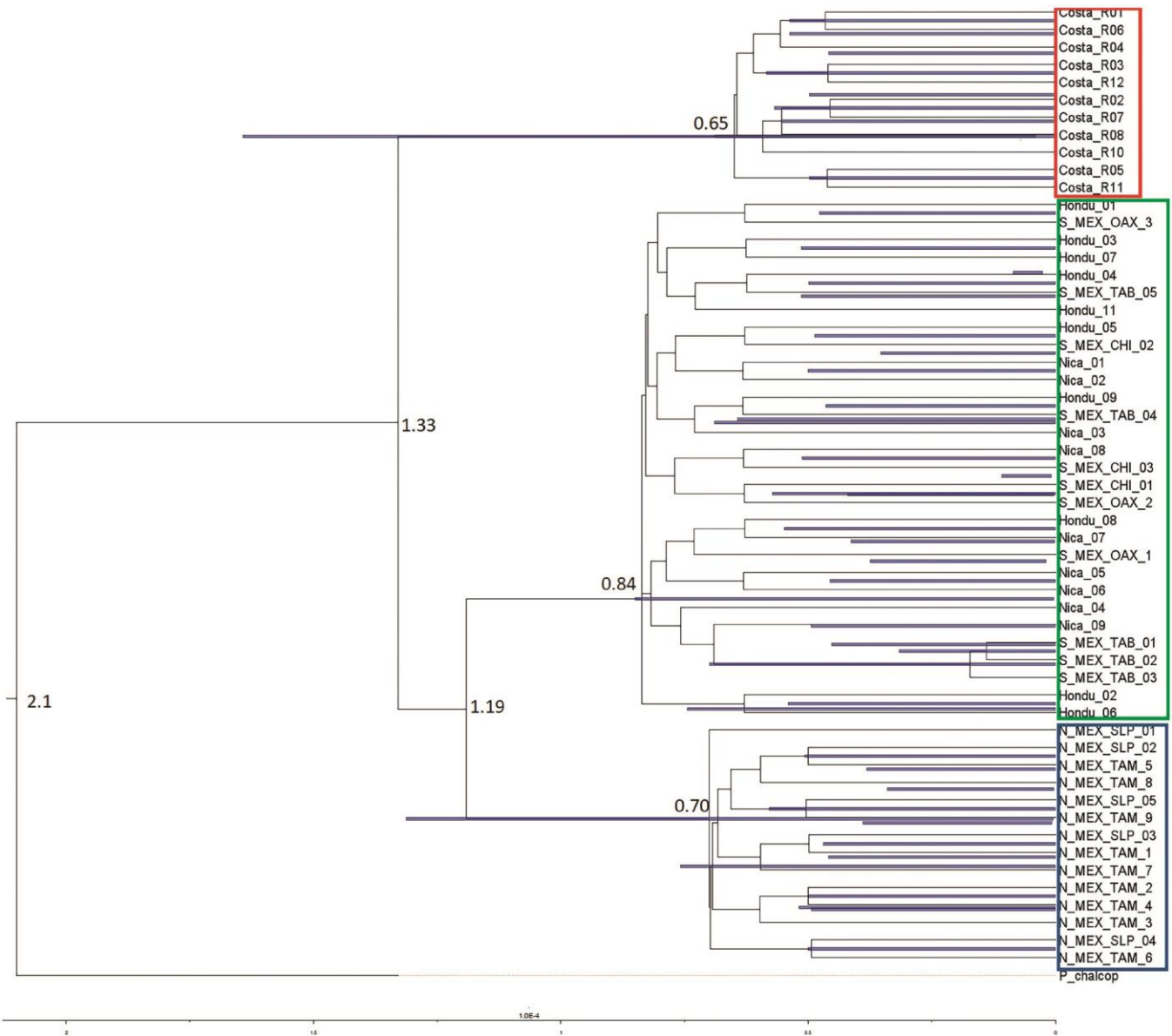
on a map of Centro America. Pie charts represent haplotypes found in each sampling locality.



**Figure 5.** Concatenated Split Tree of the white-crowned parrot (*Pionus senilis*) for populations in Mexico, Honduras, Nicaragua, and Costa Rica using nucleotide sequences ND2, ND4 and COI. The distance between taxa represents the sum of weights of all splits that separate taxa.



**Figure 6.** Consensus (ND4, COI and ND2) tree showing the genealogical relationships between 55 individuals of white-crowned parrot individuals (*Pionus senilis*) with *Pionus chalcopterus* as outgroup obtained with Bayesian inference (BI) and maximum likelihood analysis (ML). Node values represent posterior probabilities and bootstrap values (PP / BP). The scale bar below is a reference of branch length, and branch length is proportional to the amount of evolutionary change. Populations groups: Northern (blue), Center (green) and Southern (red).



**Figure 7.** Estimates of divergence time in years shown by lineages of the white-crowned parrot (*Pionus senilis*) populations based on the concatenated 2222 bp data from mtDNA sequences. Blue bars on the tree correspond to the 95% credibility intervals of the estimated node ages. The colors represent the three outstanding genetic lineages of this work: Northern (blue), Central (green) and Southern (purple).

was adequately sampled. This result concurred with the Bayesian inference and maximum likelihood analyses. The tree from BEAST (Figure 7) with mtDNA data strongly supported (PP = 1.0) a division between the Costa Rican (Southern) lineage and the other two lineages that occurred 1.33 Mya (95% highest posterior density [HPD]), as well as the differentiation between the other two lineages (PP = 0.53) at 1.19 Mya (95% HPD). The Central lineage was dated at 840,000 years and the Northern lineage at 700,000 years. Results from the mitochondrial data suggest that both lineages branched away during the Pleistocene.

### 5. Historical demography

Distribution analysis of concatenated paired differences (Figure 8) showed a distribution that would be expected of a constant

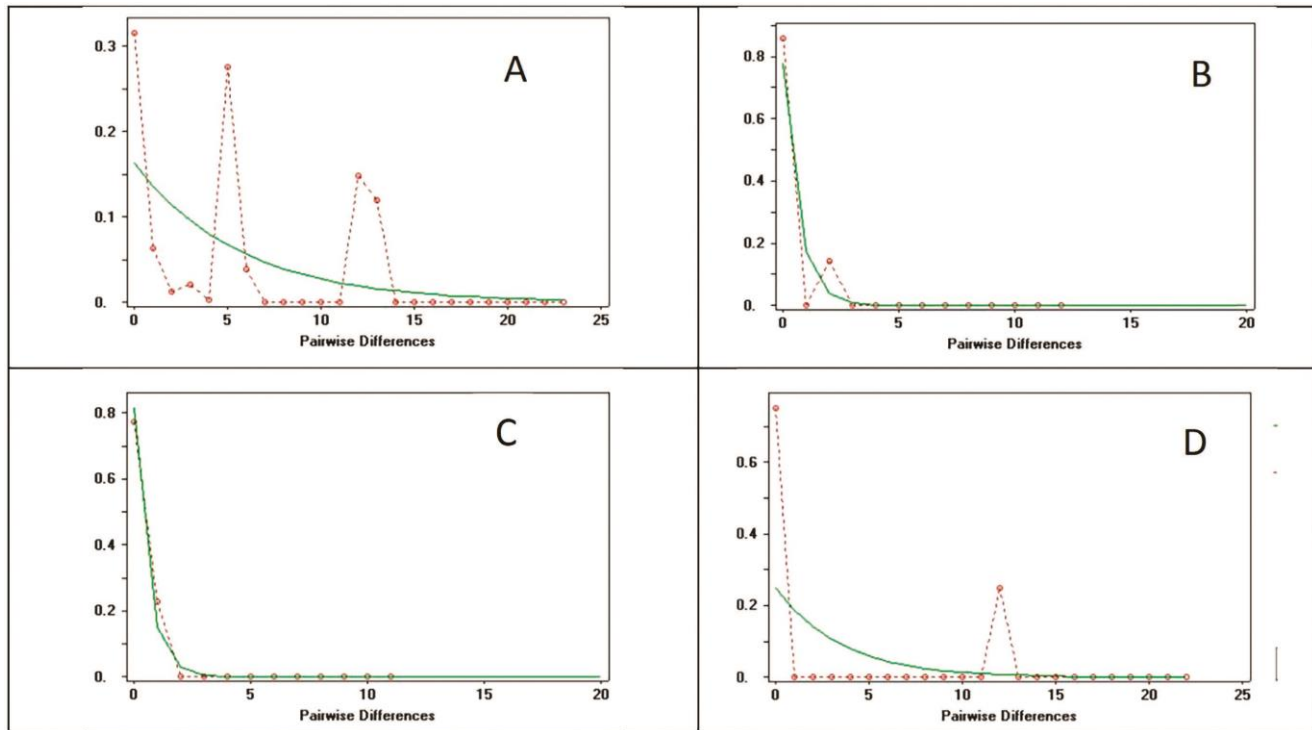
population size. This result fits the population expansion of the global sample analyzed for populations of the white-crowned parrot. Specifically, for haplogroups only the central group fits a stable distribution model.

## Discussion

We conducted the first complete phylogeographic study for a charismatic, but least studied, parrot in Middle America. Our mtDNA data revealed three genetic groups. The first group corresponded to individuals from the states of Tamaulipas and San Luis Potosí in northern Mexico (Northern), the second to populations in southern Mexico, Honduras, and Guatemala (Central), and the third exclusively

to specimens from Costa Rica (Southern). These white-crowned parrot groups are separated by a short genetic distance (0.5–0.3%, Table 3). *P. senilis* branched away from *P. cyanescens*/*P. chalcopterus* about 2.2 – 1.2 million years ago (Ribas et al. 2007). This finding, and the

et al. 2015; Presti et al. 2015; Astuti 2020; Ewart et al. 2021). Low nucleotide diversity values ( $\pi < 0.0025$ ) and a small number of haplotypes are characteristic of the effects of population demographic expansion over a relatively recent period (Hamilton 2009). This has



**Figure 8.** Mismatch distributions of the white-crowned parrot (*Pionus senilis*) populations: concatenated (A), Northern (b), Central (C), Southern (D). Dashes lines indicates the observed distribution of pairwise differences (red and solid lines show the expected distribution (green) under a model of sudden expansion.

fact that *P. senilis* is mostly distributed in lowlands at present, strongly implies an ancestral distribution across Central American lowlands (Ribas et al. 2007).

White-crowned parrots have a wide geographic distribution, yet no studies have been made of the connectivity between its populations. Our mtDNA data show consistent levels of phylogeographic structure among the three population groups, though it must be determined whether this result stems from their historical biogeography (i.e., it is caused by geographic boundaries) or from gaps in sampling. We discovered that the genetic structure in all three groups was consistent, even when the isolation by distance analysis was taken into consideration. Moreover, the highest  $F_{ST}$  values point to a greater genetic differentiation between the Central and Southern groups (0.992), which are geographically closer to each other, and the  $F_{ST}$  values (0.956) for the Northern-Southern and Northern-Central groups are extremely high compared to any other species (Table 3).

Although the Northern and the Southern groups each presented a unique haplotype, three unique haplotypes were found in the Central populations, indicating high haplotype diversity ( $H_d$ ) in total ( $h = 0.706$ ). These data are similar to those reported by other studies on Psittacidae, such as *Cyanoliseus patagonus* with a haplotype diversity of 0.943, *Eolophus roseicapilla* with  $H_d$ : 0.817, *Anodorhynchus hyacinthinus* with  $H_d$ : 0.604, *Eclectus roratus* with  $H_d$ : 0.500 and *Lophochroa leadbeateri* with  $H_d$ : 0.602 (Masello et al. 2011; Engelhard

been attributed to expansion following a small effective size period in the population, since rapid growth in a population increases its retention of new mutations (Avice et al. 1984, Watterson 1984).

Tajima's D and Fu's  $F_s$  neutrality tests were performed to measure the effect of the population's demographic changes on sequences of mtDNA. The  $F_s$  test is more powerful at detecting recent or selected population growth and demographic expansion than Tajima's D (Tajima 1989), and it usually produces high negative values. The analyses showed that both Fu's,  $F_s$ , and Tajima's D tests had non-significant values (Table 2), indicating that the mutations neither favor nor hinder the organism and thus do not exert selection pressure (Ramos-Onsins and Rozas 2002).

We recovered a clear phylogeographic structure even though the genetic groups are separated by few mutations. The geographic distribution of genetic variation is not entirely random (as indicated by the AMOVA and  $F_{ST}$  values), suggesting a scenario in which the groups have been diverging in isolation and then expanding their distribution range. Furthermore, the low nucleotide diversity but high haplotype diversity we found in *P. senilis* is consistent with populations with small effective sizes that undergo rapid population growth (Grant and Bowen 1998). Although they are similar, the different haplotypes in the populations suggest that there is no detectable gene flow between the three *P. senilis* population groups. This is also supported by the AMOVA results, which indicate that the

largest percentage of genetic variation is spread throughout the population groups (99.5). There is little variation within lineages.

The  $F_{ST}$  and  $R_{ST}$  values (Table 2) and the haplotype networks (Figure 3) show that the populations of *P. senilis* are separated into three lineages with geographic distributions that do not overlap. In this study, the pattern observed in the haplotype network and the results from molecular dating point to the diversification of the different haplotype groups 1.3 million years ago, even when a small number of haplotypes exist in the geographically distant groups (e.g., samples from southern Mexico and Nicaragua) with low levels of nucleotide diversity. Since the displacement range of this species has not been studied, it would be interesting to determine the displacement range of the populations throughout their territory, showing how dispersion capacity affects the genetic structure of their populations.

An analysis of endemism using four different groups of fauna found that after the Trans-Mexican Volcanic Belt separates the highest amount of biota between N and S Mexico and Central America, the Isthmus of Tehuantepec and the Nicaraguan depression are the following marked barriers (Miguez-Gutierrez et al. 2013). Correlating geologic and genetic studies to elucidate the patterns of biogeographic and evolutionary history in Central America, four tectonic blocks appear, Maya, Chortis, Chorotega, and Chocó, and three evolutionary groups separated by the barriers between these tectonic blocks emerge, the Mayan, Mid-CA, and Panamian. After the Great American Biotic Interchange (3.1 to 2.5 Ma) after the formation of the Isthmus of Panama, new migrations or colonizations prompted by the Pleistocene climatic fluctuations and local volcanic activity followed (Gutiérrez-García and Vázquez-Domínguez, 2013).

Prior studies based on mtDNA have revealed a strong differentiation between the populations of different vertebrates inhabiting Middle America. In the case of the glass frog *Hyalinobatrachium fleischmanni* six concordant genetic lineages have been described with geographical barriers of the Sierra Madre del Sur, the Tehuantepec isthmus, Motagua–Polochic–Jocotán fault system, Hess escarpment, and the Panama Isthmus (Mendoza et al. 2019). Regarding some clades of snakes, genetic divergences correspond to the depression of Nicaragua, the Chortis block, the Maya block, and the Isthmus of Tehuantepec. (Daza et al. 2010).

The Isthmus of Tehuantepec is undoubtedly an important barrier in the distribution of genetic lineages, as is the case of rodents of the genus *Reithrodontomys* (Sullivan et al. 2000), *Peromyscus* with 5.7% of divergence between its different groups (Kilpatrick et al. 2021), salamanders (Rovito et al. 2012; Rovito and Parra-Olea 2016), the toad *Incilus valliceps* (Mulcahy et al. 2006) and bats (Guevara-Chumacero et al. 2013, Hernández-Canchola and León-Paniagua 2017). Even the genetic structure of mammals with a higher dispersion capacity has been influenced by the Isthmus of Tehuantepec, as is the case of the coati *Nasua narica* (Nigenda-Morales et al. 2019).

Geological information (Barrier et al. 1998; Manea and Manea 2006) suggests that a highland corridor spanned the Isthmus of Tehuantepec during the Miocene, then collapsed due to extreme Pliocene tectonic activity (about 3.5 million years ago). This event separated the mountain ranges on either side of the isthmus. The genetic differences between the white-crowned parrot individuals on

both sides of the isthmus match a more recent divergence after the geological events causing lowlands to form in the Isthmus of Tehuantepec; as observed in local mountain species (González et al. 2011; Ortiz-Ramírez et al. 2016).

The Nicaragua Depression determines a site that marks significant changes in the communities of Middle American birds (Patten and Smith-Patten 2008; Sánchez-González et al. 2008), acting as a barrier for other taxa that inhabit Central American rainforests. This pattern suggests that the dispersion and vicariance of lineages due to this barrier have occurred numerous times, even after the Pliocene (Bonaccorso et al. 2010; Gutiérrez-García and Vázquez-Domínguez 2012). This area also holds sway over vicariant events in Central America, being proposed as a region of numerous changes in the distribution patterns of many groups that it bars from the Middle American highlands (Marshall and Lieberr 2000). The Nicaragua Depression has also played a relevant role in the distribution of the bat *Sturnira hondurensis*, separating the continuous Mexico-Nicaragua area from another ideal habitat in the mountain regions of Costa Rica and Panama (Torres-Morales 2019). This pattern is evident in the rodent *Ototylomys phyllotis* since the depression acted as a barrier that influenced the rodent's phylogeographic pattern (Gutiérrez-García and Vázquez-Domínguez 2012). Daza et al. (2010) propose that hypotheses be generated and tested by combining phylogeographic studies with geological-tectonic data.

Throughout the distribution area of the white-crowned parrot, its phylogeographic structure matches that of other species of birds in this area of Middle America (Barber and Klicka 2010; Barrera-Guzmán et al. 2012; Rocha-Méndez et al. 2018; Castillo-Chora et al. 2021). The Middle American *Turdus assimilis* populations bared low genetic differentiation with a difference of 0.03 between individuals from northern Mexico and Central America, including the state of Chiapas, Mexico; this indicates that the Isthmus of Tehuantepec may be the boundary between these populations (Nuñez-Zapata et al. 2016). However, many examples of similarly distributed bird species exhibit a more pronounced genetic differentiation in almost the same range. The magnificent hummingbird *Eugenes fulgens*, whose phylogeographic pattern associated with Middle American highlands revealed three principal lineages: *E. f. fulgens* to the west of the Isthmus of Tehuantepec, and two groups of *E. f. viridiceps* to the east of the Isthmus, isolated from each other by the Motagua-Polochic-Jocotán fault system (Zamudio-Beltrán et al. 2020).

Not only geographical barriers can determine the population structure of Central American birds but also foraging ecology. Species that depend on seasonally variable plant reproductive parts present less geographic genetic differentiation compared to those that rely primarily on insectivorous diets (Miller et al. 2021). However, for the whitecrowned parrot, being a seedeater mainly, they still exhibit a divergence pattern in these areas. We can also see a division between the whitecrowned parrot individuals from Costa Rica and the other populations, which coincides with the lowlands of the Nicaragua Depression.

The evolutionary impact of the Nicaragua Depression on birds is also evident in several sets of taxa found on either side of the region. Such is the case of *Lepidocolaptes affinis*, whose phylogeographic pattern indicates that the Nicaragua Depression has prevented gene flow, even though the populations on both sides of the Isthmus of



Tehuantepec did not show high genetic differentiation (Arbeláez-Cortés et al. 2010). On the other hand, *Catharus frantzii* at the Isthmus of Tehuantepec and populations on either side of the Nicaragua Depression presented a phylogeographic pattern (Ortiz-Ramírez et al. 2016). Another case is *Habia fuscicauda*, which has two clades: one that genetically corresponds to the region from southeastern Mexico to the Nicaragua Depression, and the other from the Nicaragua Depression to Central Panama (Castillo-Chora et al. 2021).

The estimated mean divergence time produced by BEAST analysis indicates that white-crowned parrot branched away from *P. chalcopterus* 1.33 Mya and that the other two clades differentiated 1.19 Mya. The Central lineage is dated at 840,000 years, and the Northern at 700,000 ys. Results from mitochondrial data suggest that these lineages parted during the Pleistocene, whose paleoclimatic dynamics and geological events were the main cause for swift, recent diversification in neotropical biota (Hackett and Lehn 1997; Haffer 1997).

Our work enabled us to reconstruct the phylogeographic pattern and evolutionary history of the white-crowned parrot, whose populations form into three distinct lineages. The Southern lineage is located to the south of the Nicaragua Depression, a geographic barrier for different species of birds. Comparison of the genetic variation in the populations from southern Mexico to Nicaragua against those from northern Mexico leads us to infer that the Isthmus of Tehuantepec is the barrier that keeps these two lineages apart. Our results prove that even though this divergence occurred during the Pleistocene, geographic barriers play an active role in the genetic structuring of a species.

Given the differences in plumage detected when the subspecies were named, and the marked genetic structure found with an absence of gene flow in the last 0.7–1.7 million years between the three metapopulations, it would be relevant to complete a study that included the vocalizations, morphology, and nuclear sequences of these three groups to determine whether they must continue to be treated as one species.

The strong genetic differentiation of the white-crowned parrot populations in three genetic lineages at the mitochondrial level requires the need to use independent conservation status for each. It is critical considering that the Northern and Central groups have decreased to the point of being eliminated in western Quintana Roo and some areas in the Gulf of Mexico (Salinas-Melgoza and Renton 2002). It is well-known that deforestation rates in tropical moist forests, oak groves, and lower montane forests are high, mainly because of the land transformation into agricultural activities (Rosete-Verges et al. 2014). In addition, it is unknown how biological mechanisms, physiological traits, phenotypic plasticity, local adaptations, interactions between species, dispersal capabilities, or food availability influence the permanence of populations (Hoffmann and Sgro 2011).

The three genetic groups detected in this study have a geographic concordance, which indicates that each group can be considered an Evolutionarily Significant Unit (ESU). ESUs are based on sequence marker-based phylogeographic analyses, defining ESUs as reciprocally monophyletic mitochondrial DNA (mtDNA) clusters with divergence (Moritz 1994). They can also be explained as intraspecific lineages with highly restricted gene flow between them, allowing the delimitation of the ESUs without reciprocal monophyly (Fraser y Bernatchez 2001). Our results on the genetic structure of the populations of the

white-crowned parrot have implications for conservation since most of the sites we studied represent very isolated and small populations, which need efficient protection actions at the regional level to preserve them, along with their habitats, and its genetic heritage. We propose that these three groups be considered a reference for the conservation programs of the white-crowned parrot in the countries where they are distributed including the maintenance of genetic connectivity between different populations with its effects on sustaining gene flow, to preserve this ESUs. It is also necessary to carry out a study in which the impact of habitat fragmentation is evaluated and that allows the establishment of more natural protected areas.

## Acknowledgments

This study was conducted thanks to support provided by the Graduate Program at the National Autonomous University of Mexico (UNAM), the Support Program for Research and Technological Innovation Projects (PAPIIT) issued by the Office of Support Services for Academic Personnel at the UNAM (IN208220), the National Council of Science and Technology (CONACYT Mexico), the Rufford Foundation, and Idea Wild, who provided funds to cover the financial expenses and material necessary to perform our fieldwork. We also thank Macaw Mountain Bird Park in Honduras and Rescate Animal Zoo Ave in Costa Rica for their contribution to white-crowned parrots sampling, which were vital for this work.

We are grateful to all of the field guides who contributed valuable information that enabled us to track white-crowned parrot populations: Lázaro Chavarría, German de Catazaja, Mario Álvarez, Chankin Wiliam Garcia, Esteban Berrones Benitez, Juan Carlos Orraca Corona, Neydy Perez, Leoni Zepol, Limberg Perez Benavente, Luis Armando Ferman Cortez, and Saúl García Rivera, as well as Hostal del Café and Hotel El Salto del Meco in Xilitla, San Luis Potosí. We are grateful to the state of San Luis Potosí for their warm welcome and excellent services, which allowed us to conduct this research.

## Associate Editor

Luis Fabio Silveira

## Author Contributions

Canek Rivera-Arroyo: conceptualization; resources; methodology; writing – original draft; writing – review & editing.

Patricia Escalante-Pliego: conceptualization; resources; methodology; writing – review & editing.

Damián Aguilar-Torres: methodology.

Milton F. Úbeda-Olivas: methodology.

## Conflicts of Interest

The authors declare that they have no conflict of interest related to the publication of this manuscript.

## Ethics

This study did not involve human beings and/or clinical trials that should be approved by one Institutional Committee.

## Data Availability

The raw data for the samples collected under this study are available in this link: <https://doi.org/10.48331/scielodata.TYSDUZ>, SciELO Data, DRAFT VERSION.

All the gene sequences have been submitted to GenBank under accession numbers OP491996-OP492050, OP566431-OP566485, OP583596-583650.

## References

- ALFARO, M.E. & HUELSENBECK, J.P. 2006. Comparative performance of Bayesian and AIC-based measures of phylogenetic model uncertainty. *Systematic Biology*. 55:89–96. <https://doi.org/10.1080/10635150500433565>
- ARBELÁEZ-CORTÉS, E., NYÁRI, A.S. & NAVARRO-SIGÜENZA, A.G. 2010. The differential effect of lowlands on the phylogeographic pattern of a Mesoamerican montane species (*Lepidocolaptes affinis*, Aves: Furnariidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 57(29):658–668. DOI: 10.1016/j.ympev.2010.06.013
- ARÉVALO, E., DAVIS, S.K. & SITES, J.W. 1994. Mitochondrial DNA Sequence Divergence and Phylogenetic Relationships among Eight Chromosome Races of the *Sceloporus grammicus* Complex (Phrynosomatidae) in Central Mexico. *Systematic Biology*. 43:387–418. <https://doi.org/10.1093/sysbio/43.3.387>
- ASTUTI, D.A. 2020. Genetic diversity of Indonesian protected eclectus parrot (*Eclectus roratus*) based on mitochondrial gene sequences. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*. 591. doi:10.1088/1755-1315/591/1/012037
- AVISE, J.C. 1998. *The Genetic Gods: Evolution and Belief in Human Affairs*. Harvard University Press, Cambridge, MA. (279 pp.). <https://doi.org/10.1073/pnas.1604338113>
- AVISE, J.C. 2002. *Genetics in the Wild*. Washington, DC: Smithsonian Inst. Press
- AVISE, J.C., BOWEN, W.B. & AYALA, F.J. 2016. In the light of evolution X: Comparative phylogeography. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 113(29):7957–7961. DOI: 10.1007/BF02257369
- AVISE, J.C., NEIGEL, J.E. & ARNOLD, J. 1984. Demographic Influences on Mitochondrial DNA Lineage Survivorship in Animal Populations. *Journal of Molecular Evolution*. 20:99–105.
- BARBER, B.R. & KLICKA, J. 2010. Two pulses of diversification across the Isthmus of Tehuantepec in a montane Mexican bird fauna. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 277:2675–2681. doi:10.1098/rspb.2010.0343
- BARRERA-GUZMAN, A.O., MILÁ, B., SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L.A. & NAVARRO-SIGÜENZA, A.G. 2012. Speciation in an avian complex endemic to the mountains of Middle America (*Ergaticus*, Aves: Parulidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 62(3):907–920. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.11.020>
- BARRIER, E., VELASQUILLO, L., CHÁVEZ, M. & GOULON, R. 1998. Neotectonic evolution of the Isthmus of Tehuantepec (southeastern Mexico). *Tectonophysics*. 287:77–96. [https://doi.org/10.1016/S0040-1951\(98\)80062-0](https://doi.org/10.1016/S0040-1951(98)80062-0)
- BERGNER, L.M., DUSSEX, N., JAMIESON, I.G. & ROBERTSON, B.C. 2016. European Colonization, Not Polynesian Arrival, Impacted Population Size and Genetic Diversity in the Critically Endangered New Zealand Kākāpō. *Journal of Heredity*. 107(7):593–602. <https://doi.org/10.1093/jhered/esw065>
- BERKUNSKY, I., QUILLFELDT, P., BRIGHTSMITH, D.J., ABBUD, M.C., AGUILAR, J.M.R.E., ALEMÁNZELAYA, U., & MASELLO, J.F. 2017. Current threats faced by Neotropical parrot populations. *Biological Conservation*. 214:278–287. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2017.08.016>
- BONACCORSO, E., GUAYASAMIN, J., PETERSON, T. & NAVARRO-SIGÜENZA, A. 2010. Molecular phylogeny and systematics of Neotropical toucanets in the genus *Aulacorhynchus* (Aves, Ramphastidae). *Zoologica Scripta*. 40(4):336–349. DOI:10.1111/j.1463-6409.2011.00475.x
- CANTÚ, J.C., SÁNCHEZ, M.E., GROSSELET, M. & SILVA, J. 2007. Tráfico Ilegal de Pericos en México. Una Evaluación Detallada. *Defenders of Wildlife*. 75 pp.
- CAPARROZ, R., MIYAKI, C.Y. & BAKER, A.J. 2009. Contrasting phylogeographic patterns in mitochondrial DNA and microsatellites: evidence of female philopatry and male-biased gene flow among regional populations of the blue-and-yellow macaw (Psittaciformes: *Ara ararauna*) in Brazil. *The Auk*. 126(2):359–370. <https://doi.org/10.1525/auk.2009.07183>
- CASTILLO-CHORA, V.J., ZAMUDIO-BELTRÁN, L.E., POZO, C. & HERNÁNDEZ-BAÑOS, B.E. 2021. Phylogeography of *Habia fuscicauda* (Cardinalidae) indicates population isolation, genetic divergence and demographic changes during the Quaternary climate shifts in the Mesoamerican rainforest. *Journal of Ornithology*. 162:961–976. DOI:10.1007/s10336-021-01904-x
- DAZA, J.M., CASTOE, T. & PARKINSON, C.L. 2010. Using regional comparative phylogeographic data from snake lineages to infer historical processes in Middle America. *Ecography*. 33(2):343–354. DOI:10.1111/j.1600-0587.2010.06281.x
- DOMÍNGUEZ-DOMÍNGUEZ, O. & VÁZQUEZ-DOMÍNGUEZ, E. 2009. Filogeografía: aplicaciones entaxonómia y conservación. *Animal Biodiversity and Conservation*. 32(1):59–70.
- DRUMMOND, A.J. & RAMBAUT, A. 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology*. 7(214). <https://doi.org/10.1186/1471-2148-7-214>
- ENGELHARD, D., JOSEPH, L., TOON, A., PEDLER, L. & WILKE, T. 2015. Rise (and demise?) of subspecies in the Galah (*Eolophus roseicapilla*), a widespread and abundant Australian cockatoo. *Emu*. 115(4):289–301. DOI: 10.1071/MU15018
- EWART, K.M., JOHNSON, R.N., JOSEPH, L., OGDEN, R., FRANKHAM, G.J. & LO, N. 2021. Phylogeography of the iconic Australian pink cockatoo, *Lophochroa leadbeater*. *Biological Journal of the Linnean Society*. 132(3): 704–723. <https://doi.org/10.1093/biolinnean/blaa225>
- EXCOFFIER, L., LAVAL, G. & SCHNEIDER, S. 2005. Arlequin ver. 3.1: an integrated software package for population genetics dataanalysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*. 1:47–50.
- FRANKHAM, R., BALLOU, J.D. & BRISCOE, D.A. 2002. *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- FRANKHAM, R., BALLOU, J.D., ELDRIDGE, M.D., LACY, R.C., RALLS, K., DUDASH, M.R. & FENSTER, C.B. 2011. Predicting the probability of outbreeding depression. *Conservation Biology*. 25:465–475. DOI: 10.1111/j.1523-1739.2011.01662.
- FRASER, D.J. & BERNATCHEZ, L. 2001. Adaptive evolutionary conservation: towards a unified concept for defining conservation units. *Molecular Ecology*. 10(12):2741–2752.
- FU, Y.X. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*. 147:915–925. DOI: 10.1093/genetics/147.2.915

- FU, Y.X. & LI, W.H. 1993. Statistical tests of neutrality of mutations. *Genetics*. 133:693–709. DOI: 10.1093/genetics/133.3.693
- GONZÁLEZ, C., ORNELAS, J.F. & GUTIÉRREZ-RODRÍGUEZ, C. 2011. Selection and geographic isolation influence hummingbird speciation: genetic, acoustic and morphological divergence in the wedgetailed sabrewing (*Campylopterus curvipennis*). *BMC Evolutionary Biology*. 11:38. DOI:10.1186/1471-2148-11-38
- GRANT, W.A.S. & BOWEN, B.W. 1998. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *Journal of Heredity*. 89(5):415–426. <https://doi.org/10.1093/jhered/89.5.415>
- GRISCOM, L. 1929. Studies from the Dwight collection of Guatemala birds. I. American Museum Novitates; no.379.
- GUEVARA-CHUMACERO, L.M., LÓPEZ-WILCHIS, R., JUSTE, J., IBÁÑEZ, C., MARTÍNEZ-MÉNDEZ, L.A. & BARRIGA-SOSA, I. 2013. Conservation units of *Pteronotus davyi* (Chiroptera: Mormoopidae) in Mexico based on phylogeographical analysis. *Acta Chiropterologica*. 15(2):353–363. <https://doi.org/10.3161/150811013X678973>
- GUTIÉRREZ-GARCÍA, T.A. & VÁZQUEZ-DOMÍNGUEZ, E. 2013. Consensus between genes and stones in the biogeographic and evolutionary history of Central America. *Quaternary Research*. 79(3):311–324. <https://doi.org/10.1016/j.yqres.2012.12.007>
- GUTIÉRREZ-GARCÍA, T.A. & VÁZQUEZ-DOMÍNGUEZ, E. 2012. Biogeographically dynamic genetic structure bridging two continents in the monotypic Central American rodent *Otodylomys phyllotis*. *Biological Journal of the Linnean Society of London*. 107:593–610. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2012.01966.x>
- HACKETT, S.J. 1996. Molecular phylogenetics and biogeography of tanagers in the genus *Ramphocelus* (Aves). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 5:368–382. DOI: 10.1006/mpev.1996.0032
- HACKETT, S.J. & LEHN, C.A. 1997. Lack of genetic divergence in a genus (*Pteroglossus*) of Neotropical birds: The connection between life-history characteristics and levels of genetic divergence. Pages 267–279 in *Studies in Neotropical Ornithology Honoring Ted Parker* (J.V. Remsen, Jr., Ed.). Ornithological Monographs, no. 48.
- HAFFER, J. 1997. Alternative models of vertebrate speciation in Amazonia: an overview. *Biodiversity & Conservation*. 6:451–476.
- HALL, T.A. 1999. BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/96/NT. *Nucleic Acids Symposium*. 41:95–98.
- HAMILTON, M.B. 2009. *Populations genetics*. Wiley-Blackwell, Oxford, 424 pp.
- HASEGAWA, M., KISHINO, K. & YANO, T. 1985. Dating the human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. *Journal Molecular Evolution*. 22:160–174.
- HEBERT, P.D.N., STOECKLE, M.Y., ZEMLAK, T.S. & FRANCIS, C.M. 2004. Identification of birds through DNA barcodes. *PLoS Biol*. 2(e312): 1657–1663. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0020312>
- HERNÁNDEZ-CANCHOL, G. & LEÓN-PANIAGUA, L. 2017. Genetic and ecological processes promoting early diversification in the lowland Mesoamerican bat *Sturnira parvidens* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 114:334.345. DOI:10.1016/j.ympev.2017.06.015
- HOFFMANN, A.A. & SGRO, C.M. 2011. Climate change and evolutionary adaptation. *Nature*. 470:479–485. DOI: 10.1038/nature09670
- HUSON, D.N. & BRYANT, D. 2006. Application of Phylogenetic Networks in Evolutionary Studies. *Molecular Biology and Evolution*. 23(2):254–67. DOI:10.1093/molbev/msj030
- IUCN, 1980. Estrategia Mundial para la conservación. UICN PNUMA WWF. Primera edición. 71pp.
- IUCN (INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE). 2019 <http://www.iucnredlist.org/details/22685548/0>. (last access on 21/01/2022).
- JOSEPH, L., TOON, A., SCHIRTZINGER, E. & WRIGHT, T. 2011 Molecular systematics of two enigmatic genera *Psittacella* and *Pezoporus* illuminate the ecological radiation of Australo-Papuan parrots. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 59:675–684. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.03.017>
- JUNIPER, T. & PARR, M. 1998. *Parrots. A guide to parrots of the world*. London, UK.: Yale University Press.
- KILPATRICK, C.W., PRADHAN, N. & NORRIS, R.W. 2021. A re-examination of the molecular systematics and phylogeography of taxa of the *Peromyscus aztecus* species group, with comments on the distribution of *P. winkelmanni*. *Therya*. 12(2):331–346. DOI: 10.12933/therya-21-1115
- LEIGH, J.W. & BRYANT, D. 2015. PopArt: full-feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology and Evolution*. 6:1110–1116. DOI:10.1111/2041-210X.12410
- LIBRADO, P.J.R. & J. ROZAS. 2009. DnaSP v5: A Software for Comprehensive Analysis of DNA Polymorphism Data. *Computer applications in the biosciences: CABIOS*. 25(11):1451–1452. DOI:10.1093/bioinformatics/btp187
- MANEA, V.C. & MANEA, M. 2006. The origin of modern Chiapan volcanic arc in Southern Mexico inferred from thermal models. *Geological Society of America*. 412:27–38. DOI:10.1130/2006.2412(02)
- MARSHALL, C. & LIEBHERR, J. 2000. Cladistic biogeography of the Mexican Transition Zone. *Journal of Biogeography*. 27:203–216. DOI:10.1046/j.1365-2699.2000.00388.x
- MASELLO, J.F., QUILLFELDT, P., MUNIMANDA, G.K., KLAUKE, N., SEGELBACHER, G., SHAEFER, H.M. ET AL. 2011. The high Andes, gene flow and a stable hybrid zone shape the genetic structure of a wideranging South American parrot. *Frontiers in Zoology*. 8:16. doi:10.1186/17429994-8-1
- MENDOZA, A.M., BOLÍVAR-GARCÍA, W. VÁZQUEZ-DOMÍNGUEZ, E. IBÁÑEZ, R. & PARRA, G. 2019. The role of Central American barriers in shaping the evolutionary history of the northernmost glassfrog, *Hyalobatrachium fleischmanni* (Anura: Centrolenidae). *PeerJ*. 7:e6115. <https://doi.org/10.7717/peerj.6115>
- MIGUEZ-GUTIÉRREZ, A., CASTILLO, J., MÁRQUEZ, J. & GOYENCHEA, I. 2013. Biogeografía de la Zona de Transición Mexicana con base en un análisis de árboles reconciliados. 84:215–224. DOI: 10.7550/rmb.32119
- MILLER, A.D., GOOD, R.T., COLEMAN, R.A., LANCASTER, M.L., & WEEKS, A.R. 2013. Microsatellite loci and the complete mitochondrial DNA sequence characterized through next generation sequencing and de novo genome assembly for the critically endangered orange-bellied parrot, *Neophema chrysogaster*. *Molecular Biology Reports*. 40:35–42. DOI: 10.1007/s11033-012-1950-z
- MILLER, M.J., BERMINGHAM, E., TURNER, B.L., TOUCHON, J.C., JOHNSON, A.B., & WINKER, K. 2021. Demographic consequences of foraging ecology explain genetic diversification in Neotropical bird species. *Ecology Letters*. 24(3):563–571.
- MONTERRUBIO-RICO, T.C., CHARRE-MEDELLÍN, J.F., PACHECOFIGUEROA, C., ARRIAGA-WEISS, S., VALDEZ-LEAL, J., CANCINOMURILLO, R., ESCALONA-SEGURA, G., BONILLARUZ, C. & RUBIO-ROCHA, Y. 2016. Distribución potencial histórica y contemporánea de la familia Psittacidae en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 87:1103–1117. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2016.06.004>
- MORITZ, C. 1994. Defining 'Evolutionarily Significant Units' for conservation. *Trends in Ecology & Evolution*. 9(10):373.375. [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(94\)90057-4](https://doi.org/10.1016/0169-5347(94)90057-4)

- MULCAHY, D.G., MORRILL, B.H. & MENDELSON, J.R. 2006. Historical biogeography of lowland species of toads (*Bufo*) across the Trans-Mexican Neovolcanic Belt and the Isthmus of Tehuantepec. *Journal of Biogeography*. 33:1889–1904. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2699.2006.01546.x>
- MURPHY, S.A., JOSEPH, L., BURBIDGE, A.H. & AUSTIN, J. 2011. A cryptic and critically endangered species revealed by mitochondrial DNA analyses: the Western Ground Parrot. *Conservation Genetics*. 12: 595–600. DOI:10.1007/s10592-010-0161-1
- MURPHY, S.A., DOUBLE, M.C. & LEGGE, S.M. 2007. The phylogeography of palm cockatoos, *Probosciger aterrimus*, in the dynamic Australo-Papuan region. *Journal of Biogeography*. 34:1534–1545. DOI:10.1007/s10592-010-0161-1
- NIGENDA-MORALES, S.F., GOMPPER, M.E., VALENZUELA-GALVÁN, D., LAY, A.R., KAPHEIM, K.M., HASS, C. ET AL. 2017. Phylogeographic and diversification patterns of the white-nosed coati (*Nasua narica*): Evidence for south-to-north colonization of North America. *Molecular phylogenetics and evolution*.131:149–163. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2018.11.011>
- NUÑEZ-ZAPATA, J., PETERSON, A.T. & NAVARRO-SIGÜENZA, A.G. 2016. Pleistocene diversification and speciation of White-throated Thrush (*Turdus assimilis*; Aves: Turdidae). *Journal of Ornithology*. 157:1073–1085. DOI:10.1007/s10336-016-1350-6
- OLAH, G., SMITH, B.T., JOSEPH, L., BANKS, S.C. & HEINSOHN, R. 2021. Advancing genetic methods in the study of parrot biology and conservation. *Diversity* 2021. 13(11):521. <https://doi.org/10.3390/d13110521>
- ORTIZ-RAMÍREZ, M.F., ANDERSEN, M.J., ZALDÍVAR-RIVERÓN, A. & ORNELAS, J.F. 2016. Geographic isolation drives divergence of uncorrelated genetic and song variation in the Ruddy-capped NightingaleThrush (*Catharus frantzii*; Aves: Turdidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 94:74–86. DOI:10.1016/j.ympev.2015.08.017
- PATTEN, M.A. & SMITH-PATTEN, B.D. 2008. Biogeographical Boundaries and Monmonier's Algorithm: A Case Study in the Northern Neotropic. *Journal of Biogeography*. 35(3):407–416. <https://www.jstor.org/stable/30054704>
- PEAKALL, R. & SMOUSE, P.E. 2006. GenA1Ex 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*. 6:288–295. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x> PEAKALL, R. & SMOUSE, P.E. 2012. GenA1Ex 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update. *Bioinformatics*. 28(19):2537–2539. doi: 10.1093/bioinformatics/bts460
- POSADA, D. 2008. jModelTest: phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution*. 25(7):1253–1266. doi: 10.1093/molbev/msn083.
- PRESTI, F.T., GUEDES, N.M.R., ANTAS, P.T.Z. & MIYAKI, C.Y. 2015. Population Genetic Structure in Hyacinth Macaws (*Anodorhynchus hyacinthinus*) and Identification of the Probable Origin of Confiscated Individuals. *Journal of Heredity*. 106:491–502. doi:10.1093/jhered/esv038
- RAMBAUT, A. 2014. FigTree v1.4.2, A Graphical Viewer of Phylogenetic Trees. Available from <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>
- RAMOS-ONSINS, S.E. & ROZAS, J. 2003. Statistical Properties of New Neutrality Tests Against Population Growth. *Molecular Biology and Evolution*. 19(12):2092–100. DOI:10.1093/oxfordjournals.molbev.a004034
- RIBAS, C.C., MOYLE, R.G., MIYAKI, C.Y. & CRACRAFT, J. 2007. The assembly of montane biotas: linking Andean tectonics and climatic oscillations to independent regimes of diversification in *Pionus* parrot. *The Royal Society*. 2742399–2408. <http://doi.org/10.1098/rspb.2007.0613>
- RINGLER E. 2012. The use of cross-species testing of microsatellite markers and sibship analysis in ex situ population management. *Conservation Genetics Resources*. 4:815–819. DOI:10.1007/s12686-012-9642-5
- ROCHA-MÉNDEZ, A., SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L.A., ARBALÁEZCORTÉS, E. & NAVARRO-SIGÜENZA, A.G. 2018. Phylogeography indicates incomplete genetic divergence among phenotypically differentiated montane forest populations of *Atlapetes albinucha* (Aves, Passerellidae). *ZooKeys*. 809(3):125–148. DOI:10.3897/zookeys.809.28743
- RONQUIST, F. & HUELSENBECK, J.P. 2003. MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*. 19:1572–1574. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg180>
- ROVITO, S.M. & PARRA-OLEA, G. 2016. Neotropical Plethodontid Biogeography: Insights from Molecular Phylogenetics. *Copeia*. 104(1): 222–232. DOI: <http://dx.doi.org/10.1643/CH-14-190>
- ROVITO, S.M., PARRA-OLEA, G., VAZQUEZ-ALMAZÁN, G.R., LUNAREYES, R. & WAKE, D.B. 2012. Deep divergences and extensive phylogeographic structure in a clade of lowland tropical salamanders. *BMC Evolutionary Biology*. 12:255. DOI: 10.1186/1471-2148-12-255
- ROZAS, J. & ROZAS, R. 1999. DnaSP version 3: an integrated program for molecular population genetics and molecular evolution analysis. *Bioinformatics*. 15:174–175. DOI:10.1093/bioinformatics/15.2.174
- RUSSELLO, M.A. & AMATO, G. 2004. A molecular phylogeny of Amazona: implications for Neotropical parrot biogeography, taxonomy, and conservation. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 30:421–437. [https://doi.org/10.1016/S1055-7903\(03\)00192-1](https://doi.org/10.1016/S1055-7903(03)00192-1)
- RYDER, O.A. 1986. Species conservation and systematics: the dilemma of subspecies. *Trends in Ecology and Evolution*. 1:9–10. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0169534786900595>
- SALINAS-MELGOZA, A. & RENTON, K. 2008. Ficha técnica de *Pionus senilis*. En: Escalante-Pliego, P. (compilador). “Fichas sobre las especies de Aves incluidas en el Proyecto de Norma Oficial Mexicana PROYNOM-ECOL-2000. Parte 2”. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. Bases de datos SNIB-CONABIO. Proyecto No. W042. México, D.F.
- SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L.A., MORRONE, J.J. & NAVARRO-SIGÜENZA, A.G. 2008. Distributional patterns of the Neotropical humid montane forest avifaunas. *Biological Journal of the Linnean Society*. 94:175–194. DOI:10.1111/j.1095-8312.2008.00979.x
- SANGER, F., NICKLEN, S. & COULSON, A.R. 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States America*. 74(12):5463–5467.
- SEMARNAT (2010). Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010. Protección ambiental—Especies nativas de México de flora y fauna silvestres—Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio—Lista de especies en riesgo (77 663 pp.). Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. <http://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/agenda/DOFs/DO2454.pdf>.
- ROSETE-VERGES, F.A., PÉREZ-DAMIÁN, J.L., VILLALOBOS-DELGADO, M., NAVARRO-SALAS, E.N., SALINAS-CHÁVEZ, E. & REMOND-NOA, R. 2014. El avance de la deforestación en México 1976-2007. *Madera Bosques*. 20(1):21–35. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1405-04712014000100003](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-04712014000100003)
- STAMATAKIS, A. 2014. RAXML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Computer applications in the biosciences: CABIOS*. 30(9):1312–1313. DOI:10.1093/bioinformatics/btu033
- SULLIVAN, J., ARELLANO, E. & ROGERS, D.S. 2000. Comparative Phylogeography of Mesoamerican Highland Rodents: Concerted versus Independent Response to Past Climatic Fluctuations. *The American Naturalist*. 155(6):755–768. DOI:10.1086/303362

- TAJIMA, F. (1989) Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*. 123, 585–595. DOI: 10.1093/genetics/123.3.585
- TAMURA, K. & NEI, M. 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*. 10:512–526.
- TAMURA, K., PERERSON, D. & PETERSON, N. 2011. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*. 28(10):2731–2739. DOI:10.1093/molbev/msr121
- TORRES-MORALES, L. 2019. Límites de distribución actual de *Sturnira hondurensis*. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 90: e902644. <http://dx.doi.org/10.22201/ib.20078706e.2019.90.2644>
- WATTERSON, G.A. 1984. Lines of descent and the coalescent. *Theoretical Population Biology*. 26:77–92. [https://doi.org/10.1016/0040-5809\(84\)90025-X](https://doi.org/10.1016/0040-5809(84)90025-X)
- ZAMUDIO-BELTRÁN, L.E., ORNELAS, J.F., MALPICA, A. & HERNÁNDEZBAÑOS, B.E. 2020. Genetic and morphological differentiation among populations of the Rivoli's Hummingbird (*Eugenes fulgens*) species complex (Aves: Trochilidae). *The Auk*. 137:1–20. DOI: 10.1093/auk/ukaa032
- Received: 24/06/2022*  
*Accepted: 02/12/2022*  
*Published online: 00/00/0000*

# Correspondencia geográfica de ejemplares cautivos de loro corona blanca (*Pionus senilis*) a partir de datos mitocondriales

Rivera-Arroyo C, Escalante-Pliego P, Alonso-Morales R, Aguilar-Torres D, Ubeda-Olivas M.

## RESUMEN

El tráfico ilegal amenaza la supervivencia de muchas especies silvestres y la ciencia forense molecular puede esclarecer diversas preguntas planteadas durante la investigación de casos de comercio ilegal. La incautación de ejemplares de loros es frecuente y su impacto en la población no se puede cuantificar debido a las dificultades para identificar de qué lugares provienen los ejemplares. La identificación morfológica de las poblaciones de loros es prácticamente imposible de realizar. En este contexto, la identificación genética puede ser una alternativa para la identificación de las poblaciones en los linajes genéticos de determinada especie. En 2018, el laboratorio de Genética y Bioestadística de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM obtuvo seis extracciones de ADN del loro corona blanca (*Pionus senilis*) de cautiverio, que fueron enviados para la identificación sexual de los ejemplares, y se procedió a realizar una identificación de sus linajes genéticos. Se secuenciaron usando los marcadores mitocondriales ND2, ND4 y COI y los resultados se compararon con las secuencias depositadas en GenBank. Realizamos análisis filogenéticos junto con las secuencias de organismos silvestres previamente analizados para inferir el origen geográfico de los ejemplares en cautiverio. Los resultados, basados en los genes, indican que los cinco ejemplares analizados corresponden al linaje norte, el cual corresponde a las poblaciones de noreste de México. Este tipo de datos puede ser utilizado para construir un caso legal, para diseñar estrategias de lucha contra la caza furtiva de especies específicas y también demostrar que el análisis de secuencias de ADN para la identificación de linajes genéticos/poblaciones comercializadas es una herramienta poderosa de conservación.

**Palabras claves:** *Pionus senilis*, conservación, huella genética, análisis forense comercio ilegal de fauna

## **ABSTRACT**

Illegal trade threatens the survival of many wildlife species, and molecular forensics can illuminate several questions raised while investigating illegal trade cases. The seizure of parrot specimens is frequent and its impact on the population cannot be quantified due to the difficulties in identifying where the specimens come from. Morphological identification of parrot populations is almost impossible. In this context, genetic identification could be an alternative for the identification of populations in the genetic lineages of a certain species. In 2018, the Genetics and Biostatistics Laboratory of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechnics of the Universidad Nacional Autónoma de México provided us with six DNA extractions of captive *Pionus senilis*, which were sent for the sexual identification of the specimens. We carried out an identification of their lineages by sequencing three mitochondrial genes: ND2, ND4 and COI. The results were compared with the sequences deposited in GenBank from a previous study. We performed phylogenetic analyzes together with the sequences of previously analyzed wild organisms to infer population of origin. The results indicated that the five specimens analyzed correspond to the northern lineage, which corresponds to the populations of North Eastern Mexico. This type of data can be used to build anti-poaching strategies for specific species and demonstrate that DNA sequence analysis is a useful tool to identify the extraction location of illegally commercialized specimens.

**Keywords:** *Pionus senilis*, Conservation, genetic fingerprint, forensic analysis, wildlife illegal trade

## **INTRODUCCIÓN**

El comercio ilegal de vida silvestre puede afectar la supervivencia de las especies por la sobreexplotación y por la introducción de patógenos y especies invasoras (Rosen y Smith

2010). La pérdida de hábitat es la amenaza más importante para la extinción de las especies. En el caso de los psitácidos, de las 390 especies clasificadas a nivel mundial, 101 se consideran amenazadas de extinción (UICN, 2019). Además, existe un comercio ilegal de psitácidos que implica tanto el contrabando de huevos y animales vivos de la naturaleza como la falsificación de documentos para acreditar la legal procedencia de los ejemplares (Setiyani y Ahmadi, 2020). El problema no radica sólo en la extinción de especies, además existe un enorme episodio de declives y extirpaciones de poblaciones a nivel local (Ceballos et al. 2015), teniendo como consecuencia que 56% de las especies de psitácidos presentan un declive en los tamaños de sus poblaciones (Berkunsky et al. 2014).

Se han empleado análisis genéticos para inferir el origen geográfico de las muestras en la investigación (Chambers et al. 2014; Ogden y Linacre, 2015; Coetzer et al 2017; Willows-Munro y Kleinhans, 2020). Identificar la población o la región geográfica de origen de los individuos incautados podría facilitar la detección de rutas comerciales y de recolección ilegal y, por lo tanto, ayudar a concentrar los esfuerzos para reducir o eliminar la captura furtiva, así como apoyar en las acciones encaminadas a reintroducir los ejemplares incautados (Wasser et al; 2008; Roewer, 2013; Onyia et al 2019).

Se han aplicado marcadores moleculares en varios casos para dar resolución a incertidumbres de linajes genéticos entre poblaciones. Por ejemplo, se encontró que las poblaciones de *Pezoporus wallicus* presentan alta divergencia genética sin compartir haplotipos, con una diferenciación fenotípica menor, pero consistente y una separación geográfica muy amplia. Por lo tanto, las poblaciones occidentales de esta especie se reconocieron como una especie críptica separada *P. flaviventris* (Murphy et al. 2011). En el caso del perico de Barnad (*Barnardius zonarius*), se mostró la existencia de dos clados usando el gen ND2, el primero integrado por la mayoría de las muestras de la subespecie *B. z. barnardi* y el segundo integrado por las subespecies *B. z. zonarius*, *B. z. semitorquatus* y *B. z. macgillivrayi* (Joseph y Wilke 2005). Los análisis genéticos y filogenéticos de la población de loro de las Bahamas (*Amazona leucocephala bahamensis*), basados en ADN mitocondrial, revelaron el carácter distintivo de las poblaciones de Abaco, Inagua y ahora extirpadas de Acklins, detectando el apoyo del carácter diagnóstico y la monofilia recíproca indicativa de tres linajes (Rusello et al. 2010).



A pesar del potencial del análisis forense del ADN en la vida silvestre para determinar con evidencia concluyente el comercio ilegal o la recolección en la naturaleza, la implementación de tales análisis en loros ha sido muy limitada hasta la fecha por diferentes razones. En primer lugar, el número de marcadores genéticos desarrollados específicamente para la especie de interés es bajo, lo que restringe el uso de marcadores desarrollados en otras especies (amplificación cruzada), con una pérdida frecuente de especificidad y resolución en el caso de microsátelites (Presti y Wasko, 2014). También, debido a la dificultad para obtener muestras con origen geográfico conocido es posible que se requiera la compilación de más muestras que permitan tener la mayoría de las poblaciones representada (Fernandes y Carrapoz, 2012); sin embargo, es necesaria una estrategia que permita disminuir el comercio ilegal, determinando dónde se está eliminando la vida silvestre, y dirigir la aplicación las políticas pertinentes en estas localidades. Es necesaria la aplicación de la ley en áreas en las que existe la captura ilegal con el objetivo de erradicar el comercio antes de que entre a la cadena comercial de actividad delictiva, que es extraordinariamente compleja y difícil de rastrear. Este enfoque también puede evitar que los países nieguen sus problemas de saqueo ilegal en el país y, en última instancia, puede detener el comercio antes de que se eliminen las poblaciones de vida silvestre.

Un estudio filogeográfico reciente del loro corona blanca (*Pionus senlils*) (Rivera-Arroyo et al. 2023) describe la estructura filogeográfica a partir de genes mitocondriales, distinguiendo básicamente tres poblaciones genéticas con sus haplotipos correspondientes: el grupo norte compuesto por las poblaciones al norte del Istmo de Tehuantepec hasta el sur de Tamaulipas; el grupo centro integrado por individuos al sur del Istmo de Tehuantepec hasta el sur de Nicaragua; el grupo sur compuesto por los ejemplares de Costa Rica (Rivera-Arroyo et al. 2022). Aún se carece de datos de los loci nucleares, los cuales nos podrían dar un patrón de estructura genética más completo a nivel geográfico en estas especies, no obstante, a partir de los datos mitocondriales es posible identificar la afinidad genética de ejemplares en cautiverio con poblaciones silvestres y de esta manera identificar qué poblaciones están teniendo una alta incidencia de captura y saqueo ilegal.

Ante la captura y comercialización del loro corona blanca en toda el área de distribución, incluso en zonas naturales protegidas, y la dificultad de una identificación

morfológica y las dificultades naturales encontradas para distinguir la correspondencia geográfica de los individuos, el presente estudio tuvo como objetivo utilizar los marcadores mitocondriales (ND2, ND4 y COI) para identificar las posibles regiones de extracción de los ejemplares comercializados principalmente en la región centro México; para ello, analizamos cinco ejemplares de loro corona blanca proporcionados por el laboratorio de Genética y Bioestadística de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM los cuales eran animales en cautiverio fuera del área de distribución y se ignoraba su lugar de procedencia

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Muestras biológicas**

Se obtuvieron seis extracciones del loro corona blanca del Laboratorio de Genética de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. Para corroborar su viabilidad, fueron verificadas mediante electroforesis horizontal en gel de agarosa (0,01 g de agarosa/1 ml de tampón TAE 1X) y visualizadas en un transiluminador UV. Para determinar su concentración de ADN, se utilizó espectrofotometría con un NanoDroop (Thermo Fisher Scientific Inc, Wilmington DE, USA).

Se hicieron las amplificaciones de ADN mitocondrial por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (12.5 µL) preparando con 6 µl de trehalosa al 10%, 2 µl de agua destilada, 10 mM de buffer de PCR; 0.2 mM de cada dNTP; 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>; 0.3 µM de cada primer; 0.5 unidades de Taq ADN polimerasa y aproximadamente 50 ng de ADN genómico. Para la amplificación del fragmento del gen COI, se probaron los primers COIbird F1 (TTCTCCAACCACAAAGACATTGGCAC) y COIbir R1 (ACGTGGGAGATAATTCCAAA-TCCTG) (Hebert et al. 2004), realizando gradientes de alineación de 50 a 65 °C, y se obtuvo como mejor temperatura de alineamiento a 50 °C. En el caso de ND4 se usaron los primers ND4 (CAC CTA TGA CTA CCA AAA GCT CAT GTA) y LEU (CAT TAC TTT TACT TGG ATT TGC ACC A); se realizó un gradiente de temperaturas de entre 55 y 65 °C, obteniendo una temperatura de alineamiento óptima a 52 °C. Para las reacciones de amplificación para el gen ND2, se usaron los primers L5215

(TATCGGGCCCATACCCCGAAAAT) (Hackett, 1996) y H6313 (ACTCTTRTTTAAGGCTTTGAAGGC) con una temperatura de alineamiento de 54 °C. Los productos de PCR se enviaron a secuenciar al Laboratorio de Biología Molecular y de la Salud del Instituto de Biología de la UNAM y a Macrogen (Maryland, USA).

### **Análisis de secuencias**

Las secuencias se editaron con el software BioEdit v7.2 (Hall 1999); los cromatogramas se verificaron manualmente con el software FinchTV v1.4. Además, cada secuencia se comparó con la información disponible en GenBank mediante la herramienta básica de búsqueda de alineación local (BLAST), lo que permitió establecer una identidad de 96-99% en cada caso secuenciado. Se utilizó el software MEGA v10 para leer las secuencias (Tamura et al. 2011).

A partir de estos análisis agregamos la información de 55 individuos silvestres previamente analizados (Rivera-Arroyo et al 2023) con los genes COI, ND2 y ND4. Utilizamos el software MEGA v10 para identificar las distancias genéticas entre grupos (Tamura et al. 2011) y los individuos se ensamblaron en grupos establecidos por árboles filogenéticos, usando el modelo de sustitución de dos parámetros de Kimura.

Para representar las relaciones entre todos los individuos del loro corona blanca y poder determinar cómo se agruparon los individuos de cautiverio se realizaron reconstrucciones genealógicas de inferencia bayesiana con el software MrBayes v3.2 (Ronquist y Huelsenbeck 2003) y máxima verosimilitud en RAxML v7.8 (Stamatakis 2014). De igual manera, se construyó una red de haplotipos en PopART v1.7 (Leigh y Bryant 2015).

## **RESULTADOS**

### **Análisis de la diversidad y diferenciación genética**

Obtuvimos productos de amplificación de cinco de las muestras proporcionadas por la Facultad de Veterinaria más los 55 individuos silvestres previamente obtenidos. No se encontraron inserciones ni deleciones y los codones de inicio y parada estaban en los sitios esperados. Los patrones de composición de bases fueron los esperados para el ADNm aviar.

No se encontraron sesgos de composición en las bases. Lo que resultó en un conjunto de datos total de 2,222 pares de bases. Se encontraron 18 sitios variables, 16 sitios informativos y seis haplotipos.

### **Relaciones entre haplotipos y su distribución geográfica**

La red de haplotipos mostró que los cinco ejemplares de cautiverio se agrupan con el linaje del Norte de México (Figura 1). Incluso se obtuvo un nuevo haplotipo que no se había encontrado previamente; este nuevo haplotipo está separado por dos cambios nucleotídicos e integrado por dos ejemplares de cautiverio, mientras que los otros tres ejemplares de cautiverio se agruparon al haplotipo 5 que incluye a las aves del noreste de México, también se recuperaron los otros linajes genéticos de las poblaciones de *Pionus senilis* (Rivera-Arroyo et al. 2022) (Haps 2-4, grupo central).

Los resultados de Inferencia bayesiana y máxima verosimilitud generaron topologías altamente concordantes (Figura 1). Las muestras analizadas se agruparon en tres clados. Los cinco ejemplares de cautiverio se agruparon en el clado norte integrado por 20 individuos, que incluye a los ejemplares El Cielo, El Naranjo, Xilitla y Santos.

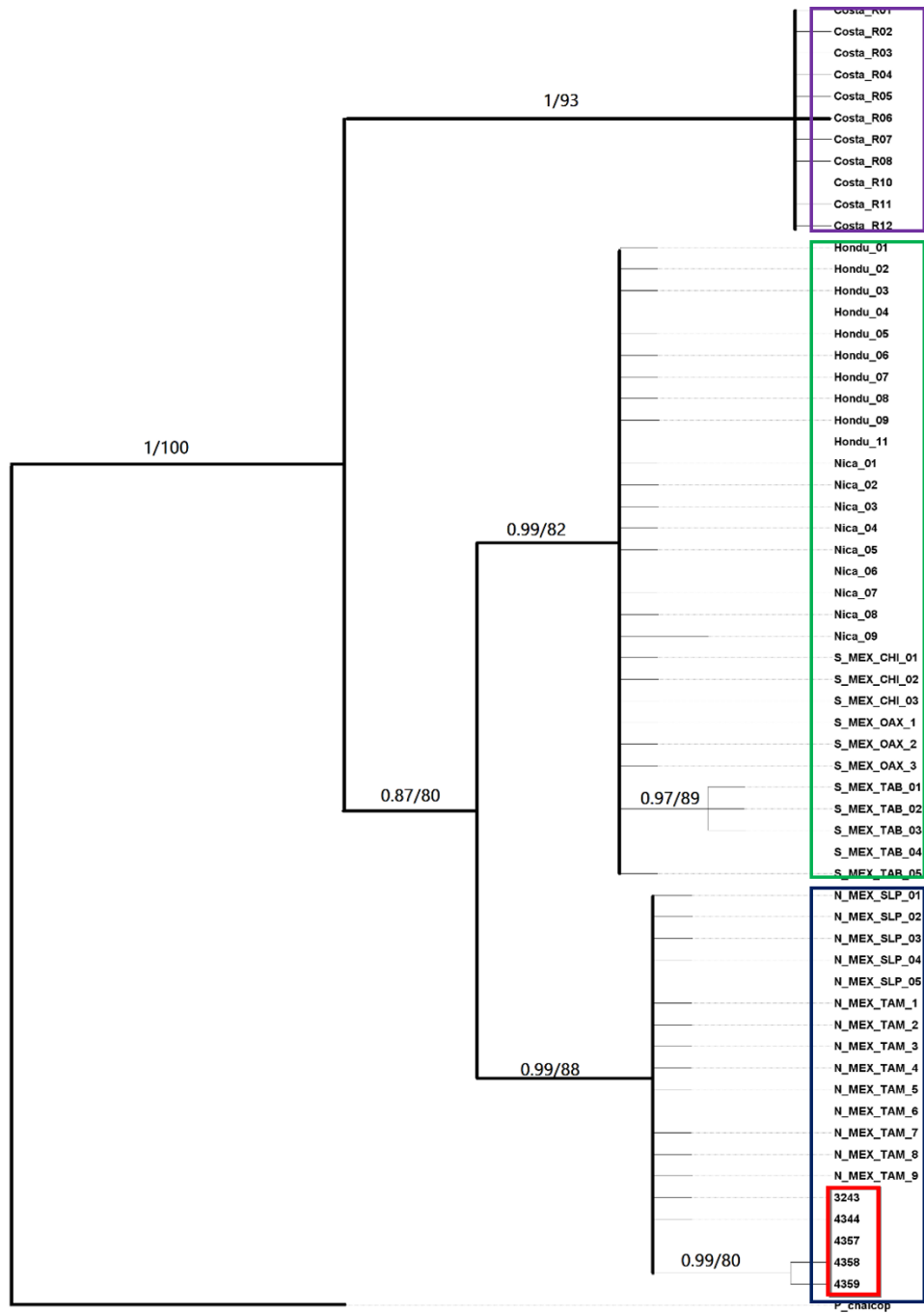


Figura 1. Árbol concatenado (ND4, ND2 y COI) Se recuperaron los clados Sur (morado), centro (verde) y norte (azul), los individuos de veterinaria (rojo) se agrupan en el grupo correspondiente al clado norte. Los números indican el valor soporte de bootstrap/ la probabilidad posterior.

## Redes de haplotipos

Las secuencias obtenidas de los cinco ejemplares de cautiverio se agruparán en el clado norte; éstos son ejemplares distribuidos al norte de México, además en dos de los ejemplares reportamos un nuevo haplotipo que no ha sido reportado en aves silvestres, lo que evidencia que aún queda información genética por descubrir.

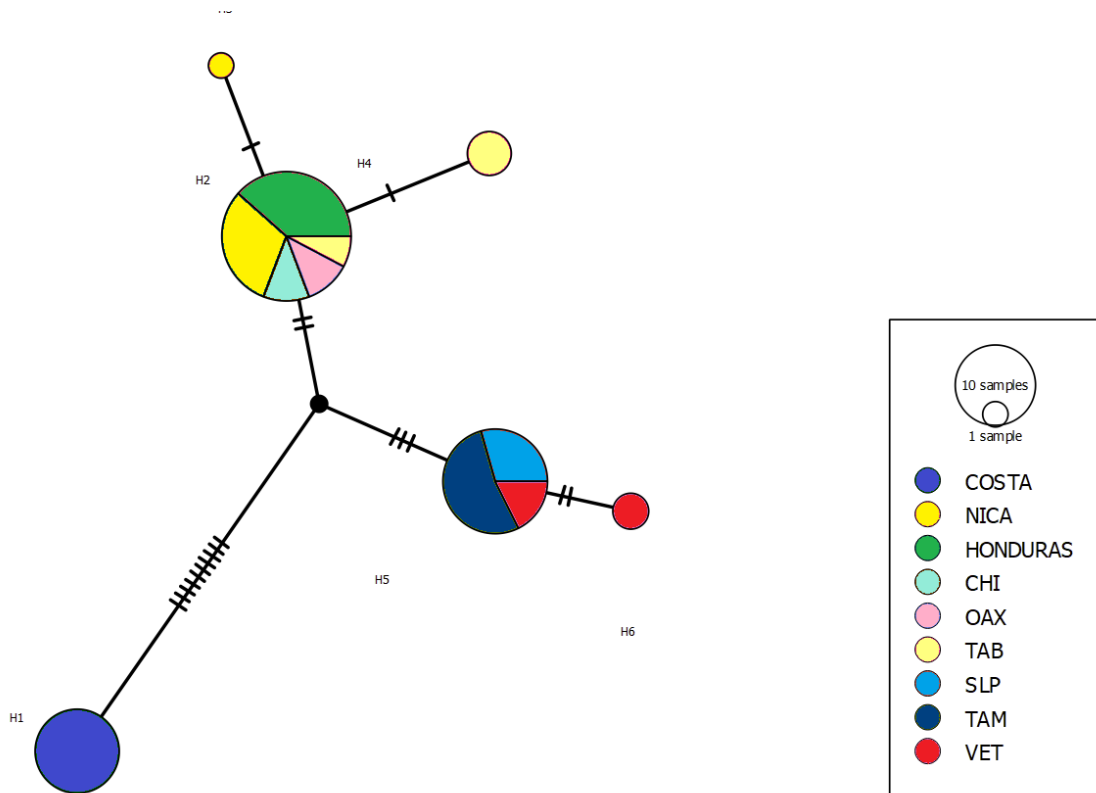


Figura 2. Red de haplotipos construida mediante secuencias concatenadas de las regiones ND4, ND2 y COI del ADN mitocondrial para 55 individuos de loro corona blanca. Las líneas negras representan las mutaciones entre haplotipos. El color morado representa los individuos del linaje Sur, el color verde del linaje Central, el color azul del linaje Norte donde se agrupan los individuos de las muestras de veterinaria (Negro).

## DISCUSIÓN

Las poblaciones de pericos siguen siendo traficadas de forma intensa, poniendo en peligro la supervivencia de la mayoría de las especies, en particular en México, pese a que

en 2008 entró en vigencia una modificación en la Ley General de Vida Silvestre, que en su Artículo 60 Bis 2 establece que “*Ningún ejemplar de ave correspondiente a la familia Psittacidae o psitácido, cuya distribución natural sea dentro del territorio nacional, podrá ser sujeto de aprovechamiento extractivo con fines de subsistencia o comerciales*” (SEMARNAP, 2000). Aunque la extracción ha disminuido (Cantú et al. 2007), no ha detenido la extracción de ninguna de las 22 especies; esto lo constatamos durante el trabajo de campo (2017-2018), en donde observamos ejemplares destinados a la venta de las especies *Amazona albifrons*, *Amazona viridigenalis*, *Amazona xantholora*, *Amazona autumnalis*, *Amazona oratrix*, *Eupsittula nana* y *Pionus senilis*. Incluso, apreciamos nidos que acaban de ser saqueados para extraer las crías recién nacidas para incorporarlas al mercado ilegal de mascotas (obs/pers).

Se realizó un blast en GenBank para determinar que las cinco secuencias pertenezcan a la especie. A pesar de longitud las secuencias de ADN mitocondrial, los análisis dieron como resultado la misma identidad de los ejemplares loro corona blanca obtenidos en veterinaria cada una de las cinco muestras. Las cinco pertenecían al linaje norte recuperado el haplotipo de este grupo (Rivera-Arroyo et al 2022).

Una crítica válida con respecto este enfoque de asignación a la identificación de poblaciones es que es posible que no pueda distinguir de forma precisa las zonas de procedencia de los ejemplares, debido a la poca variación genética existente entre las poblaciones (Moritz y Cicero 2004). Nos permitió, no obstante, identificar que son las poblaciones del linaje norte las que abastecen el mercado ilegal de mascotas en el centro de México, lo cual parece lógico, ya que los estados de Veracruz y San Luis Potosí están más próximos a la Ciudad de México, mientras que las poblaciones del sur de México están más retiradas de esta capital, lugar en el que vimos a la venta, en un mercado conocido, dos ejemplares de loro corona blanca por el precio de \$2,500, por lo cual es evidente que aún se comercializa la especie (obs/pers). Hacemos hincapié en que la eficacia del método de identificación que utilizamos (relacionar la secuencia de una muestra no identificada con una base de datos de secuencias) depende de tener una base de datos completa con otros individuos representados, reduce en gran medida la posibilidad de una identificación de localidades precisas para asignar individuos, pero si permite identificar un área geográfica

más extensa de correspondencia a los linajes, por lo tanto, actualmente estos tres marcadores mitocondriales parecen ser una buena opción para la identificación geográfica de los individuos.

La caza furtiva es una de las principales amenazas para las especies en todo el mundo. Los loros son especialmente susceptibles a esta actividad ilegal; son uno de los grupos más explotados entre los órdenes de aves (Berkunsky et al. 2014). Lamentablemente, los marcadores de nivel de población aún no están disponibles, por lo cual sólo se puede hacer uso de los marcadores que nos dan variabilidad entre linajes genéticos; es imposible inferir, por tanto, de cuál población pudieron haber sido capturados los animales. Desafortunadamente, y en general, los casos de tráfico, saqueo y venta ilegal de fauna silvestre no son tratados con tanta rigurosidad como, por ejemplo, una aprehensión de drogas ilegales por ello, es poco probable que esta actividad ilícita se detenga. Debido a esto es muy factible que siga la disminución y extirpación de muchas poblaciones de psitácidos en México mientras no se tomen medidas legales contundentes para detener esta tendencia.

## **CONCLUSIÓN**

La evaluación de los marcadores mitocondriales probados en el estudio actual identificó la totalidad de dos haplotipos en las muestras de cautiverio ligados a las poblaciones del noreste de México, mostrando que estos análisis se puedan aplicar en aves cautivas y comercializadas, sospechosas de haber sido capturadas ilegalmente en el medio silvestre para conocer las regiones donde se comercializan de forma ilegal en el país. Recomendamos que las autoridades hagan uso de estos resultados en otras incautaciones para ver si sólo las poblaciones del norte del México están abasteciendo la demanda del comercio nacional, mientras que las poblaciones del sur de México sólo están siendo capturadas para abastecer la demanda local. Los resultados de este estudio pueden ayudar a las autoridades de conservación para mejorar la aplicación de la ley e identificar las zonas donde el tráfico ilegal esté afectando de forma significativa ciertas poblaciones que pongan en riesgo inminente su sobrevivencia.



## REFERENCIAS

Berkunsky P, DJ. Quillfeldt, MC. Brightsmith, JMRE. Aguilar, U. Alemán-Zelaya, RM. Aramburú, et al. 2014. Current threats faced by Neotropical parrot populations. *Biological Conservation*, 214: 278-287. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2017.08.016>

Cantu JC, ME. Sanchez, M. Grosselet, y J. Silva. 2007. *The Illegal Parrot Trade in Mexico: A Comprehensive Assessment*. Washington, DC: Defenders of Wildlife. DOI: 10.13140/RG.2.2.21598.28489

Ceballos G, PR. Ehrlich, AD. Barnosky, A. García, RM. Pringle y TM. Palmer. 2015. Accelerated modern human-induced species losses: Entering the sixth mass extinction. *Science Advances*, 1: e1400253. DOI: 10.1126/sciadv.1400253  
Chambers GK, C. Curtis, C. Millar, L. Huynen y DM. Lambert. 2014. DNA fingerprinting in zoology: past, present, future. *Investigate Genetics*. 5:3. <http://www.investigativegenetics.com/content/5/1/3>

Coetzer WG, CT. Downs, MR. Perrin y S. Willows-Munro. 2017. Testing of microsatellite multiplexes for individual identification of Cape Parrots (*Poicephalus robustus*): paternity testing and monitoring trade. *PeerJ* 5:e2900; DOI 10.7717/peerj.2900

Fernandes GA. y R. Caparroz. 2013. DNA sequence analysis to guide the release of blue-and-yellow macaws (*Ara ararauna*, Psittaciformes, Aves) from the illegal trade back into the wild. *Molecular Biology Reports*. 40:2757–2762. DOI 10.1007/s11033-012-2294-4

Hackett SJ. 1996. Molecular phylogenetics and biogeography of tanagers in the genus *Ramphocelus* (Aves). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 5: 368-382. DOI: 10.1006/mpev.1996.0032

Hall TA. 1999. BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/96/NT. *Nucleic Acids Symposium*. 41:95-98

Hebert PDN, MY. Sstoeckle, TS. Zemlak y CM. Francis. 2004. Identification of birds through DNA barcodes. *PLoS Biol* 2(e312):1657-1663. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0020312>

IUCN (INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE). 2019 <http://www.iucnredlist.org/details/22685548/0>. (last access on 21/01/2022).

Joseph L. y T. Wilke. 2006. Molecular resolution of population history, systematics and historical biogeography of the Australian ringneck parrots *Barnardius*: are we there yet? *Emu* 106: 49-62

Leigh JW. y D. Bryant. 2015. PopArt: full-feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology and Evolution* 6:1110-1116. DOI:10.1111/2041-210X.12410

Moritz C. y C. Cicero. 2004. DNA barcoding: promise and pitfalls. *PLoS Biology* 2(10):28-39. DOI:10.1371/journal.pbio.0020354

Murphy SA, L. Joseph, AH. Burbidge y J. Austin. 2011. A cryptic and critically endangered species revealed by mitochondrial DNA analyses: the Western Ground Parrot. *Conservation Genetics*. 12: 595-600. DOI:10.1007/s10592-010-0161-1

Ogden R. y A. Linacre. 2015. Wildlife forensic science: A review of genetic geographic origin assignment. *Forensic Science International: Genetics* 1318.

aOnyia CO, CE. Obih, PO. Iio, BO. Ojiego, VC. Iwu et al. 2019. A New Approach to Protection and Conservation of Cites-Listed Species: DNA Barcoding of Parrots in Nigeria. *Journal of Biodiversity & Endangered Species*. 7(2) 1000233. <http://eprints.gouni.edu.ng/id/eprint/2868>

Presti FT. y A. Wasko. 2014. A Review of Microsatellite Markers and their Application on Genetic Diversity Studies in Parrots. *Open Journal of Genetics*. 4(2):69-77 DOI:10.4236/ojgen.2014.42010

Rivera-Arroyo RC, P. Escalante-Pliego, D. Aguilar-Torres v MF. Úbeda-Olivas. 2022. Phylogeography of the white-crowned parrot (*Pionus senilis*). *Biota Neotrop*. 22 (04). <https://doi.org/10.1590/1676-0611-BN-2022-1382>

Roewer L. 2013. DNA fingerprinting in forensics: past, present, future. *Investigative Genetics*. 4:22. <http://www.investigativegenetics.com/content/4/1/22>

Ronquist F. y JP. Huelsenbeck. 2003. MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*. 19:1572–1574. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg180>

Rosen GE. y KF. Smith. 2010. Summarizing the Evidence on the International Trade in Illegal Wildlife. *EcoHealth*. 7: 24-32. DOI: 10.1007/s10393-010-0317-y

Russello MA, K. Lin, G. Amato y A. Caccone. 2005. Additional microsatellite loci for the endangered St. Vincent Parrot, *Amazona guildingii*. *Conservation Genetics*. 6:643-645. <https://doi.org/10.1007/s10592-005-9019-3>

SEMARNAP. Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca. 2000 Ley General de Vida Silvestre. Publicada el 3 de julio de 2000 en el Diario Oficial de la Federación. Última reforma publicada el 19 de enero de 2018.

Setiyani AD, y MA. Ahmadi. 2020. An overview of illegal parrot trade in Maluku and North Maluku Provinces. *Forest and Society*. 4(1): 48-60. DOI:10.24259/fs.v4i1.7316

Stamatakis A. 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Computer applications in the biosciences: CABIOS*. 30(9):1312-1313. DOI:10.1093/bioinformatics/btu033

Tamura K, D. Pererson y N. Peterson. 2011. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*. 28(10), 2731–2739. DOI:10.1093/molbev/msr121

Wasser SK, WJ. Clark, O. Drori, ES. Kisamo, C.Mailand, B. Mutayoba y M. Stephens. 2008. Combating the Illegal Trade in African Elephant Ivory with DNA Forensics. *Conservation Biology*. 22(4): 1065-1071. DOI: 10.1111/j.1523-1739.2008.01012.x

Willows-Munro S. y C. Kleinhans.2020. Testing microsatellite loci for individual identification of captive African grey parrots (*Psittacus erithacus*): a molecular tool for parentage analysis that will aid in monitoring legal trade. *Conservation Genetics Resources* 12:489–495. <https://doi.org/10.1007/s12686-019-01127-6>

---

## DISCUSIÓN GENERAL

La investigación nos muestra resultados importantes que son la base para comprender de mejor manera algunos aspectos importantes de esta especie. Se puede apreciar que existe una reducción de las zonas de distribución potencial de *Pionus senilis* influenciada por la fragmentación y la eliminación del hábitat, el cual es casi inexistente en la zona central del Golfo de México. Esto puede tener implicaciones importantes en la dinámica de los grupos genéticos de la especie; los cuales ya muestran una estructura filogeográfica a nivel mitocondrial, lo cual se podrían profundizar al reducirse las zonas de contacto.

En este estudio demostramos que la idoneidad de los hábitats para el loro corona blanca abarcan 585,034 km<sup>2</sup>, de los cuales en México tienen 190,656 km<sup>2</sup> y Centroamérica 394 171 km<sup>2</sup>, sin embargo; existe una fuerte modificación del hábitat en esta región, para el caso de México para 2016 cerca de 30,220 km<sup>2</sup> se ocupaban para actividades de agricultura y 42,768 km<sup>2</sup> eran zonas de pastizal inducido (INEGI, 2016). Estas áreas no son adecuadas para esta especie, además de los 2,026 km<sup>2</sup> que ocupan las áreas urbanas en la región, esta especie no ha sido reportada que frecuente o se establezca en alguna área urbana, en las que sí se ha observado el establecimiento de algunas especies de pericos nacionales como *Amazona albifrons* e incluso especies invasoras como el perico argentino (*Myiopsitta monachus*), la cual puede tener implicaciones en la supervivencia de las especies nativas (Álvarez-Castillo et al. 2022), por lo que es pertinente decir que las actividades humanas tienen un impacto negativo en las poblaciones de *P. senilis*.

Esta especie se encuentra principalmente en bosques húmedos como el bosque tropical perennifolio, pero localmente se le puede encontrar en bosques de pino encino, y bosque bajo de montaña (Forshaw, 1989) y sin embargo, en el rango de distribución potencial se ha experimentado una eliminación de la vegetación primaria a un ritmo elevado, contrayéndose a solo 45,565 km<sup>2</sup> (13.8%) para 2016; el bosque subperennifolio

ocupó 10,721 km<sup>2</sup> (5.6%), el bosque perennifolio 12,015 km<sup>2</sup> (6.3%), mientras que el bosque húmedo disminuyó a 3,671 km<sup>2</sup> (1.9%), la misma reducción presenta el bosque de encino con solo 500 km<sup>2</sup>, el bosque de pino cuenta con 1,032 km<sup>2</sup>. Es evidente que existe una fragmentación del hábitat puesto que 66,377 km<sup>2</sup> se consideran como vegetación secundaria, de los cuales 18,839 km<sup>2</sup> corresponden a la vegetación arbórea de bosque subperennifolio y a la vegetación arbustiva de bosque tropical de altura con 7,680 km<sup>2</sup> (INEGI 2016). Aunque no hay datos tan detallados para ver la reducción del hábitat en los otros países se sabe que en los 20 últimos años en Centroamérica se ha sufrido una importante transformación en el uso de suelo. En 2010 los sistemas de cultivo abarcaban 279,853 km<sup>2</sup> y la superficie con vegetación original se redujo a 232,331 km<sup>2</sup> (van der Zee et al. 2012).

Las variables estructurales del hábitat de esta especie indicaron que el tipo de vegetación influye en las densidades de las poblaciones, se ha encontrado que el tamaño de la población de psitácidos está relacionado con la calidad del hábitat (Kinnaird et al, 2003), aunque también se pueden encontrar densidades de población similares en áreas fragmentadas que aún tienen algo de vegetación primaria (Enkerlin-Hoeflich, 1995). En este estudio, en las zonas donde la pérdida de la cobertura vegetal es extrema (Palenque, Catazajá, Candelaria, Xilitla y Tamarindos) no se observó ningún ejemplar, a excepción de Chavarillo en la cual se observaron en plantaciones de maíz. Los hábitats con mayor densidad fueron los bosques primarios: Calakmul con 26.53 (individuos/km<sup>2</sup>), Tenosique con 29.28 (individuos/km<sup>2</sup>) y Chalchijalpa con 36.22 (individuos/km<sup>2</sup>), aunque Naha presentó una menor densidad (9.07 individuos/km<sup>2</sup>). Finalmente, las mayores densidades se registraron en dos localidades del área semiurbana: El Naranjo con 46.78 (individuos/km<sup>2</sup>) y El Cielo 57.2 (individuos/km<sup>2</sup>); ésto puede estar asociado a factores como la disponibilidad de recursos alimentarios en estas localidades, donde se observó que se alimentaban en los cultivos de mangos. Estos datos de densidad se ajustan al patrón de densidad poblacional del centroide de nicho, en donde existan condiciones ambientales más adecuadas serán mayores las densidades (Yañez-Arenas et al 2012).

Estos hallazgos indican los posibles efectos negativos sobre la supervivencia de la especie si se continúan produciendo reducciones de hábitat disponibles en el futuro. Se estima que para el 2050 bajo el escenario menos drástico de cambio climático (RCP 2.6) se conservarán 496,972 km<sup>2</sup> de la distribución geográfica potencial mientras que en el escenario más drástico (RCP 8.5) la reducción implica que sólo quedarían 315,038 km<sup>2</sup> de la distribución actual. Hacia el año 2070, la disminución de la distribución geográfica potencial bajo el escenario menos drástico (RPC 2.6) se conservarán 359, 332 km<sup>2</sup>, y en el escenario RCP 8.5 se conservarían solo 286,920 km<sup>2</sup>. Las proyecciones también muestran que incluso las condiciones ambientales cambiarán en las Áreas Naturales Protegidas. En México existirá una reducción en las ANPs que pasarán de 2,035 km<sup>2</sup> a 509 km<sup>2</sup>, desapareciendo totalmente de El Cielo (Tamaulipas). En Chiapas sólo se encontrará en las ANP de la Selva Lacandona, e incluso disminuirá en las ANPs de la Península de Yucatán. Lo mismo ocurriría en Guatemala donde solo se podría observar en las ANPs de la Selva Maya, en Honduras y Nicaragua se encontrará en las áreas protegidas ubicadas en la región occidental, siendo solo Panamá donde se incrementaría el área de distribución potencial.

La Genética siempre ha contribuido para la conservación, y se hace imprescindible para la protección y la restauración de la biodiversidad (Frankham et al. 2002). Lo que hace necesario implementar estudios genéticos que nos permitieran desarrollar programas de conservación. En realidad, son poco los estudios biológicos que atiendan a esta especie y el único análisis genético que incluía a esta especie aborda los patrones de especiación del género *Pionus* (Ribas et al. 2007b), por lo que este trabajo contribuye a ampliar o iniciar el conocimiento de los procesos genéticos de *Pionus senilis*.

Los resultados basados en mtDNA (ND4, ND2, COI) indican que las poblaciones del loro corona blanca presentan tres grupos genéticos correspondientes a individuos del norte de México (Norte: Tamaulipas y SLP), el segundo grupo compuesto por las poblaciones del sur de México y los individuos de Honduras y Nicaragua (Centro) y el tercer grupo exclusivo por las ejemplares del Costa Rica (Sur). Los grupos están separados por una distancia genética baja (0.5-0.3 %). Los grupos Norte y Sur presentan un solo haplotipo, mientras el

Centro tiene tres haplotipos, teniendo una diversidad haplotípica  $h = 0.706$ , estos datos son similares a los reportados en otros estudios de psitácidos (Masello et al. 2011; Engelhard et al. 2015; Presti et al 2015; Astuti 2020; Ewart et al. 2021).

Se recupera una estructura genética con una separación de pocas mutaciones la cual presenta una correspondencia geográfica donde no se observó una sobreposición entre los diferentes grupos. Esta estructuración genética es probable que se deba a las condiciones geográficas de la región que incluyen cuatro bloques tectónicos: Maya, Chortís, Chorotega y Choc<sup>o</sup> que mantienen en sus márgenes barreras orográficas (valles o cadenas montañosas) que tienen efecto y se correlacionan con los patrones evolutivos obtenidos con estudios genéticos y filogeográficos de la flora y fauna de la región (Gutiérrez-García y Vázquez-Domínguez, 2013) y estos son concordantes con los patrones observados en otros vertebrados mesoamericanos (Sullivan et al. 2000, Kilpatrick et al. 2021; Rovito et al. 2012; Rovito; Mulcahy et al. 2006; Daza et al. 2010; Guevara-Chumacero et al. 2013; Hernández-Canchola y León-Paniagua 2017; Mendoza et al. 2019; Nigenda-Morales et al. 2019).

Esto ha llevado a la identificación de diferentes barreras geográficas en la región que pueden ser consideradas como importantes promotoras de eventos de vicarianza (Miguez-Gutiérrez et al. 2013). Como es el caso del Istmo de Tehuantepec que actúa como barrera geográfica significativa para varias especies de alta montaña puesto que el istmo de Tehuantepec que causó la formación de tierras bajas las ha separado (González et al. 2011; Zamudio-Beltrán et al. 2020; Castillo-Chora et al. 2021). La Depresión de Nicaragua es otro promotor de los procesos de dispersión y vicarianza de varios linajes de aves que viven en selvas tropicales de Centroamérica lo cual ha ocurrido en numerosas ocasiones desde el Plioceno (Marshall y Liebherr 2000; Torres-Morales 2019; Castillo-Chora et al. 2021).

Los tres grupos genéticos detectados en este estudio tienen una concordancia geográfica, lo que indica que cada grupo puede ser considerado como una Unidad Evolutiva Significativa (ESU), siendo un fuerte aporte en la realización de programas para la conservación independiente de cada linaje, especialmente por el declive que presentan las poblaciones de esta especie al punto que incluso se han eliminado poblaciones en el occidente de Quintana Roo y algunas áreas en el Golfo de México. (Salinas-Melgoza y

Renton, 2002), debido al impacto de las actividades humanas en su hábitat. Es bien sabido que las tasas de deforestación en bosques húmedos tropicales, bosques de pino encino y bosques subperennifolios, principalmente porque la tierra se cultiva para actividades agrícolas (Rosete-Verges et al. 2014).

La caza furtiva es una de las principales amenazas que presentan los psitácidos, los cuales son el grupo de aves más explotados en todo el mundo, principalmente para satisfacer el mercado ilegal del comercio de mascotas (Berkunsky et al. 2014), de tal forma que hay 111 especies de este orden (28 %) catalogadas en riesgo de extinción y el 56% de las especies presentan un declive en los tamaños de sus poblaciones, lo que significa que es la familia de aves más amenazada a nivel mundial. El problema no radica sólo en la extinción de especies, sino que los episodios de declives y extirpaciones de poblaciones tiene consecuencias negativas en el funcionamiento de los ecosistemas y es el inicio local hacia la extinción total de una especie (Ceballos et al. 2015). Pese a que en 2008 las leyes mexicanas prohibieron el comercio de las especies nativas de psitácidos, aún se siguen comercializando, extrayendo y secuestrando ejemplares de muchas especies de loros, es por ello que nos interesó identificar de donde provienen los ejemplares de loro corona blanca cautivos del centro de México.

Los análisis realizados nos permiten identificar que las poblaciones del linaje norte están siendo saqueadas para abastecer el mercado ilegal de mascotas en el centro de México, lo cual parece lógico ya que los estados de Veracruz y San Luis Potosí están más próximos a la Ciudad de México, mientras que las poblaciones del sur de México están más retiradas e inaccesibles a la capital del país. En 2021 vimos a la venta en un mercado de la ciudad de México dos ejemplares de *Pionus senilis* por el precio de 2,500 pesos. Es muy preocupante que las poblaciones del norte sean las que están a mayor alcance de los comerciantes furtivos pues que en esta región hay menor cantidad de Áreas Naturales Protegidas en las cuales se pueden asentar las poblaciones. De acuerdo con las proyecciones de distribución potencial al futuro del loro corona blanca, las poblaciones más norteñas corren mayor riesgo de que las condiciones ambientales cambien y les dificulte su



sobrevivencia; además la estructura de la vegetación se está viendo sumamente modificada para dar pasos las actividades humanas.

## **RECOMENDACIONES DE CONSERVACIÓN PARA EL LORO CORONA BLANCA**

Protección de los hábitats e identificación de los sitios de anidación de la especie que permitan la supervivencia de las poblaciones.

- A) Es necesario la creación de más áreas naturales protegidas principalmente para las poblaciones del grupo Norte, que garanticen la conectividad y un aumento en el tamaño de sus poblaciones y que sirvan como amortiguadores de los efectos del cambio climático.
- B) La estructura genética con ADNm encontrada en las poblaciones del loro corona blanca nos demuestran tres grupos: Norte (sur de Tamaulipas al centro de Veracruz), Centro (oeste del Istmo de Tehuantepec a nicaragua) Sur (Costa Rica y posiblemente Panamá), los cuales deben ser considerados como 3 ESUs (Unidad Evolutivamente Significativa).
- C) Es necesario elaborar planes específicos para cada uno de los grupos genéticos que garanticen su identidad genética particular y que atienden las amenazas a las que se enfrentan cada uno de ellos.
- D) Es necesario la aplicación de las leyes y convenciones ya establecidas en cada uno de los países en las que se distribuye esta especie, que, aunque son bastante claras, no son llevadas a cabo eficientemente por autoridades administrativas y judiciales.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Allendorf FFW, G. Luikart, SN. Aitken. 2013. Genetics and the conservation of populations, 2nd edition. Wiley-Blackwell Publishing, Oxford, United Kingdom.
- Álvarez-Castillo C, I. MacGregor-Fors, SL. Arriaga-Weiss, C. Mota-Vargas y D. Santiago-Alarcon. 2022. Abundance of White-fronted Parrots and diet of an urban parrot assemblage (Aves: Psittaciformes) in a green Neotropical city. *Avian Research*. 13:100019.
- Astuti DA. 2020. Genetic diversity of Indonesian protected eclectus parrot (*Eclectus roratus*) based on mitochondrial gene sequences. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 591. doi:10.1088/1755-1315/591/1/012037.
- Awise JC. 2001. DNA-based profiling of mating systems and reproductive behaviors in poikilothermic vertebrates. *Journal of Heredity*. 92:99-211.
- Bergner LM, IG. Jamieson y BC. Robertson. 2014. Combining genetic data to identify relatedness among founders in a genetically depauperate parrot, the Kakapo (*Strigops habroptilus*). *Conservation Genetics*. 15: 1013-1020.
- Bergner LM, N. Dussex, IG. Jamieson y BC. Robertson. 2016. European Colonization, Not Polynesian Arrival, Impacted Population Size and Genetic Diversity in the Critically Endangered New Zealand Kākāpō. *Journal of Heredity*. 107 (7): 593-602.
- Berkunsky P, DJ. Quillfeldt, MC. Brightsmith, JMRE. Aguilar, U. Alemán-Zelaya, RM. Aramburú, et al. 2014. Current threats faced by Neotropical parrot populations. *Biological Conservation*. 214: 278-287.
- Boon WM, JK. Kearvell, CH. Daugherty y GK. Chambers. 2001. Molecular systematics and conservation of kakariki (*Cyanoramphus* spp.). *Science for Conservation*. 176: 5-46.
- Cantu JC, ME. Sanchez, M. Grosselet, Y J. Silva. 2007. The Illegal Parrot Trade in Mexico: A Comprehensive Assessment. Washington, DC: Defenders of Wildlife. DOI: 10.13140/RG.2.2.21598.28489.
- Caparroz R, CY. Miyaki y AJ. Baker. 2009b. Contrasting phylogeographic patterns in mitochondrial DNA and microsatellites: evidence of female philopatry and male-biased gene flow among

regional populations of the blue-and-yellow macaw (psittaciformes: *Ara ararauna*) in Brazil. *The Auk*. 126(2): 359-370.

Caparroz R, GH. Fernandez, I. Berkunsky y R Garcia. 2009a. The role of demography and climatic events in shaping the phylogeography of *Amazona aestiva* (Psittaciformes, Aves) and definition of management units for conservation. *Diversity and Distributions*. 15: 459-468.

Castillo-chora VJ, IE Zamudio-Beltrán, C. Pozo y BE. Hernández-Baños. 2021. Phylogeography of *Habia fuscicauda* (Cardinalidae) indicates population isolation, genetic divergence and demographic changes during the Quaternary climate shifts in the Mesoamerican rainforest. *Journal of Ornithology*. 162:961-976. DOI:10.1007/s10336-021-01904-x

Ceballos G, PR. Ehrlich, AD. Barnosky, A. García, RM. Pringle y TM. Palmer. 2015. Accelerated modern human-induced species losses: Entering the sixth mass extinction. *Science Advances*, 1: e1400253.

Ceballos G. PR. Ehrlich y PH. Raven. 2020. Vertebrates on the brink as indicators of biological annihilation and the sixth mass. *Biological Sciences*. 117(24) 13596-13602 <https://doi.org/10.1073/pnas.1922686117>.

Ceballos G. PR. Ehrlich y R. Dirzo. 2017. Biological annihilation via the ongoing sixth mass extinction signaled by vertebrate population losses and declines. *Biological Sciences*. 114(30) E6089-E6096. <https://doi.org/10.1073/pnas.1704949114>.

Ceballos G. y PR. Ehrlich. 2002. Mammal population losses and the extinction crisis. *Science*. 296: 904-907. *Trofeo Pesca* 155: 132-133.

Chan CH, KN. Ballantyne, DM. Lambert y GK. Chambers. 2005. Characterization of Variable Microsatellite Loci in Forbes' Parakeet (*Cyanoramphus forbesi*) and Their Use in Other Parrots. *Conservation Genetics*. 6: 651-654.

Chan CH, KN. Ballantyne, H. Aikman, D. Fastier, CH. Daugherty y GK. Chambers. 2006. Genetic Analysis of Interspecific Hybridization in the World's Only Forbes' Parakeet (*Cyanoramphus forbesi*) Natural Population. *Conservation Genetics*. 7: 493-506.

CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora). 2016. Apéndice I, II y III. 1-47.

- Collar NJ. 1997. Family Psittacidae (parrots). Pp. 280–477 en J. del Hoyo, A. Elliot, J. Sargatal, eds. Handbook of the birds of the world. Vol. 4. Sandgrouses to cuckoos. Lynx Edicions, Barcelona.
- Colson KE, KS. White y KJ. Hundertmark. 2016. Parturition site selection in moose (*Alces alces*): evidence for social structure. *Journal of Mammalogy*. 97(3):788-797.
- Corander MJ, P. Waldmann, P. Marttinen y MJ. Sillanpää. 2004. BAPS 2: enhanced possibilities for the analysis of genetic population structure. *Bioinformatics*. 20 (15): 2363-2369.
- Daza JM, T. Castoe y CL. Parkinson. 2010. Using regional comparative phylogeographic data from snake lineages to infer historical processes in Middle America. *Ecography*. 33(2):343-354. DOI:10.1111/j.1600-0587.2010.06281.x.
- Downs CT, M. Pfeiffer y Hart. 2014. Fifteen years of annual Cape Parrot *Poicephalus robustus* censuses: current population trends and conservation contributions. *Ostrich*. 85(3):273-280.
- Dussex N, J. Sainsbury, R. Moorhouse, IG. Jamieson y BC. Robertson. 2015a. Evidence for Bergmann's Rule and Not Allopatric Subspeciation in the Threatened Kaka (*Nestor meridionalis*). *Journal of Heredity*. 106(6): 679-691.
- Dussex N, NJ. Rawlence y BC. Robertson. 20015b. Ancient and Contemporary DNA Reveal a Pre-Human Decline but No Population Bottleneck Associated with Recent Human Persecution in the Kea (*Nestor notabilis*). *PlosONE*. 10 (2): 1-2.
- Eberhard JR y E. Bermingham. 2004. Phylogeny ad biogeography of the *Amazona ochrocephala* (Aves: psittacidae) complex. *The Auk*. 121 (2): 318-332.
- Eberhard JR, E. Iñigo-Elias, E. Enkerlin-Hoeflinc y EP. Cun. 2015. Phylogeography of the military macaw (*Ara militaris*) and the great green macaw (*A. ambiguus*) based on mtDNA sequence data. *The Wilson Journal of Ornithology*. 127(4):661-669.
- Engelhard D, L. Joseph, A. Toon, L. Pedler y T. Wilke. 2015. Rise (and demise?) of subspecies in the Galah (*Eolophus roseicapilla*), a widespread and abundant Australian cockatoo. *Emu*. 115(4):289-301. DOI: 10.1071/MU15018.

- Enkerlin-Hoeflich EC. 1995. Comparative ecology and reproductive biology of three species of Amazona parrots in northeastern Mexico. PhD. dissertation. Texas A & M University, College Station.
- Estrada A, PA. Garber, AB, Rylands, C. Roos, E. Fernandez-Duque, A. Di Fiore. et al. 2017 Impending extinction crisis of the world's primates: Why primates matter. Science Advances. 3(1):e1600946. doi: 10.1126/sciadv.1600946.
- Ewart KM, RN. Johnson, L. Joseph, R. Ogden, GJ. Frankham y N. Lo. 2021. Phylogeography of the iconic Australian pink cockatoo, *Lophochroa leadbeater*. Biological Journal of the Linnean Society. 132(3): 704-723. <https://doi.org/10.1093/biolinnean/blaa225>.
- Forshaw JM. Parrots of the world. Third Edition. Lansdowne Press. Melbourne, Australia 1989 180p.
- Frankel O. 1974. Genetic conservation: our evolutionary responsibility. Genetics. 78:53.
- Frankham R, JD. Ballou y DA. Briscoe. 2010. Introduction to Conservation Genetics 2<sup>nd</sup> edn. Cambridge: Cambridge University Press.
- Frankham R, JD. Ballou, y DA. Briscoe. 2002. Introduction to Conservation Genetics. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Gaspari S, D. Holcer, P Mackelworth, C. Fortuna, A. Frantzis, T. Genov, et al. 2013. Estructura genética de la población del delfín mular común (*Tursiops truncatus*) en el mar Adriático y regiones contiguas: implicaciones para la conservación internacional. Conservación acuática Ecosistemas marinos y de agua dulce 25(2):212-222. DOI: 10.1002/aqc.2415.
- González C, JF. Ornelas y C. Gutiérrez-Rodríguez, c. 2011. Selection and geographic isolation influence hummingbird speciation: genetic, acoustic and morphological divergence in the wedgetailed sabrewing (*Campylopterus curvipennis*). BMC Evolutionary Biology. 11:38. DOI:10.1186/1471-2148-11-38.
- Guevara-Chumacero LM, R. López-Wilchis, J. Juste, C. Ibañez, LA. Martínez-Méndez y I, Barriga-Sosa. 2013. Conservation units of *Pteronotus davyi* (Chiroptera: Mormoopidae) in Mexico based on phylogeographical analysis. Acta Chiropterologica. 15(2):353-363. <https://doi.org/10.3161/150811013X678973>.
- Haugaasen T. 2008. Seed predation of *Couratari guianensis* (Lecythidaceae) by macaws in central Amazonia, Brazil. Ornithology. Neotropical. 19:321-328.

- Hedrick PW. 2001. Conservation genetics: where are we now? *TRENDS in Ecology y Evolution*. 16 (11): 629-636.
- Hernández-Canchola G, y L. León-Paniagua. 2017. Genetic and ecological processes promoting early diversification in the lowland Mesoamerican bat *Sturnira parvidens* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 114:334-345. DOI:10.1016/j.ympev.2017.06.015.
- Hudson RR. 2002. Generating samples under a Wright-Fisher neutral model of genetic variation. *Bioinformatics*. 18:337-338.
- INEGI (2016). Conjunto de Datos Vectoriales de Uso de Suelo y Vegetación. Escala 1:250 000. Serie VI (Capa Union)', escala: 1:250 000. edición: 1. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Aguascalientes, México.
- Joseph L, A. Toon, E. Schirtzinger, y T. Wright. 2011 Molecular systematics of two enigmatic genera *Psittacella* and *Pezoporus* illuminate the ecological radiation of Australo-Papuan parrots. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 59:675-684.
- Juniper T. y M. Parr. 1998. *Parrots: a guide to the parrots of the world*. New Haven (CT): Yale University Press.
- Juniper T. y M. Parr. 2010. *Parrots. A guide to the parrots of the world*. Christopher Helm, London.
- Kilpatrick CW, N. Pradhan y RW. Norris. 2021. A re-examination of the molecular systematics and phylogeography of taxa of the *Peromyscus aztecus* species group, with comments on the distribution of *P. winkelmanni*. *Therya*. 12(2)331-346. DOI: 10.12933/therya-21-1115.
- Kinnaird MF, TG. O'Brien, RF. Lambert y D. Purmiasa. 2003. Density and distribution of the endemic Seram cockatoo *Cacatua moluccensis* in relation to land use patterns. *Biological Conservation*. 109:227-35. [https://doi.org/10.1016/S0006-3207\(02\)00150-7](https://doi.org/10.1016/S0006-3207(02)00150-7).
- Kundu S, CG. Jones., RP. Prys-Jonesy JJ. Groombridge. 2012. The evolution of the Indian Ocean parrots (Psittaciformes): extinction, adaptive radiation and eustasy. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 62:296-305.
- Land DE y RC. Lacy. 2000. Introgression level achieved through Florida panther genetic restoration. *Endangered Species Updates*. 17:99-103.

- Lande R. 1987. Extinction thresholds in demographic models of territorial populations. *The American Naturalist*. 130:624-635.
- Leite KCE, GHF Seixas, I. Berkunsky, RG. Collevatti y R. Caparroz. 2008. Population genetic structure of the blue-fronted Amazon (*Amazona aestiva*, Psittacidae: Aves) based on nuclear microsatellite loci: implications for conservation. *Genetics and Molecular Research*. 7(3):819-829.
- Marshall C. y J. Liebherr. 2000. Cladistic biogeography of the Mexican Transition Zone. *Journal of Biogeography*. 27:203-216. DOI:10.1046/j.1365-2699.2000.00388.x.
- Martínez-Meyer E, D. Díaz-Porrás, AT. Peterson y C. Yáñez-Arenas. 2012. Ecological niche structure and rangewide abundance patterns of species. *Biology letters*. doi: 10.1098/rsbl.2012.0637.
- Masello JF, P. Quillfeldt, GK. Munimanda, N. Klauke, G. Segelbacher, HM. Shaefer, et al. 2011. The high Andes, gene flow and a stable hybrid zone shape the genetic structure of a wideranging South American parrot. *Frontiers in Zoology*. 8:16. doi:10.1186/1742-9994-8-1.
- Matuzak GD, MB. Bezy y DJ. Brightsmith. 2008. Foraging ecology of parrots in a modified landscape: seasonal trends and introduced species. *The Wilson Journal of Ornithology*. 120:353–365.
- McCauley DJ, ML. Pinsky, SR. Palumbi JA. Estes, FH. Jpyce y RR. Warner. 2015 Marine defaunation: Animal loss in the global ocean. *Science*. 347 (6219):1255641.
- McCracken GF, GM. Burghard y SE. Houst.1999. Microsatellites marker and multiple paternity in the garter snake *Thamnophis sirtalis*. *Molecular Ecology*. 8:1475-1479.
- Melo M. y C. O’Ryan. 2007. Genetic differentiation between Príncipe Island and mainland populations of the grey parrot (*Psittacus erithacus*), and implications for conservation. *Molecular Ecology*. 16 (8):1673-1685.
- Mendoza AM, W. Bolívar-García, E. Vázquez-Domínguez, R. Ibáñez y G. Parra. 2019. The role of Central American barriers in shaping the evolutionary history of the northernmost glassfrog, *Hylanobatrachium fleischmanni* (Anura: centrolenidae). *PeerJ*. 7:e6115. <https://doi.org/10.7717/peerj.6115>.
- Miguez-Gutiérrez A, J. Castillo, J. Márquez y L. Goyenechea. 2013. Biogeografía de la Zona de Transición Mexicana con base en un análisis de árboles reconciliados. 84:215-224. DOI: 10.7550/rmb.32119

- Miller AD, RT. Good, RA. Coleman, ML. Lancaster y AR. Weeks. 2013. Microsatellite loci and the complete mitochondrial DNA sequence characterized through next generation sequencing and de novo genome assembly for the critically endangered orange-bellied parrot, *Neophema chrysogaster*. *Molecular Biology Reports*. 40:35-42.
- Monterrubio-Rico TC, JF. Charre-Medellín, C. Pacheco-Figueroa, S. Arriaga-Weiss, J. Valdez-Leal, R. Cancino-Murillo, G. Escalona-Segura, C. Bonilla-Ruz e Y. Rubio-Rocha. 2016. Distribución potencial histórica y contemporánea de la familia Psittacidae en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 87:1103–1117.
- Mulcahy DG, BH. Morrill y JR. Mendelson. 2006. Historical biogeography of lowland species of toads (*Bufo*) across the Trans-Mexican Neovolcanic Belt and the Isthmus of Tehuantepec. *Journal of Biogeography*. 33:1889-1904.
- Murphy SA, L. Joseph, AH. Burbidge y J. Austin. 2011. A cryptic and critically endangered species revealed by mitochondrial DNA analyses: the Western Ground Parrot. *Conservation Genetics*. 12:595-600.
- Murphy SA, MC. Double y SM Legge. 2007. The phylogeography of palm cockatoos, *Probosciger aterrimus*, in the dynamic Australo-Papuan region. *Journal of Biogeography*. 34: 1534-1545.
- Nigenda-Morales SF, ME. Gompfer, D. Valenzuela-Galván, AR. LAY, KM. Kapheim, C. Hass, et al. 2017. Phylogeographic and diversification patterns of the white-nosed coati (*Nasua narica*): Evidence for south-to-north colonization of North America. *Molecular phylogenetics and evolution*. 131:149-163. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2018.11.011>
- Olah G, SHM. Butchart, A. Symes, I. Medina- Guzmán, R. Cunningham. et al. 2016. Ecological and socio-economic factors affecting extinction risk in parrots. *Biodiversity and Conservation*. 25:205-223 DOI 10.1007/s10531-015-1036-z.
- Peacock E, SA. Sonsthagen, ME. Obbard, A. Boltunov, EV. Regehr, N. Ovsyanikov, J. Aars, et al. 2015. Implications of the circumpolar genetic structure of polar bears for their conservation in a rapidly warming arctic. *PLOS ONE*. DOI: 10.1371/journal.pone.0112021.
- Pires SF. 2012. The illegal parrot trade: a literature review, *Global Crime*. 13(3):176-190. <https://doi.org/10.1080/17440572.2012.700180>.



- Presti FT, NMR. Guedes, PTZ. ANTAS y CY. Miyaki. 2015. Population Genetic Structure in Hyacinth Macaws (*Anodorhynchus hyacinthinus*) and Identification of the Probable Origin of Confiscated Individuals. *Journal of Heredity*. 106:491-502.
- Pritchard JK, P. Stephens, y P. Donnelly. 2000. Inference of population genetic structure using multilocus genotype data. *Genetics*. 155:945-959.
- Pritchard M, T. Craven, T. Mkandawire, AS. Edmondson y JG. O'Neill. 2010. A study of the parameters affecting the effectiveness of *Moringa oleifera* in drinking water purification. *Physics and Chemistry of the Earth*. 35 (13-14):791-797.
- Ribas CC, ES. Tavares, C. Yoshihara y CY. Miyaki. 2007a. Phylogeny and biogeography of Yellow-headed and Blue-fronted Parrots (*Amazona ochrocephala* and *Amazona aestiva*) with special reference to the South American taxa. *Ibis*. 149:564-574.
- Ribas CC, RG. Moyle, CY. Miyaki y J. Cracraft. 2007b. The assembly of montane biotas: linking Andean tectonics and climatic oscillations to independent regimes of diversification in *Pionus* parrot. *The Royal Society*. 2742399-2408.
- Ringler E. 2012. The use of cross-species testing of microsatellite markers and sibship analysis in ex situ population management. *Conservation Genetics Resources*. 4: 815-819.
- Rivera-Ortíz FA, S. Solórzano, MA. Arizmendi, P. Davila-Aranda y K. Oyama. 2016. Genetic Diversity and Structure of the Military Macaw (*Ara militaris*) in Mexico: Implications for Conservation. *Tropical Conservation Science*. 10:1-12.
- Rocha M. y J. Gasca. 2007. Ecología molecular de la conservación. Pp. 251-278. En: L. Eguiarte, V. Souza y X. Aguirre (eds.). *Ecología Molecular*. Instituto Nacional de Ecología. México, D. F.
- Rosete-Verges FA, JL. Pérez-Damián M. Villalobos-Delgado, M. Navarro-Salas, en, Salinas-Chávez E., y R. REMOND-NOA. 2014. El avance de la deforestación en México 1976-2007. *Madera Bosques*. 20(1):21-35. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1405-04712014000100003](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-04712014000100003).
- Rovito SM y G. Parra-Olea. 2016. Neotropical Plethodontid Biogeography: Insights from Molecular Phylogenetics. *Copeia*. 104(1): 222–232. DOI: [http://dx.doi.org/10.1643/CH-14-190\\_](http://dx.doi.org/10.1643/CH-14-190_)

- Rovito SM, G. Parra-Olea, GR. Vazquez-Almazán, R. Luna-Reyes y DB. Wake. 2012. Deep divergences and extensive phylogeographic structure in a clade of lowland tropical salamanders. *BMC Evolutionary Biology*. 12:255. DOI: 10.1186/1471-2148-12-255.
- Russello MA. y G. Amato. 2004. A molecular phylogeny of Amazona: implications for Neotropical parrot biogeography, taxonomy, and conservation. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 30:421-437.
- Ryder OA. 1986. Species conservation and systematics: the dilemma of subspecies. *Trends in Ecology and Evolution*. 1:9-10.
- Salinas-Melgoza A. y K. Renton. Ficha técnica de *Pionus senilis*. In: Fichas sobre las especies de Aves incluidas en el Proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-ECOL-2000. Parte 2. Escalante-Pliego, P. Ed. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. Bases de datos SNIB-CONABIO. Proyecto No. W042. 2008 México, D.F.
- Schweizer M, O. Seehausen, M. Güntertay ST. Hertwiga. 2010. The evolutionary diversification of parrots supports a taxon pulse model with multiple trans-oceanic dispersal events and local radiations. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 54(3):984-994.
- Semarnat. 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010. Protección ambiental - Especies nativas de México de flora y fauna silvestres - Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio - Lista de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación. 2010.
- Shivanna KR. 2020. The Sixth Mass Extinction Crisis and its Impact on Biodiversity and Human Welfare. *Reason*. 25:93-109. <https://doi.org/10.1007/s12045-019-0924-z>
- Snyder N, P. McGowan. J. Gilardi y A. Grajal. 2000. Parrots: status survey and conservation action plan 2000-2004. Cambridge (UK): IUCN.
- Sullivan J, E. Arellano y DS. Rogers. 2000. Comparative Phylogeography of Mesoamerican Highland Rodents: Concerted versus Independent Response to Past Climatic Fluctuations. *The American Naturalist*. 155(6):755-768. DOI:10.1086/303362.
- Tamungang SA. y RA. Cheke. 2012. Population status and management plan of the African Grey Parrot. SC62 Inf. 14. Prepared by the Ministry of Forestry and Wildlife, Cameroon for CITES Secretariat, Geneva, Switzerland.

- Tejera VH. y V. Artemis. 2001. Pericos, casangas, loros, guacamayos y afines. *Tecnociencia*. 3 (1):1-30.
- Tensen L, RJ. Groom, J. van Belkom, HT. Davies-Mostert, K. Marnewick y BJ. van Vuuren. 2016. Genetic diversity and spatial genetic structure of African wild dogs (*Lycaon pictus*) in the Greater Limpopo transfrontier conservation area. *Conservation Genetic*. DOI 10.1007/s10592-016-0821-x
- Terborgh JS., K. Robinson, TA. Parker, CA. Munn y N. Pierpont. 1990. Structure and organization of an Amazonian forest bird community. *Ecological Monographs*. 60:213-238.
- Tiawanna D, D. Taylor y DT. Parkin 2009. Preliminary Evidence Suggests Extra-Pair Mating in the Endangered Echo Parakeet, *Psittacula eques*. *African Zoology*. 44(1): 71-74.
- Tollington S, CG. Jones, A. Greenwood, V. Tatayah, C. Raisin, T. Burke DA. Dawson y JJ. Groombridge. 2013. Long-term, fine-scale temporal patterns of genetic diversity in the restored Mauritius parakeet reveal genetic impacts of management and associated demographic effects on reintroduction programmes. *Biological Conservation*. 161: 28-38.
- Torres-Morales L. 2019. Límites de distribución actual de *Sturnira hondurensis*. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 90: e902644. <http://dx.doi.org/10.22201/ib.20078706e.2019.90.2644>
- UICN (INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE). 2019 <http://www.iucnredlist.org/details/22685548/0>. (last access on 21/01/2022).
- UICN (Unión Internacional para la Conservación y Recursos Naturales). 1980. *Estrategia Mundial para la Conservación*. 1ra Edición.
- van der Zee, A, J. van der Zee, A. Meyrat y C. Poveda. 2012. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). 90pp.
- Vendramin GG, A. Maadaghiele y C. Sperisen. 2000. Vendramin GG, Anzidei M, Madaghiele A, Sperisen C, Bucci G. Chloroplast microsatellite analysis reveals the presence of population subdivision in Norway spruce (*Picea abies* K.). *Genome* 43: 68-78.
- Westemeier RL, JD. Brawn, SA. Simpson, RW. Esker, RW. Jansen, JW. Walk, EL. Kershner JL. Bouzat, y KN. Paige. 1998. Tracking the longterm decline and recovery of an isolated population. *Science*. 282:1695-1698.

- White KL., DK. Eason, IG. Jamieson y BC. Robertson. 2015. Evidence of inbreeding depression in the critically endangered parrot, the kakapo. *Animal Conservation*. 18:341-347.
- White NE, PR. Mawson, R. Dawson, MA. Bunce y PBS. 2009. Characterization and cross-species utility of 20 microsatellite markers for population and forensic applications in the endangered Carnaby's Black-cockatoo, *Calyptorhynchus latirostris*. *Conservation Genetics Resources*. 1:341-345.
- White NE., M. Bunce, PR. Mawson, R. Dawson, DA. Saunders y ME. Allentoft. 2014. Identifying conservation units after large-scale land clearing: spatio temporal molecular survey of endangered white-tailed black cockatoos (*Calyptorhynchus* spp.) *Diversity and Distributions*. 20:1208-1220.
- Wood JR, KJ. Mitchell, RP Scofield, AJD. Tennyson, AE. Fidler, JM. Wilmshurst, B. Llamas y A. Cooper. 2014. An extinct nestorid parrot (Aves, Psittaciformes, Nestoridae) from the Chatham Islands, New Zealand. *Zoological Journal of the Linnean Society*. 172:185-199.
- Wright TF, AM. Rodriguez y RC. Fleischer. 2005. Vocal dialects, sex-biased dispersal, and microsatellite population structure in the parrot *Amazona auropalliata*. *Molecular Ecology*. 14:1197-1205.
- Yañez-Arenas C, E. Martínez-Meyer, S. Mandujano, O. Rojas-Soto. 2012. Modelling geographic patterns of population density of the white-tailed deer in central Mexico by implementing ecological niche theory. *Oikos*. 121:2081-2089. doi: 10.1111/j.1600-0706.2012.20350.x.
- Zamudio-Beltrán LE, JF. Ornelas, A. Malpica y BE. Hernández-Baños. 2020. Genetic and morphological differentiation among populations of the Rivoli's Hummingbird (*Eugenes fulgens*) species complex (Aves: Trochilidae). *The Auk*. 137:1-20. DOI: 10.1093/auk/ukaa032