

Informe final* del Proyecto B018
Estructura genética poblacional de las especies de Tapajitos (Aves Parulinae: *Geothlypis*) que ocurren en los humedales: Uno de los habitats más amenazados de México

Responsable: Dra. Patricia Escalante Pliego
Institución: Universidad Nacional Autónoma de México
Instituto de Biología
Departamento de Zoología
Colección Nacional de Aves
Dirección: Av. Universidad # 3000, Ciudad Universitaria, Coyoacán, México, DF, 04510, México
Correo electrónico: tilmatura@ibiologia.unam.mx
Teléfono/Fax: Tel.: 5622 9129
Fecha de inicio: Agosto 31, 1994
Fecha de término: Abril 30, 1997
Principales resultados: Base de datos, Informe final
Forma de citar el informe final y otros resultados:** Escalante Pliego, P. 1997. Estructura genética poblacional de las especies de Tapajitos (Aves Parulinae: *Geothlypis*) que ocurren en los humedales: Uno de los habitats más amenazados de México. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Biología. **Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. B018.** México D. F.

Resumen:

Los tapajitos son aves asociadas a humedales y sitios de drenaje deficiente. México se considera un centro de diferenciación importante pues del total de diez especies, seis se encuentran en nuestro país y cuatro de éstas son endémicas: *Geothlypis speciosa*, *G. flavovelata*, *G. beldingi*, *G. nelsoni*. De las cuatro endémicas, tres están enlistadas como especies amenazadas y en peligro de extinción.

Los objetivos de este proyecto son: estimar los parámetros de variación genética poblacional y la estructura de poblaciones de las especies de tapajitos en México; repatriar las muestras de tejidos (en especial las de las especies amenazadas); utilizar la información genética y ecológica generada para determinar la situación de conservación de las poblaciones y taxa endémicos y proponer medidas de manejo y conservación de acuerdo a la información obtenida; estimar la filogeografía de los tapajitos en México y estimar la filogenia del género.

-
- * El presente documento no necesariamente contiene los principales resultados del proyecto correspondiente o la descripción de los mismos. Los proyectos apoyados por la CONABIO así como información adicional sobre ellos, pueden consultarse en www.conabio.gob.mx
 - ** El usuario tiene la obligación, de conformidad con el artículo 57 de la LFDA, de citar a los autores de obras individuales, así como a los compiladores. De manera que deberán citarse todos los responsables de los proyectos, que proveyeron datos, así como a la CONABIO como depositaria, compiladora y proveedora de la información. En su caso, el usuario deberá obtener del proveedor la información complementaria sobre la autoría específica de los datos.

ESTRUCTURA GENETICA POBLACIONAL DELAS ESPECIES DE TAPAOJITOS
(AVES, PARULINAE: *GEOTHLYPIS*) QUE OCURREN EN LOS HUMEDALES DE MEXICO:
UNO DE LOS HABITATS MAS AMENAZADOS DE NUESTRO PAIS

Proyecto desarrollado por

Dra. Patricia Escalante Pliego
Instituto de Biología UNAM

En este reporte se presentan los resultados totales obtenidos en este proyecto desde su inicio, de acuerdo a las aclaraciones presentadas en el reporte entregado el 30 de agosto de 1996 y la prórroga concedida en el mes de octubre de 1996.

Los objetivos originales del proyecto fueron:

- a. Estimar los parámetros de variación genética poblacional y la estructura de poblaciones de las especies de tapaojitos en México.
- b. Repatriar las muestras de tejidos (en especial las de las especies amenazadas).
- c. Utilizar la información genética y ecológica generada para determinar la situación de conservación de las poblaciones y taxa endémicos y proponer medidas de manejo y conservación de acuerdo a la información obtenida.
- d. Estimar la filogeografía de los tapaojitos en México.
- e. Estimar la filogenia del género.

Metodología

Una vez obtenidas las muestras congeladas y en buffer en el laboratorio, se procedió a aislar el DNA genómico. La primera técnica de extracción con fenol/cloroformo mostró ciertos problemas según la calidad de las muestras, por lo que se prosiguió el aislamiento mediante columnas de QIAGEN.

De acuerdo a la literatura e información con colegas se diseñaron primers para realizar amplificaciones del DNA mitocondrial, en especial de la región control o d-loop. El primer par de primers utilizado fue el de los llamados 12Sarev y DLGlu. No se obtuvieron amplificaciones para todas las muestras, pero sí se hicieron digestiones tanto para escoger las enzimas a utilizar, como para explorar si el fragmento de aprox. 1800 pb obtenidas era informativo en cuanto a la diferenciación de poblaciones y especies en este grupo. Lo cual resulto positivo.

Se buscaron entonces nuevos pares de primers para lo cual se intentó lo siguiente. (a) Ampliar un fragmento de aprox. 360 pb del ND2 (también mitocondrial) con los primers L5215 y H5578. Estos primers resultaron muy bien diseñados y prácticamente funcionan en cualquier especie de ave intentada hasta la fecha. (b) Sintetizar nuevos primers para el d-loop con base en el trabajo de Tarr (1995) para paserinas, los primers aquí reportados son llamados H417, HCR1, H1248 y su resultado en las amplificaciones con este grupo fue variable. (c) Diseñar nuevos primers para el d-loop con base en una secuencia de *O. agilis* facilitada por el Dr. John Klicka de la Universidad de Chicago. Estos primers fueron diseñados con el

programa OLIGO 4.0, y los llamamos TLG1uZ y dloopl. La eficiencia de estos primers fue muy buena y sólo fue inconsistente cuando la calidad del DNA era dudosa, como es el caso de muestras no colectadas por nosotros, sino obtenidas en intercambio con otros museos, las cuales ya han pasado por diferentes fases de descongelamiento; también pueden ser diferentes en los sitios de los primers y por lo tanto difíciles para amplificar con ellos (muestras sudamericanas la mayoría).

El fragmento de NDZ era relativamente pequeño (360) y podía no ser muy variable para las preguntas de este proyecto por lo que después de la amplificación se intentó la secuenciación directa de un individuo por especie/subespecie/población, para obtener la mayor cantidad de información con todas las bases del fragmento y no sólo las que reconocen las enzimas de restricción. En total se obtuvieron 30 secuencias para 15 muestras (una de cada cadena).

El fragmento de dloop con el que se continuó para todas las muestras fue el flanqueado por los primers TLG1u2 y dloopl, comparando los resultados con los obtenidos en las amplificaciones y digestiones con los pares anteriores. Este fragmento es de unas 660 pb aproximadamente y después de la amplificación se intentó la secuenciación de un individuo por especie/subespecie/población, y la digestión con enzimas de restricción de 5 individuos por especie/subespecie/población de las especies distribuidas en México.

Se obtuvieron un total de 30 secuencias del fragmento del d-loop para 15 muestras (una de cada cadena). La especie *Geoth2ypis speciosa* no pudo ser amplificada para este fragmento y por lo tanto para ellas no se obtuvieron datos de este DNA. La razón es que existe una delección en el dloop de esta especie, las amplificaciones del fragmento más grande que se obtuvieron inicialmente, mostraban una franja más pequeña, de aprox. 1600 pb en lugar de 1800 pb como en las demás especies. Aparentemente la delección se encuentra en el sitio del segundo primer y por lo tanto sería indispensable clonar este amplificado o secuenciar en reverso para obtener la secuencia de esta especie.

Las digestiones con enzimas de restricción para estimar la variación poblacional de las especies que se distribuyen en México se hizo para un total de 22 enzimas disponibles y un total de 21 muestras. Con las 7 enzimas que mostraron ser informativas y que funcionaron consistentemente se hicieron digestiones en cuatro individuos más por cada especie/subespecie/población.

RESULTADOS

En las figuras 1-3 se presentan las especies estudiadas y sus áreas de distribución como referencia para este reporte, y señalamientos de las localidades de donde provienen las muestras.

Estas especies son:

<i>Geothypis trichas</i>	ampliamente distribuida en Norteamérica, su límite de distribución sureño es en el centro de México
<i>Geothypis beldingi</i>	pantanos de agua dulce y oasis en Baja California Sur
<i>Gethlypis flavovelata</i>	lagunas de agua dulce en Altamira, Tamaulipas
<i>Geothypis rostrata</i>	matorral y vegetación secundaria en Las Bahamas
<i>Geothypis speciosa</i>	ciénegas del Eje Neovolcánico desde el Lago Cuitzeo y Pátzcuaro a el Lerroa
<i>Geothypis nelsoni</i>	matorral y vegetación secundaria en la ladera E de la Sierra

	Madre Oriental al sur hasta la Sierra de Miahuatlán y al oeste hasta Temascaltepec
<i>Geothlypis semiflava</i>	Nicaragua, Costa Rica, Panamá y oeste de Colombia y Ecuador.
<i>Geothlypis aequinoctialis</i>	Humedales en cuatro áreas desjuntas: frontera de Costa Rica y Panamá, norte de Sudamérica arriba del río Amazonas, sur de Sudamérica, al sur del río Amazonas, y al oeste de los Andes.
<i>Geothlypis poliocephala</i>	cerca de cuerpos de agua y arroyos en las vertientes tropicales de México y Centroamérica hasta Costa Rica.

Las tres especies adicionales incluidas en algunos análisis están actualmente clasificadas en el género *Oporornis*, el más cercano a *Geothlypis*. Estas son: *O. formosus* de distribución reproductiva en el este de Estados Unidos y Canadá y como invernante en Centroamérica básicamente. *O. to2miei* distribución similar a lo anterior, y como grupo externo *O. agilis* que se reproduce en el centro de Estados Unidos y Canadá e invernante en Sudamérica.

Digestiones con enzimas de restricción (RFLP's)

Las 22 enzimas de restricción utilizadas y los haplotipos obtenidos se presentan en la Tabla 1. Para las enzimas informativas, los haplotipos encontrados se presentan en la tabla 2. Como sucede en especies cercanamente emparentadas, el polimorfismo en los alelos o en este caso en los haplotipos se comparte no solamente entre poblaciones de la misma especie, sino entre especies cercanas. A reserva de calcular algunos estimados genéticos con las frecuencias obtenidas, a simple vista se observa que las especies con distribución restringida (o aislada) como *G. beldingi*, *G. flavovelata* y *G. rostrata* tienden a tener menos variación genética (2 de 7, 3 de 7, 1 de 6, 1 de 6), que poblaciones de especies ampliamente distribuidas y con flujo genético reciente o activo entre sus poblaciones como trichas Morelos, Chapala Zupitlán y Florida (4 de 7, 4 de 6, 3 de 6, 3 de 6).

Los datos de los fragmentos producidos por enzimas de restricción fueron sujetos a un análisis heurístico de parsimonia para ver la historia filogeográfica de las poblaciones/especies. La matriz (Tabla 1) estuvo compuesta de 21 taxa por 22 caracteres. De estos caracteres, solamente 15 fueron informativos (marcados con asterisco).

Se obtuvieron 1356 árboles de 62 pasos cada uno. En los árboles de consenso (Figura 4) se observa lo siguiente. La resolución es bastante pobre, la distribución de caracteres en algunas enzimas pueden tener problemas de homología porque se están utilizando solamente los fragmentos y el número de caracteres es

insuficiente para resolver todo el árbol (aunque el número de estados es alto). Las poblaciones de la Península de Baja California (Gbel y GtriST) retienen caracteres primitivos y son jalados a la base del árbol. La mayor parte de las poblaciones de Norteamérica se agrupan consistentemente formando un grupo monofilético, sin embargo, la población de trichas Florida se sale del grupo. *Geothlypis* *spectosa* otra especie del centro de México también queda en la base del árbol (consenso estricto) o cercana al grupo centro-sudamericano. Además de que la especie *trichas* aparece como parafilética, la especie sudamericano *aequinoctialis* también lo aparece. Un árbol obtenido con un bootstrap de 10 réplicas el cual es intermedio entre el estricto y el de 50% de mayoría.

Secuencias de nucleótidos del ND2 y d-loop

Para el NDZ, se obtuvieron secuencias de hasta 397 pares de bases, de los cuales unos 39 resultaron informativos (Tabla 3). Mediante una búsqueda heurística de parsimonia en el programa PAUP, se obtienen 25 árboles más cortos de 66 pasos cada uno. El consenso de estos árboles se muestra en la Figura 5.

De las secuencias de d-loop se obtuvieron hasta 638 pares de bases de los cuales unos 38 resultaron informativos (Tabla 4). Mediante un análisis heurístico de parsimonia se obtuvieron 14 árboles más cortos con 63 pasos cada uno. En la Figura 6 se presentan los dos consensos (estricto y de 50% de mayoría) de estos árboles.

Los árboles de consenso obtenidos no son iguales. Para no discutir grupo por grupo las diferencias, optamos por hacer un análisis con las dos matrices de datos obtenidas, de manera conjunta. Una búsqueda heurística con los 77 caracteres informativos resulta en 26 árboles más cortos de 141 pasos cada uno. En la figura 7 se muestran los dos árboles de consenso. En este caso los dos árboles son casi idénticos, pues sólo difieren en dos nodos.

DISCUSIÓN

De acuerdo a la información filogenética y filogeográfica obtenida observamos que las especies endémicas mexicanas, a excepción de *Geothlypis speciosa* son producto de una radiación más reciente dentro del grupo.

Oporornis formosus cuyo patrón de coloración es relativamente semejante a algunas especies de *Geothlypis* parece pertenecer a este último género, pues no aparece en la base con *Oporornis agilis*. La clasificación de *O. formosus* fuera de *Geothlypis* se debe más a su distribución geográfica que a otra característica.

Los grupos más banales y por lo tanto antiguos *dentro de Geothlypis* son las subespecies sudamericanas de *aequinotialis*. Es notorio que estas no forman un grupo monofilético, igual como resultó con las aloenzimas. La división entre las poblaciones del macizo de las Guayanas con las demás poblaciones es profunda mientras que la división de los Andes es menos notoria (entre las poblaciones de Bolivia y Perú incluidas, GaB y GaP).

Posteriormente se detectó un grupo monofilético con todas las especies de distribución Centro y Norteamericana. El grupo se divide en dos, en el primero, *Oporornis formosus* se junta con *G. poliocephala*. Esto es interesante porque ambas especies tienen patrones de coloración diferentes, una es sedentaria y la otra migratoria y sus áreas de distribución se sobrelapan.

El segundo grupo tiene en su base a la especie centroamericana *G. semiflava* e inmediatamente después a *G. speciosa* de las ciénegas del centro de México. El que esta última especie quede tan en la base de este grupo nos muestra su carácter *relictual*, lo mismo que su distribución restringida, sus *caracteres* de plumaje son también particulares y concuerdan con esta posición filogenética.

La especie que sigue en el árbol extrañamente es una población de Baja California (GbSI). Al parecer las poblaciones de la Península de Baja California conservan muchos caracteres primitivos. Lo mismo se observó con los RFLP's. Quizas ello se explique *por* una dispersión rápida del grupo y diferenciación posterior desde el centro como se observo en otros grupos (patrones de "leap-frog").

En el grupo monofilético que sigue encontramos que los grupos más distantes geográficamente son basales, lo cual también nos habla de la historia filogeográfica del grupo como se mencionaba en el párrafo anterior, es decir, que las poblaciones distantes quedan aisladas y se interrumpe el flujo genético con ellas, separándose del grupo, mientras que las centrales siguen compartiendo flujo genético y se separan posteriormente. Esto se observa con las poblaciones de Las Bahamas (Grost) y con las de la Península de Baja California (GbSJ y GtST). Es notorio que trlchas de Baja California cae en este patrón aunque se considere parte de otra especie.

En el grupo restante se incluyen poblaciones del centro de México y de Florida, clasificadas en las especies *trichas*, *nelsoni* y *flavovelata*. Como se había mencionado trlchas resulta parafilética.

CONCLUSIONES

Sobre las especies enlistadas en la NÓM-059-ECOL-1994), los datos obtenidos indican que:

1. *Geothlypis speciosa* es una especie antigua relativamente y con distribución relictual en las ciénegas del centro de México, distintiva genéticamente especialmente por su carácter de un d-loop más corto que las demás especies de su género y diferencias marcadas en el otro gen ensayado (ND2).
2. *Geothlypis flavovelata* es una especie apenas recientemente separada de las demás poblaciones de trlchas y su diferenciación genética es muy pequeña.
3. *Geothlypis beldingi* es una especie cuyas poblaciones parecen haber llegado a la Península de Baja California desde la primera dispersión del género y conservan muchos caracteres primitivos aunque también presentan muchos caracteres exclusivos.

4. Las dos poblaciones de *G. beldingi* ensayadas son lo bastante diferentes (San José y San Ignacio) para considerarlas como especies diferentes. La dispersión de las poblaciones de Baja California claramente se demuestran como originadas desde el norte de la península, por compartir caracteres exclusivos con las poblaciones del norte (*trichas*) y con ninguna más.

5. Adicionalmente como se apuntó arriba, se detectan a las especies de *trichas* y *aequinoctialis* como especies parafiléticas. Es difícil separar a *trichas* en especies monofiléticas pues sus poblaciones aún mantienen flujo genético o hay muy pocos marcadores moleculares para separarlas claramente, sin embargo, los caracteres morfológicos y de cantos utilizados tradicionalmente, ya separan algunas de estas poblaciones claramente (v. gr. *nelsoni*, *flavovelata*). En el caso de *aequinoctialis*, la separación es muy clara pues coincide con distribución alopátrica y caracteres aloenzimáticos.

6. Las poblaciones sureñas (en sudamericano) muestran una mayor diferenciación genética y menor diferenciación fenotípica. Esto puede estar influenciado por la longitud de la

época reproductiva, que las especies en el norte tienen un tiempo muy breve para establecer las parejas y los caracteres de diferenciación sexual (plumaje y/o canto) se ven más presionados por la selección natural que en las poblaciones del sur. También las poblaciones sureñas parecen ser más antiguas y haber acumulado más diferencias genéticas que las del norte.

7. Las filogenias obtenidas concuerdan con los patrones de distribución y sugieren las rutas de dispersión y diferenciación vicariante (posterior) de sus poblaciones.

VoBo. Dr. Juan
Pedro Laclette
Instituto de
Investigaciones
Biomédicas

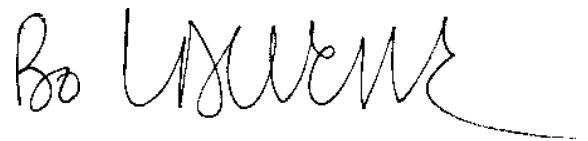


Tabla 1. Matriz de datos de haplotipos presentes de las siguientes enzimas de restricción: KpnI, MnlI, MseI, HinfI, AclI, FokI, NlaIV, EarI, RsaI, MboII, AseI, del, SspI, MspI, BstNI, BstUI, BsrI, TagI, HaeIII, HhaI, Bsp1286I, 5au961, para un individuo de cada población de las especies de *Geothlypis* y *Oporornis* incluidas en el estudio. Las enzimas marcadas con asterisco son las informativas.

Taxon	* * * * * * * * * * * * * * * * *																					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2
GbeldSJ1634	B	B	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
GbelSI1727	A	B	B	A	A	A	B	B	B	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
GtriST1836	B	B	B	A	A	A	C	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
GtriCha1201	C	B	B	A	B	B	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
GtriMor2103	C	B	B	A	B	B	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
GtriZup1333	C	A	B	A	A	B	B	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
GtriFlo2233	B	B	B	A	B	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
GrostBah2250	C	B	B	A	A	B	A	A	A	A	B	A	A	B	A	A	A	B	A	A	A	A
GflavTam1294	C	B	B	A	B	B	B	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
GnelPue1342	C	B	B	A	B	B	B	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
GspeCuit1131	D	B	C	A	A	A	A	?	?	A	A	B	A	?	?	?	?	?	?	?	?	?
GsemiCR2155	D	C	C	B	A	C	C	A	C	C	A	B	B	A	A	A	A	A	B	A	A	A
GaeqCR2187	D	C	C	B	B	D	C	A	C	C	A	B	A	A	A	A	A	C	A	A	A	A
GaeqPeru5144	B	C	C	A	B	D	D	A	?	?	A	A	B	?	?	A	A	A	?	A	A	A
GaeqBol13925	B	D	B	A	A	A	C	C	A	A	A	B	?	?	A	A	A	B	A	A	?	?
GaeqVen2047	B	D	D	A	C	A	C	C	D	A	A	A	B	?	B	A	A	A	B	A	A	B
GpolMor1927	B	C	C	A	A	C	D	B	D	D	A	C	B	?	C	A	B	A	B	A	A	A
GpolCR2223	B	C	C	A	C	A	D	B	E	D	A	C	B	?	?	A	B	A	B	A	A	A
OforChic8852	B	F	B	A	?	A	A	C	?	C	A	D	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A
OtolChic298	E	G	D	A	?	A	E	B	?	E	A	E	A	A	?	A	A	A	A	A	A	A
OagiChi601	B	H	E	C	?	A	A	B	A	F	A	F	A	A	B	C	C	A	B	A	B	A

Tabla 2.

Frecuencia de haplotipos en las poblaciones mexicanas (y cercanas) de las especies de Geothlypis con enzimas de restricción informativas.

género	especie	población	KpnI				MnII		Acil		FokI		NlaIV		EarI			MbolI		
			A	b	c	d	a	b	a	b	a	b	a	b	c	a	b	c		
Geothlypis	beldingi	San José	2	3			5	5		5		5		3	2		5			
Geothlypis	beldingi	San Ignacio	3	2			5	5		5		5		1	4		4	1		
Geothlypis	trichas	San Telmo		5			5	5		5		5		4	1		5			
Geothlypis	trichas	Chapala		1	4		5	3	2	2	3	1	4	5			5			
Geothlypis	trichas	Morelos			1		5	1	4	1	4	2	3	5			3	2		
Geothlypis	trichas	Zupitlán			1		1	4	4	1	5	5		5			3	2		
Geothlypis	trichas	Florida		1			5	3	2	4	1	5		5			4	1		
Geothlypis	rostrata	Bahamas			1		5	5		5		5		5			4	1		
Geothlypis	flavovelata	Tamaulipas			1		5		5	1	4		5	5			5			
Geothlypis	nelsoni	Puebla			1		5	3	2		5		5	5			5			
Geothlypis	speciosa	Cuitzeo				1	3	3		3		1		3			2			

Tabla 3. Matriz de datos de las secuencias de nucleótidos del N02. Solamente se presentan los 39 caracteres informativos. Para ver las secuencias completas consulte el Apéndice 1.

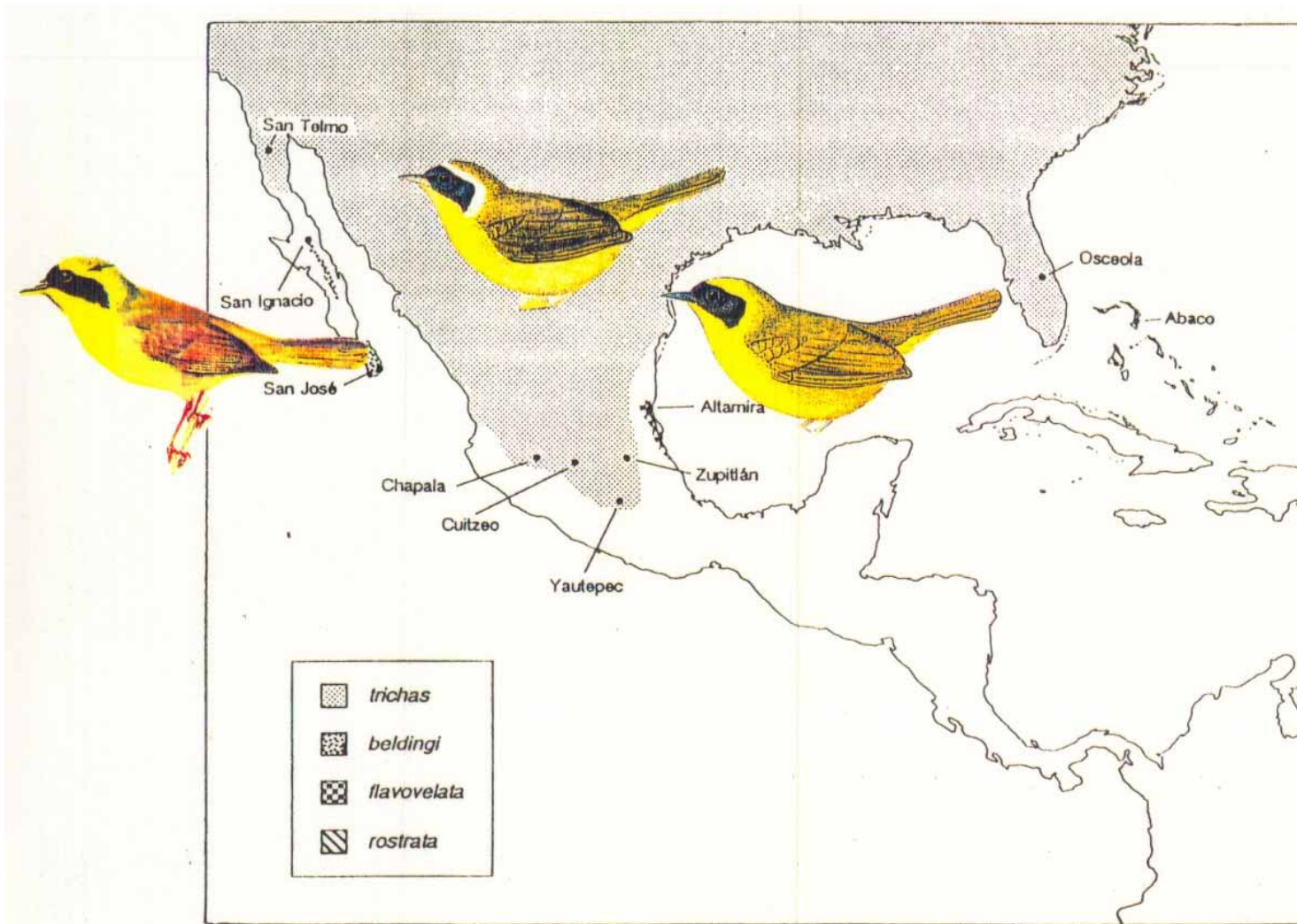
	1	2	3	4	4	6	6	6	7	7	9	1	1	3	4	6	0	0	2	3	4	4	6	6	7	7	7	8	8	8	8	0	0	1	1	2	3	5	6	
Node	2	1	4	6	8	1	4	8	3	6	1	2	6	0	5	6	2	5	0	2	7	8	2	8	4	5	7	0	3	6	9	1	7	0	3	2	1	5	4	
6010Oagi	?	?	?	?	?	T	C	A	C	A	C	T	A	C	T	A	T	C	T	C	C	T	A	T	A	C	C	T	A	A	G	A	C	C	G	C	T	G	?	
1585Ofor	?	?	G	C	N	C	C	G	C	A	C	T	G	N	T	A	N	T	T	C	T	C	G	T	A	C	C	T	G	A	G	A	C	T	A	C	T	G	?	
2105Gp	T	A	A	C	A	C	T	A	C	A	C	T	G	C	C	A	T	C	T	C	T	T	G	T	A	C	C	C	G	A	G	A	T	T	A	C	T	A	A	
2046Gaa	?	?	?	C	A	T	C	A	C	C	C	T	G	A	C	A	T	T	C	C	C	T	A	T	A	C	C	C	A	A	G	A	T	C	A	A	C	G	A	
2068Gaa	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	C	T	N	N	C	A	T	T	C	C	C	T	A	T	A	C	C	?	A	A	G	A	C	C	?	?	?	?	?
5125GaB	?	?	?	C	N	T	T	G	C	C	C	T	G	C	C	A	T	C	C	T	C	T	G	T	G	C	C	?	G	A	G	A	?	?	?	?	?	?	?	
13925GaP	?	?	?	?	?	T	C	G	C	C	C	T	G	C	C	A	C	C	T	T	T	T	A	T	A	C	C	A	G	A	G	A	C	T	G	C	C	?	?	
2156Gsem	N	A	A	C	A	T	C	A	C	A	C	T	G	C	C	A	T	C	T	T	T	T	A	C	G	T	C	C	A	A	G	G	T	T	A	T	T	G	G	
2142Gnel	G	A	A	T	A	T	C	A	T	A	T	C	G	C	C	G	T	C	T	T	C	C	A	C	A	T	C	C	G	G	A	G	T	T	A	T	T	A	G	
1892Spe	G	A	G	C	A	T	C	A	C	A	C	T	G	C	C	A	T	C	T	C	T	C	A	C	G	T	C	C	A	G	G	G	T	T	A	T	C	A	?	
1200Gtcha	G	A	A	T	A	T	C	A	T	A	T	C	G	C	C	G	T	C	T	T	C	C	A	C	A	T	C	C	G	G	A	G	T	T	A	T	T	A	G	
1294Gfla	G	A	A	T	A	T	C	A	T	A	T	C	G	C	C	G	T	C	T	T	C	C	A	C	G	T	C	C	G	G	A	G	T	T	A	T	T	A	G	
1339GtZup	G	A	A	C	A	T	C	A	T	A	T	C	G	C	C	G	T	C	T	T	C	C	A	C	A	T	C	C	G	G	A	G	T	T	A	T	T	A	G	
1711GbSI	G	G	A	T	A	T	C	A	T	A	T	C	G	C	C	G	T	C	T	T	C	C	A	C	A	T	T	C	G	G	A	G	T	T	A	T	T	A	G	
1691GbSJ	G	G	A	T	A	T	C	A	T	A	T	C	G	C	C	G	T	C	T	T	C	C	A	C	A	T	T	C	G	G	A	G	T	T	A	T	T	A	G	
1837GtST	G	G	A	T	A	T	C	A	T	A	T	C	G	C	C	G	T	C	T	T	C	C	A	C	A	T	T	C	G	G	A	G	T	T	A	T	T	A	G	
2102GtMor	G	A	A	T	A	T	C	A	T	A	T	C	G	C	C	G	T	C	T	T	C	C	A	C	G	T	C	C	G	G	A	G	C	T	A	T	T	A	G	
2234GtFla	G	A	A	T	A	T	C	A	T	A	T	C	G	C	C	G	T	C	T	T	C	C	A	C	A	T	C	C	G	G	A	A	T	T	A	T	T	A	G	
2251Grost	G	A	A	T	A	T	C	A	T	A	T	C	G	C	C	G	T	C	T	T	C	C	A	C	A	T	C	C	G	G	A	G	T	T	A	T	T	A	G	

Tabla 4. Matriz de datos de las secuencias de nucleótidos en el d-loop. Solamente se presentan los 38 caracteres informativos. Para ver las secuencias completas ver el Apéndice 2.

Taxon	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	4	4	4	5	5	5	5	5	5	5				
	1	6	7	3	5	5	7	8	8	8	8	9	9	9	9	9	0	1	3	8	9	9	0	1	1	2	9	8	8	9	1	1	1	2	4	6	6	7	
	1	9	7	6	7	8	7	1	2	6	7	0	1	2	4	6	1	7	6	1	0	1	1	1	3	3	4	7	8	3	1	4	9	3	7	4	9	3	
Oagilis	A	T	G	A	T	A	A	C	A	C	T	A	T	A	G	C	G	T	C	G	G	A	C	C	T	G	T	T	G	C	G	G	C	T	T	C	A	T	
2068Gaa	?	T	A	A	T	A	G	T	G	C	C	A	C	A	G	C	A	T	C	G	G	A	C	C	C	A	C	T	A	C	A	C	C	T	G	C	C	C	
2046Gaa	?	?	?	?	?	?	G	T	G	C	C	A	C	A	G	C	A	T	C	G	G	A	C	C	C	A	C	T	A	C	?	?	?	?	?	?	?	?	
13925GaP	?	?	?	?	?	?	A	T	G	C	C	A	C	A	G	C	T	T	C	G	G	?	?	?	C	A	C	?	G	C	G	G	C	T	T	?	?	?	
2156Gsem	?	?	?	?	C	C	G	T	G	T	C	A	T	T	G	C	A	C	T	G	A	A	C	C	T	G	T	T	G	A	A	C	A	G	G	A	G	C	
2142Gn	?	A	G	A	C	C	A	C	A	C	T	T	T	C	A	A	G	T	T	A	A	G	C	C	T	G	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?
1294Gf	?	?	G	A	C	C	A	C	A	C	T	T	T	C	A	A	G	T	T	A	A	G	T	C	T	G	C	G	G	A	A	C	A	G	G	A	G	C	
2251Gr	?	A	G	A	C	C	A	C	A	C	T	A	T	C	A	A	G	T	C	G	A	A	C	C	T	G	C	G	G	A	A	C	A	G	G	A	A	C	
2234GtFla	G	T	G	T	C	C	A	C	A	C	T	T	T	C	A	A	G	T	T	A	A	G	C	T	T	G	C	T	G	A	A	C	A	G	G	A	G	C	
1339GtZu	?	?	G	A	C	C	A	C	A	C	T	T	T	C	A	A	G	T	T	A	A	G	C	C	T	G	C	G	G	A	A	C	A	G	G	A	G	C	
1200GtCh	?	?	G	T	C	C	A	C	A	C	T	T	T	C	A	A	G	T	T	G	A	G	C	T	T	G	C	T	G	A	A	C	A	G	G	A	G	T	
2102GtMor	?	?	?	?	C	C	A	C	A	C	T	T	T	C	A	A	G	T	T	A	A	G	T	C	T	G	C	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?
1868GtST	A	T	G	A	C	C	A	C	A	C	T	A	T	C	A	G	G	T	C	G	A	G	C	C	C	G	C	C	G	A	A	C	A	G	G	A	G	T	
1691GbSJ	?	?	G	A	C	C	A	C	A	C	T	A	T	C	A	G	G	T	C	G	A	G	C	C	C	G	C	T	G	A	A	C	A	G	G	A	G	T	
1711GbSI	G	T	A	A	C	C	G	T	G	T	C	A	T	T	G	C	A	C	T	G	A	A	C	C	T	G	C	T	G	A	A	C	A	G	G	A	G	T	

Figura 1.

Distribución de las especie ilustradas de izquierda a derecha: *Geothly, beidingi* en la Península de Baja California, *G. trichas* de amplia distribución en Norteamérica, y *G. riavovetata* en Tamaulipas.



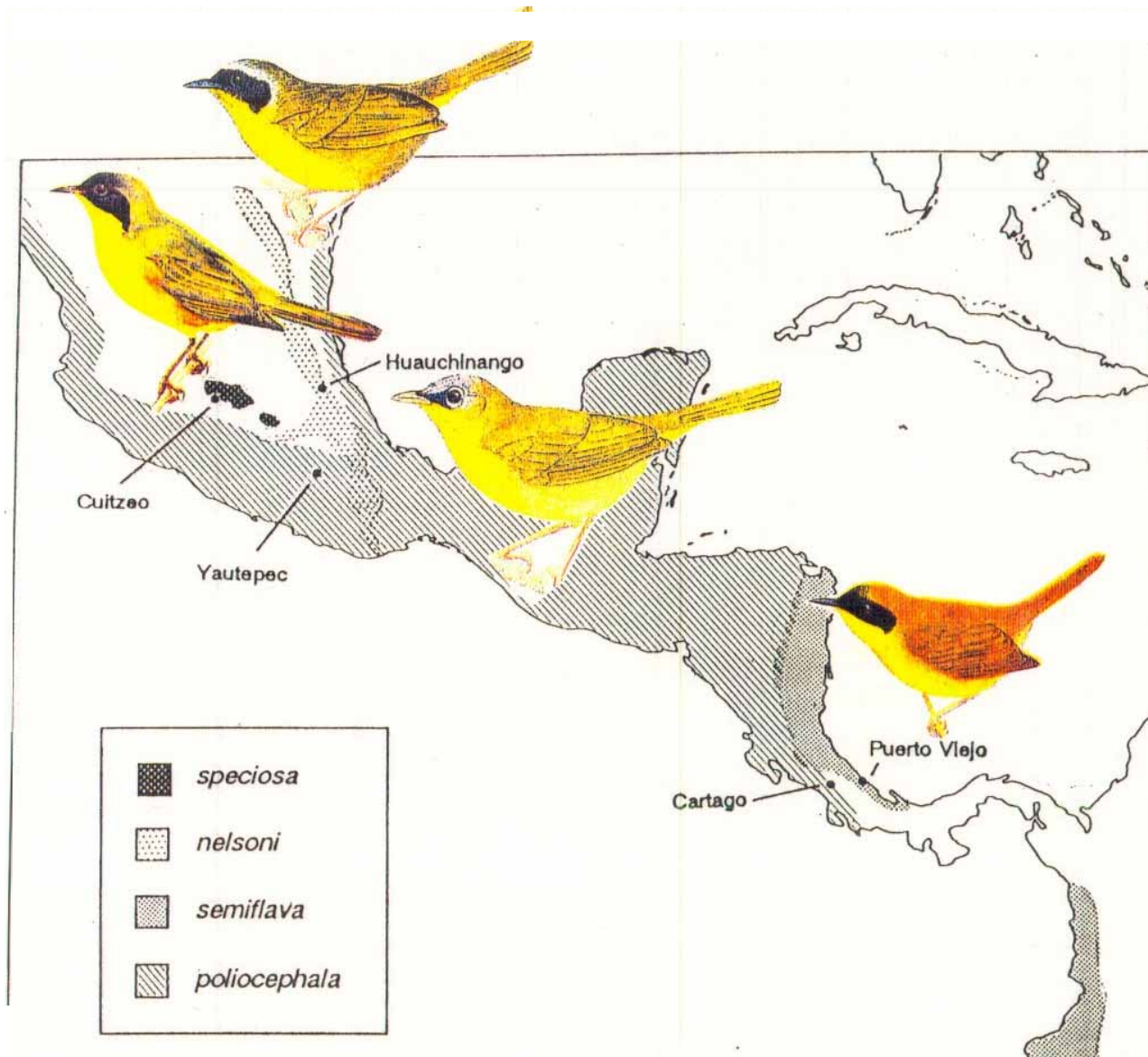


Figura 2. Distribución de las especies de *Geothlypis* en México y Centroamérica (continuación). De izquierda a derecha, *G. speciosa* de las ciénegas del centro de México, *G. nelsoni* de la Sierra Madre Oriental, *G. poliocephala* ampliamente distribuida, y *G. semiflava* de Nicaragua, Costa Rica, O de Colombia y N de Ecuador.

aequinoctialis

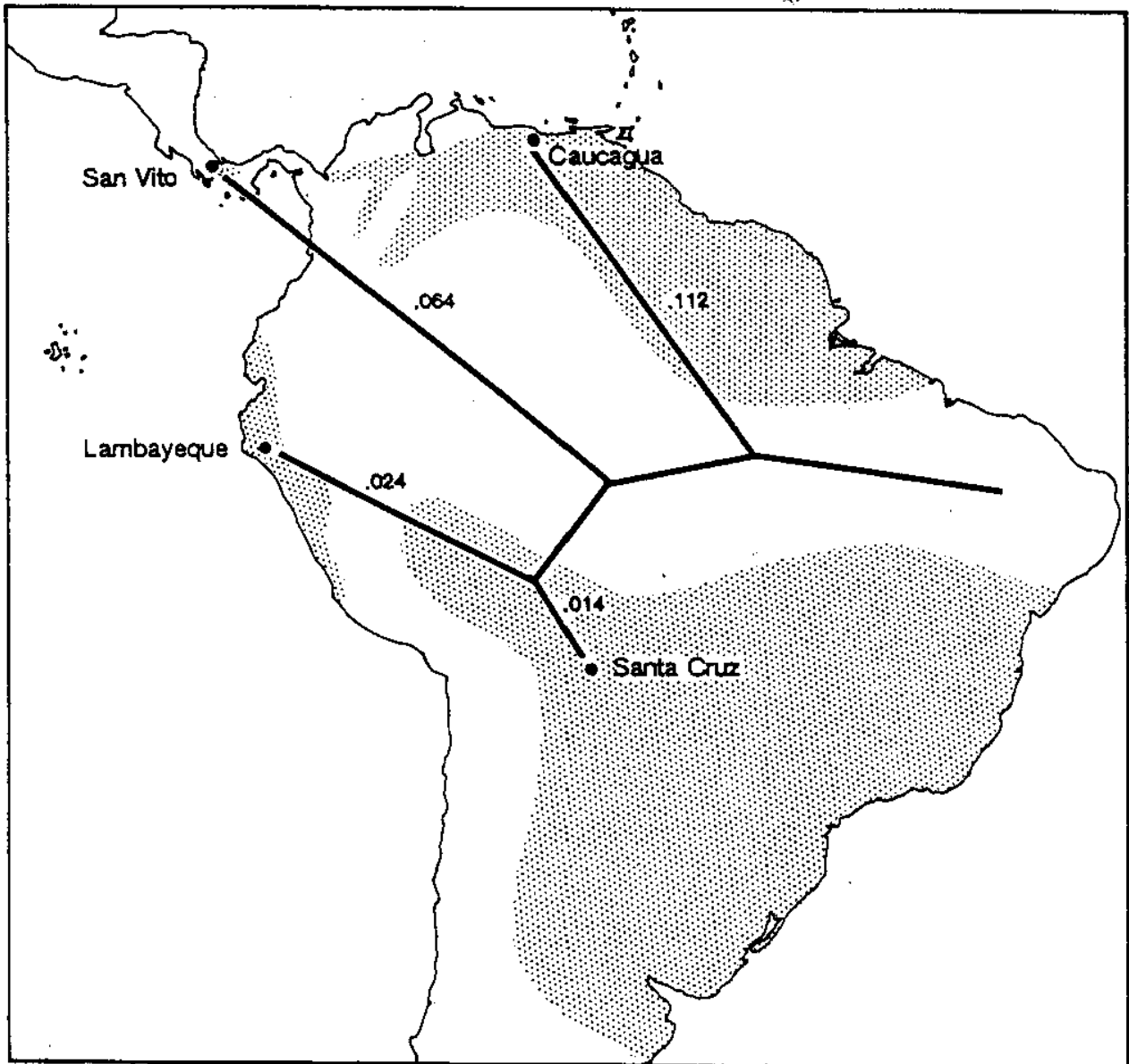


Figura 3. Distribución disjunta de *Geothlypis aequinoctialis* en Sudamérica y sur de Centroamérica.

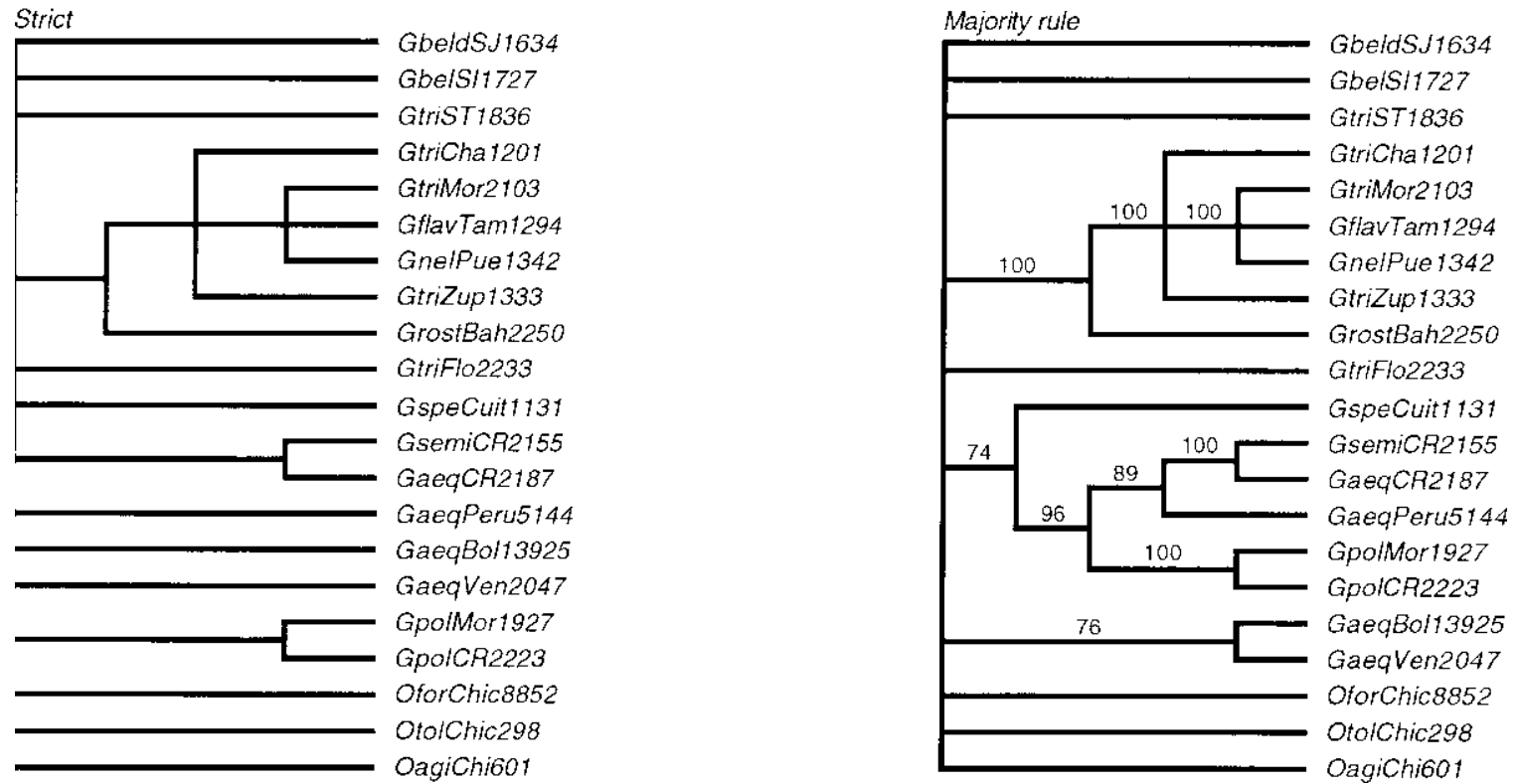


Figura 4. Consenso estricto y de 50% de mayoría de los haplotipos del d-loop como caracteres.

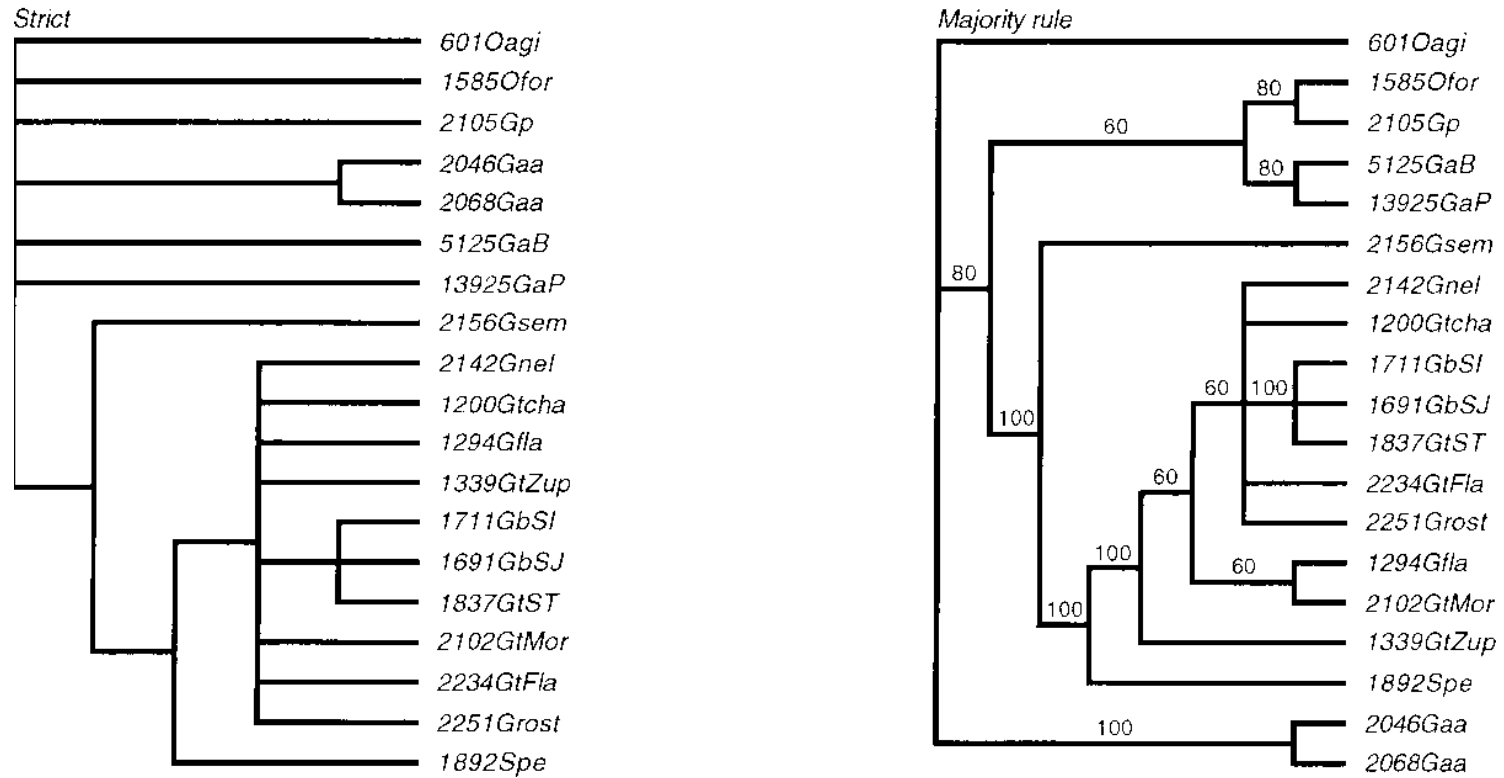


Figura 5. Consenso estricto y de 50% de mayoría de los árboles más parsimónicos obtenidos usando las secuencias del NDZ.

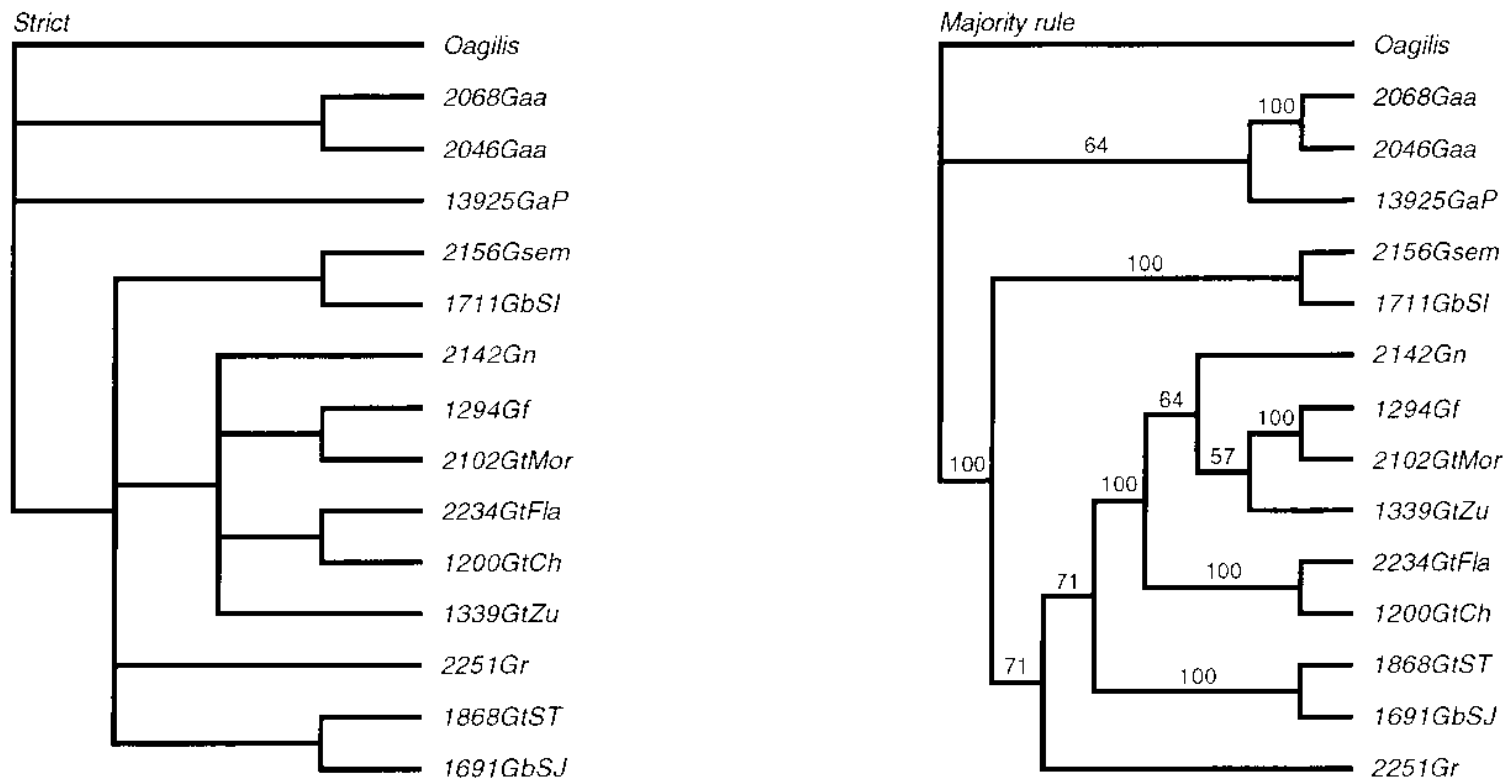


Figura 6. Consenso estricto y de 50% de mayoría de los árboles más parsimónicos obtenidos usando las secuencias del dloop.

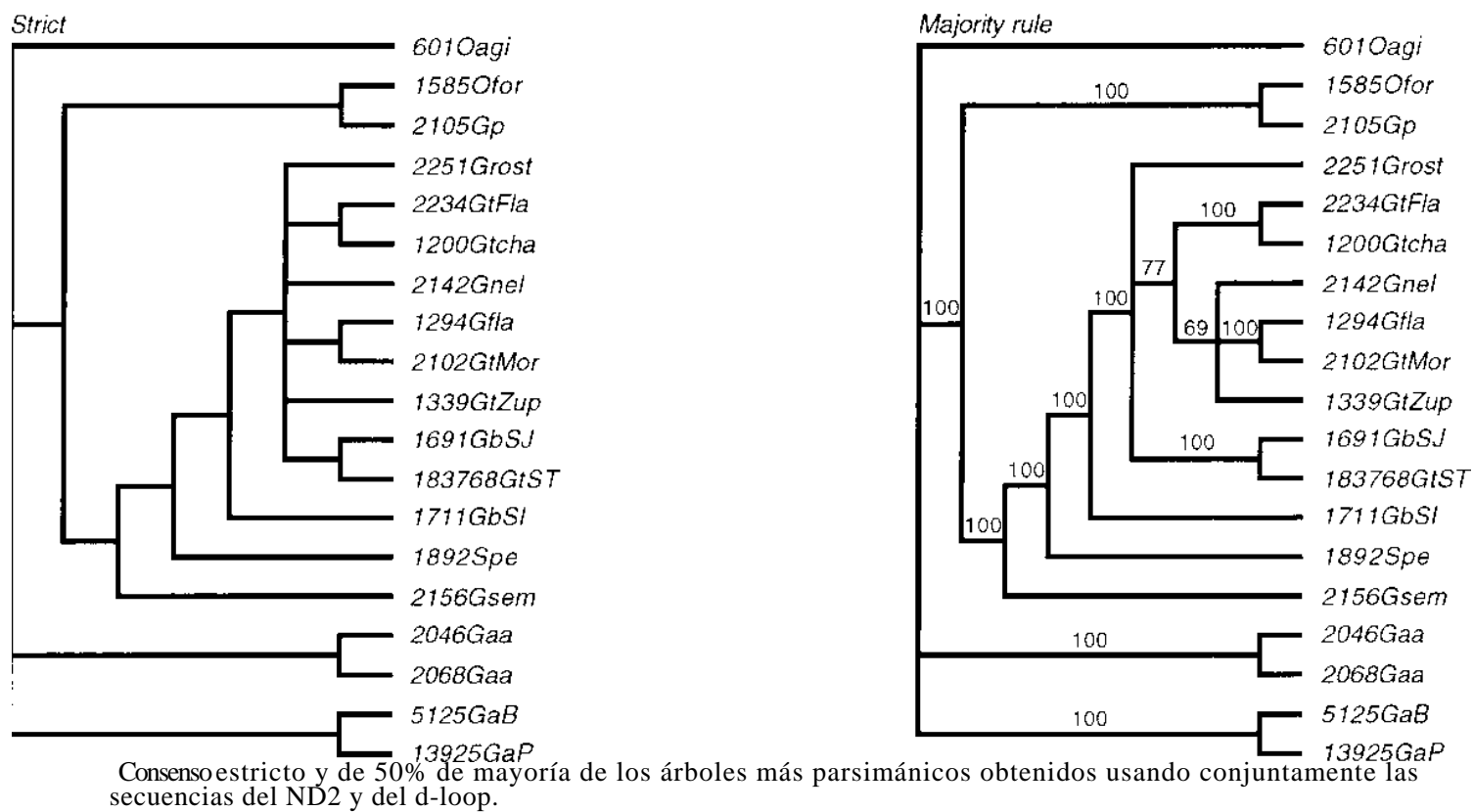


Figura 7.

Apéndice 1. Secuencias obtenidas del ND2 para las especies de *Geothlypis* y *Oporornis*.

Accession Number	Sequence	Taxon
6010agl	ATCACNRCCTACTARMAACAACCAATTACCACTCAAGCAACCAATTGATCATAGCCCTGAA	6010agl
15850for	ATTGCAAGCCCTAATCTTAGGAAACAACCAATTACCACTCAAGCAACCAATTGATCATAGCCCTGAA	15850for
2105gp	ATCACCAAGCCCTACTAGGAAACAACCAATTACCACTCAAGCAACCAATTGATCATAGCCCTGAA	2105gp
2046gaa	ATCACCAAGCCCTCTAGGAAACAACCAATTACCACTCAAGCAACCAATTGATCATAGCCCTGAA	2046gaa
2068gaa	ATCACCAAGCCCTCTAGGAAACAACCAATTACCACTCAAGCAACCAATTGATCATAGCCCTGAA	2068gaa
5125gab	ANCGCCAGCCCTCTAGGAAACAACCAATTACCACTCAAGCAACCAATTGATCATAGCCCTGAA	5125gab
13925gap	ATAGCCAGCCCTCTAGGAAACAACCAATTACCACTCAAGCAACCAATTGATCATAGCCCTGAA	13925gap
2156gsem	ATCACCAAGCCCTACTAGGAAACAACCAATTACCACTCAAGCAACCAATTGATCATAGCCCTGAA	2156gsem
2142gnel	ATCACCAAGCCCTACTAGGAAACAACCAATTACCACTCAAGCAACCAATTGATCATAGCCCTGAA	2142gnel
18925pe	ATCACCAAGCCCTACTAGGAAACAACCAATTACCACTCAAGCAACCAATTGATCATAGCCCTGAA	18925pe
1200gtcha	ATCACCAAGCCCTACTAGGAAACAACCAATTACCACTCAAGCAACCAATTGATCATAGCCCTGAA	1200gtcha
1294gfla	ATCACCAAGCCCTACTAGGAAACAACCAATTACCACTCAAGCAACCAATTGATCATAGCCCTGAA	1294gfla
1339gtzup	ATCACCAAGCCCTACTAGGAAACAACCAATTACCACTCAAGCAACCAATTGATCATAGCCCTGAA	1339gtzup
1711gb5i	ATCACCAAGCCCTACTAGGAAACAACCAATTACCACTCAAGCAACCAATTGATCATAGCCCTGAA	1711gb5i
1691gb5j	ATCACCAAGCCCTACTAGGAAACAACCAATTACCACTCAAGCAACCAATTGATCATAGCCCTGAA	1691gb5j
1837g5t	ATCACCAAGCCCTACTAGGAAACAACCAATTACCACTCAAGCAACCAATTGATCATAGCCCTGAA	1837g5t
2102gtmor	ATCACCAAGCCCTACTAGGAAACAACCAATTACCACTCAAGCAACCAATTGATCATAGCCCTGAA	2102gtmor
2234gfla	ATCACCAAGCCCTACTAGGAAACAACCAATTACCACTCAAGCAACCAATTGATCATAGCCCTGAA	2234gfla
2251gpost	ATCACCAAGCCCTACTAGGAAACAACCAATTACCACTCAAGCAACCAATTGATCATAGCCCTGAA	2251gpost
6010agl	ATCACCAAGCCCTACTAGGAAACAACCAATTACCACTCAAGCAACCAATTGATCATAGCCCTGAA	6010agl
15850for	ATCACCAAGCCCTACTAGGAAACAACCAATTACCACTCAAGCAACCAATTGATCATAGCCCTGAA	15850for
2105gp	ATCACCAAGCCCTACTAGGAAACAACCAATTACCACTCAAGCAACCAATTGATCATAGCCCTGAA	2105gp
2046gaa	ATCACCAAGCCCTACTAGGAAACAACCAATTACCACTCAAGCAACCAATTGATCATAGCCCTGAA	2046gaa
2068gaa	ATCACCAAGCCCTACTAGGAAACAACCAATTACCACTCAAGCAACCAATTGATCATAGCCCTGAA	2068gaa
5125gab	ATCACCAAGCCCTACTAGGAAACAACCAATTACCACTCAAGCAACCAATTGATCATAGCCCTGAA	5125gab
13925gap	ATCACCAAGCCCTACTAGGAAACAACCAATTACCACTCAAGCAACCAATTGATCATAGCCCTGAA	13925gap
2156gsem	ATCACCAAGCCCTACTAGGAAACAACCAATTACCACTCAAGCAACCAATTGATCATAGCCCTGAA	2156gsem
2142gnel	ATCACCAAGCCCTACTAGGAAACAACCAATTACCACTCAAGCAACCAATTGATCATAGCCCTGAA	2142gnel
18925pe	ATCACCAAGCCCTACTAGGAAACAACCAATTACCACTCAAGCAACCAATTGATCATAGCCCTGAA	18925pe
1200gtcha	ATCACCAAGCCCTACTAGGAAACAACCAATTACCACTCAAGCAACCAATTGATCATAGCCCTGAA	1200gtcha
1294gfla	ATCACCAAGCCCTACTAGGAAACAACCAATTACCACTCAAGCAACCAATTGATCATAGCCCTGAA	1294gfla
1339gtzup	ATCACCAAGCCCTACTAGGAAACAACCAATTACCACTCAAGCAACCAATTGATCATAGCCCTGAA	1339gtzup
1711gb5i	ATCACCAAGCCCTACTAGGAAACAACCAATTACCACTCAAGCAACCAATTGATCATAGCCCTGAA	1711gb5i
1691gb5j	ATCACCAAGCCCTACTAGGAAACAACCAATTACCACTCAAGCAACCAATTGATCATAGCCCTGAA	1691gb5j
1837g5t	ATCACCAAGCCCTACTAGGAAACAACCAATTACCACTCAAGCAACCAATTGATCATAGCCCTGAA	1837g5t
2102gtmor	ATCACCAAGCCCTACTAGGAAACAACCAATTACCACTCAAGCAACCAATTGATCATAGCCCTGAA	2102gtmor
2234gfla	ATCACCAAGCCCTACTAGGAAACAACCAATTACCACTCAAGCAACCAATTGATCATAGCCCTGAA	2234gfla
2251gpost	ATCACCAAGCCCTACTAGGAAACAACCAATTACCACTCAAGCAACCAATTGATCATAGCCCTGAA	2251gpost

3333333333333
8888899999999
5678901234567

Taxon

6010agi ??????????????
15850for ??????????????
2105Gp AGAAGTGC?????
2046Gaa AGAAGTGCTCAA
2068Gaa ??????????????
5125GaB ??????????????
13925GaP ??????????????
2156Gsem ??????????????
2142Gnel ??????????????
1892Spe ??????????????
1200Gtcha ??????????????
1294Gfla ??????????????
1339GtZup ??????????????
1711GbSI ??????????????
1691GbSJ C?????????????
1837GtST ??????????????
2102GtMor ??????????????
2234GtFla ??????????????
2251Grost ??????????????

Apéndice 2. Secuencias obtenidas del d-loop para las especies de *Geothlypis* y *Oporornis*.

Taxon	11111111112222222222333333333344444444445555555555666666
Oagilis	GCCTAGATCTATGACCTCACGCCACCCCCCTTCCCCCCCCCAAGTTTTCTTCTTGCTTTA
2068Gaa	??CA?CACGTTTTCTTCTTGCTTTA
2046Gaa	??
13925GaP	??
2156Gsem	??
2142Gn	??
1294Gf	??
2251Gr	??
2234GtFla	??CTAA?TCCGCCTCCTCACGC?ACCCCC??T??T??C??AGCACGTTTTCTTCTTGCTTTA
1339GtZu	??
1200GtCh	??
2102GtMor	??
1868GtST	???AAATCCACCTCCTCA??CWACCCCC????????????CCCCAGCACGTTTTCTTCTTGCTTTA
1691GbSJ	??
1711GbSI	????????TCCGCCTACTCAAGG?ACCCCCCT??TCCCCCCAGCACGTTTTCTTCTTGCTTTA

Taxon	6666677777777788888888889999999999000000000111111111122222222
Oagilis	AGGGTATGTATAGTATGCATTACACTCTTGGCCCATCAGACA JACTATGTAATGTAGGATAAT
2068Gaa	AGGGTATGTATAATATGCATCACACTCTCGCCCATCAGACA JACTATGTAATGTAGGATAAT
2046Gaa	??
13925GaP	??
2156Gsem	??
2142Gn	AGGGAAATGTATAGTATGCATCACACTCTCTGCCCATCAGACAGACTATGTAATGTAGGATAAT
1294Gf	AGGG?ATGTATAGTATGCATCACACTCTCTGCCCATCAGACAGACTATGTAATGTAGGATAAT
2251Gr	AGGGAAATGTATAGTATGCATCACACTCTCTGCCCATCAGACAGACTATGTAATGTAGGATAAT
2234GtFla	AGGGTATGTATAGTATGCATCACACTCTCTGCCCATCAGACAGACTATGTAATGTAGGATAAT
1339GtZu	AGGG?ATGTATAGTATGCATCACACTCTCTGCCCATCAGACAGACTATGTAATGTAGGATAAT
1200GtCh	AGGG?ATGTATAGTATGCATCACACTCTCTGCCCATCAGACAGACTATGTAATGTAGGATAAT
2102GtMor	??
1868GtST	AGGGTATGTATAGTATGCATCACACTCTCTGCCCATCAGACAGACTATGTAATGTAGGATAAT
1691GbSJ	AGGG?ATGTATAGTATGCATCACACTCTCTGCCCATCAGACAGACTATGTAATGTAGGATAAT
1711GbSI	AGGGTATGTATAATATGCATCA??CTCTCTGCCCATCAGACAGACTATGTAATGTAGGATAAT

111
23333333334444444444555555555666666666777777777888888888999
9012345678901234567890123456789012345678901234567890123456789012

Taxon

Oagilis CCAAGCTATATGTAATGCTCGTCCATCATAAACCCAAACATTATCTCCAAAACAGACCTCAATA
2068Gaa CCAAGCTACATGTAATGCTCTCCATCATAAACCCAAACATTATCTCCGAAATGGACCCCAACA
2046Gaa ??CCGAAATGGACCCCAACA
13925GpP ??CCAAAATGGACCCCAACA
2156Gsem ??CCAACCAAAACATTATCTCCGAAATGGACTCCAATT
2142Gn CCAAGCTACATGTAATGCTCTCCATCACC AACCCAAACATTATCTCCAAAACAGACCTCATT
1294Gf CCAAGCTACATGTAATGCTCTCCATCACC AACCCAAACATTATCTCCAAAACAGACCTCATT
2251Gr CCAAGCTACATGTAATGCTCTCCATCACC AACCCAAACATTATCTCCAAAACAGACCTCATT
2234GtFla CCAAGCTACATGTAATGCTCTCCATCACC AACCCAAACATTATCTCCAAAACAGACCTCATT
1339GtZu CCAAGCTACATGTAATGCTCTCCATCACC AACCCAAACATTATCTCCAAAACAGACCTCATT
1200GtCh CCAAGCTTACATGTAATGCTCTCCATCACC AACCCAAACATTATCTCCAAAACAGACCTCATT
2102GtMor ??????????????????????????????????????ACC AA??AAACATTATCTCCAAAACAGACCTCATT
1868GtST CCAAGCTACATGTAATGCTCTCCATCACC AACCCAAACATTATCTCCAAAACAGACCTCAAT
1691GbSJ CCAAGCTACATGTAATGCTCTCCATCACC AACCCAAACATTATCTCCAAAACAGACCTCAAT
1711GbSI CCAAGCTACATGTAATGCTCTCCATCACC AACCCAAACATTATCTCCGAAATGGACTCCAATT

111111122
99999990000000001111111112222222222233333333334444444445555555
3456789012345678901234567890123456789012345678901234567890123456

Taxon

Oagilis CGGCCATTGCACTCCCAGGCACATTCTTGTTCAGGTACCATACAGCCCAAGTGTTCTACCTA
2068Gaa CGGCCATTACACTCCCAGGCACATTCTTGTTCAGGTACCATACAGCCCAAGTGTTCTACCTA
2046Gaa CGGCCATTACACTCCCAGGCACATTCTTGTTCAGGTACCATACAGCCCAAGTGTTCTACCTA
13925GpP CGGCCATTCTCTCCCAGGCACATTCTTGTTCAGGTACCATACAGCCCAAGTGTTCTACCTA
2156Gsem CGGCCATTACACTCCCAGGCACATTCTTGTTCAGGTACCATACAGCCCAAGTGTTCTACCTA
2142Gn CAGACATTGCACTCCCAGGCACATTCTTGTTCAGGTACCATACAGCCCAAGTGTTCTACCTA
1294Gf CAGACATTGCACTCCCAGGCACATTCTTGTTCAGGTACCATACAGCCCAAGTGTTCTACCTA
2251Gr CAGACATTGCACTCCCAGGCACATTCTTGTTCAGGTACCATACAGCCCAAGTGTTCTACCTA
2234GtFla CAGACATTGCACTCCCAGGCACATTCTTGTTCAGGTACCATACAGCCCAAGTGTTCTACCTA
1339GtZu CAGACATTGCACTCCCAGGCACATTCTTGTTCAGGTACCATACAGCCCAAGTGTTCTACCTA
1200GtCh CAGACATTGCACTCCCAGGCACATTCTTGTTCAGGTACCATACAGCCCAAGTGTTCTACCTA
2102GtMor CAGACATTGCACTCCCAGGCACATTCTTGTTCAGGTACCATACAGCCCAAGTGTTCTACCTA
1868GtST CAGGCATTGCACTCCCAGGCACATTCTTGTTCAGGTACCATACAGCCCAAGTGTTCTACCTA
1691GbSJ CAGGCATTGCACTCCCAGGCACATTCTTGTTCAGGTACCATACAGCCCAAGTGTTCTACCTA
1711GbSI CGGCCATTACACTCCCAGGCACATTCTTGTTCAGGTACCATACAGCCCAAGTGTTCTACCTA

