

Tesis Doctoral

Especiación en passeriformes neotropicales de ambientes abiertos

Campagna, Leonardo

2012

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Campagna, Leonardo. (2012). Especiación en passeriformes neotropicales de ambientes abiertos. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Cita tipo Chicago:

Campagna, Leonardo. "Especiación en passeriformes neotropicales de ambientes abiertos". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2012.

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Especiación en passeriformes Neotropicales de ambientes abiertos

Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires en el área de
Ciencias Biológicas

Leonardo Campagna

Director de tesis: Dr. Pablo Luis Tubaro
Director Asistente: Dr. Stephen Charles Loughheed
Consejero de Estudios: Dr. Juan Carlos Reboreda

Lugar de Trabajo: Museo Argentino de Ciencias Naturales “Bernardino Rivadavia”

Buenos Aires, Febrero de 2012

Especiación en passeriformes Neotropicales de ambientes abiertos

RESUMEN

El Neotrópico es la región con mayor diversidad de aves a nivel mundial. Este trabajo estudia el proceso de especiación, focalizándose en grupos de passeriformes de ambientes abiertos, con el objetivo de comprender los procesos que generaron esta gran diversidad de aves. Se utilizaron herramientas moleculares y una perspectiva filogenética/filogeográfica, en conjunto con el análisis de sonogramas derivados de vocalizaciones, para estudiar la radiación de los capuchinos del sur (*Sporophila*) en los pastizales de Sudamérica, la diversificación del género *Phrygilus* en los ambientes abiertos de la cordillera de los Andes y la existencia de linajes endémicos de passeriformes en las islas Malvinas. Se encontró una marcada variación fenotípica pero pocas diferencias genéticas neutras entre especies de capuchinos del sur, resultado consistente con una radiación reciente que comenzó en el Pleistoceno. Los resultados indican que *Phrygilus* es polifilético, comprendido por cuatro clados distantemente relacionados, que se diversificaron en la altura de los Andes pero también asociados a cambios en los rangos altitudinales, durante el Pleistoceno. Por último, los patrones genéticos sugieren que las islas Malvinas fueron colonizadas a diferentes tiempos por las especies de passeriformes que las habitan. Finalmente, se discuten estos resultados en el contexto de la literatura existente al respecto de la especiación en aves, particularmente con respecto al papel de la selección natural, la deriva genética, el flujo génico, la predominancia de la alopatría y la función de la especialización ecológica en el proceso de especiación.

PALABRAS CLAVE: capuchinos del sur; cordillera de los Andes; divergencia fenotípica; ecología molecular; endemismos de islas; hibridación; islas Malvinas; *Phrygilus*; polifilia; radiación reciente; *Sporophila*.

Speciation in open habitat Neotropical passerines

ABSTRACT

The Neotropics hold the largest avian diversity in the world. This thesis studies the process of speciation, focusing on groups of open habitat passerines, with the objective of understanding what factors have contributed to generating the vast avian diversity of the region. A combination of molecular tools and a phylogenetic/phylogeographic approach, together with the analysis of sonograms derived from vocalizations, was used to study the radiation of the southern capuchinos (*Sporophila*) in the grasslands of South America, the diversification of the genus *Phrygilus* in open habitats of the Andes Mountains and the existence of endemic passerine lineages in the Malvinas islands. The southern capuchinos show marked phenotypic variation despite few neutral genetic differences, a result that is consistent with a recent radiation that started in the Pleistocene. The genus *Phrygilus* proved to be polyphyletic, composed of four distantly related clades that have diversified in the Andean highlands but also associated with changes in altitudinal ranges, during the Pleistocene. The observed genetic patterns suggest that the Malvinas islands were colonized at different periods in time by the passerine species that inhabit them. Finally, these findings are discussed within the context of the existing literature on speciation in birds, focusing on the relevance of these results with respect to the roles of selection, genetic drift, gene flow, the prevalence of allopatry and the function of ecological specialization in the process of speciation.

PALABRAS CLAVE: Andes Mountains; hybridization; island endemisms; Malvinas islands; molecular ecology; phenotypic divergence; *Phrygilus*; polyphyly; recent radiation; southern capuchinos; *Sporophila*.

AGRADECIMIENTOS

A mi director PL Tubaro, por su excelente trabajo guiándome durante el transcurso de mis años de doctorado; a mi director asistente SC Lougheed, por su aporte imprescindible; y a mi consejero de estudios Juan Carlos Reboreda, por su ayuda en las etapas tempranas de este proyecto.

A los coautores de las publicaciones científicas que surgieron de esta tesis doctoral: AS Barreira, P Benites, AS Di Giacomo, MD Eaton, K Geale, P Handford, PDN Hebert, S Imberti, KCR Kerr, DA Lijtmaer, SC Lougheed, JJH St Clair, PL Tubaro y RW Woods; cuyo aporte intelectual contribuyó al desarrollo de este trabajo.

A la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires (FCEyN, UBA) por proveer el contexto académico para el desarrollo de este trabajo, y a la División de Ornitología del Museo Argentino de Ciencias Naturales “Bernardino Rivadavia” (MACN) por brindar el espacio de trabajo y el acceso a la Colección Nacional de Ornitología, la Colección de Tejidos y la Colección Nacional de Sonidos Naturales. Además, a todos aquellos que durante el transcurso de más de un siglo han contribuido a la colección y curación de material para dichas colecciones.

A la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT) y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por brindarme el sustento económico durante el desarrollo de mi doctorado. Además, este trabajo fue financiado por los subsidios: PICT 2004-16-25171 y 2010-0805 (ANPCyT), PIP 112-200801-00741 (CONICET), UBACyT 2010-2012 01/1240, IDRC/University of Guelph “Engaging Developing Nations in the International Barcode of Life Project (iBOL)” y de la Fundación Richard Lounsbery otorgados a P Tubaro; de la Natural Sciences and Engineering Council of Canada (NSERC) otorgado a SC Lougheed y P Handford; de Genome Canada a través del Ontario Genomics Institute otorgado a PDN Hebert; y el subsidio PIP 114-200901-00385 (CONICET) otorgado a DA Lijtmaer.

A los curadores y el personal de los museos y bibliotecas de sonidos que contribuyeron con préstamos de material: AT Peterson y MB Robbins (University of Kansas Museum of Natural History); RT Brumfield y DL Dittmann (Louisiana State University Museum of Zoology); K Cook y M Adams (The Natural History Museum); CS Fontana, M Repenning y CE Rovedder (Coleção de Aves do Museu de Ciências e Tecnologia da Pontifícia Universidad Católica do Rio Grande do Sul); J Fjeldså y JB Kristensen (Zoological Museum University of Copenhagen); E Bermingham, O Sanjur y M Miller (Smithsonian Tropical Research Institute); MJ Braun y J Dean (Smithsonian National Museum of Natural History); T Webber (Florida Museum of Natural History); T Bishop (Macaulay Library, Cornell Lab of Ornithology).

A las autoridades Nacionales de Fauna de Argentina y Bolivia; la Administración de Parques Nacionales de Argentina; las autoridades de Fauna de las provincias de Buenos Aires, Catamarca, Chaco, Corrientes, Jujuy, Misiones, Neuquén, Río Negro, Santiago del Estero y Tucumán; la gente de la reserva El Bagual (en especial a AG Di Giacomo); y a Conservation Land Trust y la gente de la estancia El Socorro, por autorizar y facilitar el trabajo de campo donde se obtuvieron muestras para este estudio.

A mis compañeros del laboratorio de PL Tubaro: R Arrieta, AS Barreira, P Benites, GS Cabanne, L Calderón, Y Davies, N García, S Grune, C Kopuchian, P Lavinia y DA Lijtmaer; del laboratorio de SC Lougheed: B Acker, A Chabot, M DiLeo, M Dyck, S Klaus, J Row, K Stewart, Z Sun y A Xureb; y mis colegas C Facchinetti, J Morris-Pocock y S Taylor, por todo su apoyo durante los años de mi doctorado.

A mi familia y amigos, en especial a mi viejo por inspirarme a seguir el camino de la ciencia. A la familia Razavi por su ayuda durante mis estadías en Canadá y a Roxanna, cuyo apoyo emocional ha sido una contribución clave para este trabajo.

ÍNDICE

Título y resumen en castellano.....	I
Título y resumen en inglés.....	II
Agradecimientos.....	III
Índice.....	V
Capítulo I. Introducción General.....	1
1.1 Contexto general del trabajo.....	1
1.2 Definición de especie utilizada.....	3
1.3 Contexto y objetivo general de cada capítulo.....	4
1.2.1 Capítulo II.....	4
1.2.2 Capítulo III.....	5
1.2.3 Capítulo IV.....	7
Capítulo II. La radiación reciente de los capuchinos del sur.....	9
2.1 Resumen.....	9
2.2 Introducción.....	10
2.3 Métodos.....	14
2.3.1 <i>Análisis de las vocalizaciones de los capuchinos</i>	14
2.3.2 Muestreo para análisis genéticos.....	16
2.3.3 Extracción de ADN, amplificación de marcadores moleculares y secuenciación o genotipificación.....	18
2.3.4 Análisis basados en códigos de barras genéticos (secuencias de COI).....	21
2.3.5 Análisis basados en marcadores de ADN mitocondrial.....	23
2.3.6 Análisis basados en la frecuencia de alelos de ADN microsatélite.....	26
2.3.7 Análisis basados en marcadores nucleares.....	27
2.3.8 Análisis combinando diferentes marcadores moleculares.....	28
2.3.9 Búsqueda de genes implicados en la diversificación de los capuchinos.....	32
2.4 Resultados.....	34
2.4.1 Variación en las vocalizaciones de los capuchinos.....	34
2.4.2 Variación en los códigos de barras genéticos entre especies de capuchinos del sur y comparación con otras especies Neotropicales.....	39
2.4.3 Baja diferenciación genética entre capuchinos del sur.....	44
2.4.4 Historia demográfica del clado de los capuchinos del sur.....	49
2.4.5 Análisis de secuencias de MC1R, SLC45A2 y MELK en capuchinos del sur...	51
2.5 Discusión.....	54
2.5.1 ¿Los capuchinos del sur son especies incipientes?.....	55
2.5.2 Posibles condiciones que favorecieron la radiación del grupo.....	56
Capítulo III. Filogenia molecular del género <i>Phrygilus</i>: polifilia extrema en un grupo de especialistas andinos.....	59

3.1 Resumen.....	59
3.2 Introducción.....	60
3.3 Métodos.....	63
3.3.1 Muestreo para análisis genéticos.....	63
3.3.2 Extracción de ADN, amplificación de marcadores moleculares y secuenciación.....	65
3.3.3 Variabilidad genética y análisis filogenéticos.....	66
3.3.4 Tiempos de diversificación.....	68
3.3.5 Reconstrucción de rangos altitudinales ancestrales.....	69
3.3.6 Filogeografía de <i>Phrygilus fruticeti</i>	70
3.4 Resultados.....	71
3.4.1 <i>Phrygilus</i> es un género polifilético.....	71
3.4.2 Afinidades dentro de cada grupo de plumaje: tiempos de diversificación y reconstrucción de rangos altitudinales ancestrales.....	76
3.4.3 Monofilia a nivel de especie y divergencia intraespecífica.....	78
3.4.4 Estructura filogeográfica de <i>Phrygilus fruticeti</i>	79
3.5 Discusión.....	81
3.5.1 Polifilia de <i>Phrygilus</i>	82
3.5.2 Diversificación de grupos de plumaje: implicancias biogeográficas.....	83
3.5.3 Monofilia a nivel de especie y divergencia intraespecífica.....	86
Capítulo IV. Divergencia entre passeriformes de las islas Malvinas y sus respectivas poblaciones continentales: un estudio filogeográfico comparativo.....	89
4.1 Resumen.....	89
4.2 Introducción.....	90
4.3 Métodos.....	93
4.3.1 Muestreo para análisis genéticos.....	93
4.3.2 Extracción de ADN, amplificación de marcadores moleculares y secuenciación.....	95
4.3.3 Análisis genéticos.....	96
4.3.4 <i>Análisis de las vocalizaciones de Troglodytes aedon y Troglodytes cobbi</i>	99
4.4 Resultados.....	100
4.4.1 Divergencia genética entre poblaciones insulares y continentales.....	100
4.4.2 Estructura filogeográfica dentro de poblaciones continentales de <i>Troglodytes aedon</i> y <i>Cistothorus platensis</i>	106
4.4.3 Diferencias en el canto de <i>Troglodytes aedon</i> y <i>Troglodytes cobbi</i>	108
4.5 Discusión.....	110
4.5.1 Aislamiento de las poblaciones de passeriformes en las islas Malvinas.....	110
4.5.2 Implicancias para la taxonomía y especiación de <i>Cistothorus platensis</i> y <i>Troglodytes aedon</i>	113
Capítulo V: Discusión general.....	117
5.1 Limitaciones del modelo de estudio elegido.....	117
5.2 Aportes al estudio de la especiación en Aves.....	119

5.3 Perspectivas futuras.....	123
Bibliografía.....	125
Apéndices.....	136
Apéndice 1.1 del Capítulo II.....	136
Apéndice 1.2 del Capítulo II.....	141
Apéndice 2.1 del Capítulo III.....	150
Apéndice 2.2 del Capítulo III.....	152
Apéndice 2.3 del Capítulo III.....	156
Apéndice 3.1 del Capítulo IV.....	160
Apéndice 3.2 del Capítulo IV.....	168
Apéndice 3.3 del Capítulo IV.....	170

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1 CONTEXTO GENERAL DEL TRABAJO

El objetivo general de esta tesis doctoral es estudiar los mecanismos involucrados en el proceso de especiación y la generación de biodiversidad, utilizando como modelo a los passeriformes Neotropicales de ambientes abiertos. Nuestra comprensión del proceso de especiación está basada en el estudio detallado de una variedad de organismos, a partir del cual se intenta inferir generalidades de este proceso. Tradicionalmente, el estudio de los factores ecológicos (incluyendo los comportamentales) y aquellos genéticos que rigen el proceso de especiación ha estado desacoplado (Price 2007). Esto se debe a que las herramientas genéticas que existen para aquellas especies modelo en estudios ecológicos o evolutivos son relativamente limitadas (ej. los Pinzones de Darwin o los cíclidos de los grandes lagos Africanos), y se sabe muy poco al respecto de la ecología de las poblaciones naturales de los modelos genéticos clásicos para los cuales ya existen complejas herramientas moleculares (ej. *Arabidopsis thaliana*, *Caenorhabditis elegans* o *Drosophila melanogaster*) (Coyne y Orr 2004, Diethard et al. 2010). La elección de los passeriformes Neotropicales de ambientes abiertos como grupo de estudio para esta tesis es ventajosa desde varios puntos de vista. Las aves son uno de los grupos donde la taxonomía ha sido mejor estudiada; y debido a que es fácil observarlas en el campo, se sabe mucho al respecto de su ecología, biogeografía y comportamiento (especialmente con respecto a los factores que influyen en la elección de pareja que es crucial para la especiación). Además, en los últimos años se han desarrollado herramientas moleculares para amplificar una variedad de

marcadores genéticos en aves (marcadores mitocondriales, nucleares autosómicos y ligados a cromosomas sexuales, y loci de ADN microsatélite). Por lo tanto, el grupo Aves (y en particular los passeriformes) es donde quizás mejor se logre integrar aspectos ecológicos, biogeográficos, comportamentales y genéticos en el estudio de la especiación (Price 2007). Además, la región Neotropical contiene aproximadamente un tercio de las 10000 especies existentes de aves, por lo que comprender qué factores impulsaron la diversificación de las aves Sudamericanas es particularmente relevante para esta temática (Price 2007). Los passeriformes Neotropicales también presentan la ventaja de haber colonizado virtualmente todos los ambientes, diversificándose ecológicamente para explotar una variedad de nichos (Ridgely y Tudor 1989, 1994). Finalmente, los ambientes abiertos han dominado el continente Sudamericano durante el último máximo glacial (≈ 27000 años) (Clapperton 1993) y aún representan aproximadamente un 30% de la superficie no modificada por la actividad humana en el continente Sudamericano (Eva et al. 2004), proporcionando una gran diversidad de ambientes (caatinga, cerrado, pastizales, puna, sabana, etc.) y especies para estudiar. Varios de estos ambientes (particularmente los pastizales) están siendo degradados rápidamente y junto con ellos la posibilidad de comprender la evolución de las especies que los habitan.

Para el desarrollo de esta tesis doctoral se realizaron tres estudios de caso utilizando especies de passeriformes Neotropicales de ambientes abiertos. Estos casos se describen a continuación e involucran: una radiación reciente en los pastizales de Sudamérica (capítulo II), la diversificación de un género a lo largo de los ambientes abiertos de la cordillera de los Andes (capítulo III) y un ejemplo de especiación asociado a un grupo de islas (capítulo IV).

1.2 DEFINICIÓN DE ESPECIE UTILIZADA

No existe un concepto de especie que sea aplicable a todo tipo de organismo (Coyne y Orr 2004). En aves las dos definiciones más comúnmente utilizadas son el Concepto Biológico de Especie (CBE, Mayr 1982) y el Concepto Filogenético de Especie (CFE, ver por ejemplo Cracraft 1983), o alguna variante de estos. El primero tiene la desventaja de no poderse poner a prueba para especies alopátricas (Price 2007), además de que aproximadamente un 10% de las especies de aves forman híbridos (Grant y Grant 1992). En cambio el segundo requiere observar monofilia recíproca entre dos especies, lo que dependerá del tipo de gen que se utilice para evaluarla (nuclear o mitocondrial) y de una combinación entre el tamaño poblacional y el tiempo transcurrido desde el evento de divergencia (Price 2007). De Queiroz (1998) considera que todas las definiciones coinciden en que una especie es “un linaje que mantiene su integridad con respecto a otros linajes, tanto en el tiempo como en el espacio”, y disocia el problema de la definición del concepto de especie del de la delimitación de las mismas (de Queiroz 2007). En esta tesis se utilizan diferentes estrategias para delimitar linajes, dependiendo del tipo de datos analizados, y éstas se corresponden mejor con uno u otro concepto de especie. Se utilizan secuencias de ADN para delimitar linajes recíprocamente monofiléticos, una estrategia que cuadra dentro del marco del CFE (de Queiroz 2007). En este caso se evalúan en su conjunto varios marcadores genéticos, con diferente forma de herencia, tamaños efectivos, mecanismos mutacionales y tasas de divergencia (ej. ADN microsatélite vs. secuencias mitocondriales o nucleares). En algunos casos también se intenta comprender el grado de divergencia en los sistemas de reconocimiento de pareja para obtener indicios del nivel de aislamiento reproductivo entre grupos, una estrategia de delimitar linajes que se enmarca dentro del CBE (de Queiroz

2007). Para ello se evalúan las diferencias en el plumaje y en las vocalizaciones, dos aspectos que son centrales para el sistema de reconocimiento de pareja en aves (Price 2007). Finalmente, una evaluación de la respuesta comportamental a estímulos homo y heteroespecíficos durante experimentos de playback ayudará a comprender mejor el grado de aislamiento reproductivo que dos linajes han alcanzado.

1.3 CONTEXTO Y OBJETIVO GENERAL DE CADA CAPÍTULO

1.2.1 Capítulo II: La radiación reciente de los capuchinos del sur

Las radiaciones adaptativas de aves han contribuido sustancialmente a nuestra comprensión del proceso de especiación. Las innovaciones morfológicas bajo ciertas condiciones ecológicas han impulsado radiaciones como la de los Mieleros Hawaianos de la subfamilia Drepanidinae (ver por ejemplo Lovette et al. 2002), mientras que es posible que la selección sexual haya contribuido a formar grandes grupos de especies como las reinitas del género *Dendroica* (ver por ejemplo Lovette y Bermingham 1999). Estos casos, junto con otros muchos ejemplos renombrados (como el de los mosquiteros del género *Phylloscopus*, Price et al. 2000 o los pinchaflores del género *Diglossa*, Mauck y Burns 2009), representan radiaciones que han acumulado especies a lo largo de millones de años. Comparativamente, se conocen pocos casos de grupos monofiléticos de aves que se hayan originado en un periodo corto de tiempo; posiblemente los casos más notables incluyan a los Pinzones de Darwin (Grant 1999), los piquituertos de Norteamérica (Benkman 2003), las viudas Africanas (Sorenson et al. 2003), y los carduelinos Neotropicales (Arnaiz-Villena et al.1998). Estos ejemplos, junto con otras

radiaciones recientes en vertebrados, como la de los cíclidos de los grandes lagos Africanos (ver por ejemplo Meyer 1993), no se ajustan del todo al Concepto Biológico de Especie. Por lo tanto, proveen un punto de vista clave para entender cómo los mecanismos de aislamiento reproductivo permeables contribuyen a la generación de diversidad (Grant y Grant 1992, Dowling y Demarais 1993, Dowling y Secor 1997, Seehausen 2004). Claramente, ejemplos adicionales de radiaciones recientes en contextos históricos y ecológicos diferentes brindarán una mejor comprensión de los mecanismos que rigen la diversificación y la especiación. El objetivo general del capítulo II es comprender los límites de aquellas especies que surgieron durante la radiación reciente de los capuchinos del sur (género *Sporophila*) y resume resultados recientemente publicados (Campagna et al. 2010, 2011a).

1.2.2 Capítulo III: Filogenia molecular del género *Phrygilus*: polifilia extrema en un grupo de especialistas Andinos

La cordillera de los Andes es considerada un factor clave en el origen de la enorme biodiversidad de aves del Neotrópico (ver por ejemplo Fjeldså y Krabbe 1990, Roy et al. 1997), e incluye una variedad de ambientes abiertos (ej. estepa, pastizales, puna, etc.). Los procesos que afectan la especiación no son del todo claros y varios patrones alternativos han sido descritos. La especiación puede haber sido promovida por cambios en los rangos altitudinales de las especies: algunas especies Andinas pueden haberse originado a partir de especies de las tierras bajas a través de la colonización de áreas que surgieron a raíz de la orogénesis de los Andes (Bates y Zink 1994, Weir 2006, McGuire et al. 2007, Sedano y Burns 2010), y otras especies pueden haberse originado a través de eventos de dispersión desde ambientes de altura en los

Andes hacia zonas de menor elevación (Fjeldså y Rahbek 2006, Brumfield y Edwards 2007, Sedano y Burns 2010). Brumfield y Edwards (2007) encontraron evidencia de esta segunda opción en el género *Thamnophilus*, donde se observó un mayor número de transiciones desde ambientes de altura a zonas de menor elevación que en la dirección opuesta. Sin embargo, Sedano y Burns (2010) encontraron que la mayoría de los eventos de especiación habían tenido lugar dentro de los ambientes de altura o en los de menor elevación durante la evolución de los fruteros (*Thraupini*), siendo las transiciones entre rangos altitudinales relativamente poco comunes. McGuire et al. (2007) encontró que la diversificación de los picaflorés Andinos ocurrió dentro de los ambientes de altura o de aquellos de menor elevación, pero también identificó episodios de dispersión desde y hacia los Andes que estaban asociados a eventos de especiación. La especiación alopátrica dentro de los Andes puede haber ocurrido cuando poblaciones se aislaron físicamente o ecológicamente durante periodos de orogénesis de los Andes en el Mioceno, o recientemente durante los ciclos de glaciación del Pleistoceno (Haffer 1969, Fjeldså 1994, Cheviron et al. 2005, Weir 2006, Guarnizo et al. 2009). Estudios recientes de especies Andinas identificaron la importancia de estos procesos durante la diversificación de grupos de aves, incluyendo varios representantes de ambientes abiertos (ej. *Chesser* 2000, *Muscisaxicola*; Loughheed et al. 2000, *Pospiza*; *García-Moreno* 2001, *Hemispingus*; Burns y Naoki 2004, *Tangara*; Cheviron et al. 2005, *Geositta*; McGuire et al. 2007, *Trochilidae*; Pérez-Emán 2005, *Myioborus*; Brumfield y Edwards 2007, *Thamnophilus*; Mauck y Burns 2009, *Diglossa*). También ha sido sugerido que los factores implicados en la diferenciación entre especies pueden haber moldeado los patrones filogeográficos dentro de algunas especies Andinas (*Cadena et al.* 2007, *Buarremon brunneinucha* y *B. torquatus*; *Miller et al.* 2007, *Myadestes ralloides*; *Puebla-Olivares et al.* 2008, *Aulacorhynchus prasinus*; *Weir et al.* 2008,

Chlorospingus ophthalmicus). Finalmente, la orogénesis de esta cadena montañosa puede haber creado gradientes ecológicos verticales que promovieron la especiación parapátrica (Endler 1977), sin embargo todavía no se ha encontrado un ejemplo claro de esto en aves Andinas. La dificultad para discernir la importancia relativa de cada uno de estos escenarios surge a raíz de que no son mutuamente excluyentes y su influencia sobre la especiación puede haber variado de acuerdo a la especie, la región o el periodo en el tiempo (Sedano y Burns 2010). Estudios filogenéticos y filogeográficos adicionales sobre varias especies Andinas ayudarán a entender qué mecanismos de especiación han dado lugar a la alta diversidad de aves de la región. En particular, trabajos sobre grupos de especies que habiten tanto los ambientes de altura como las tierras bajas podrían proveer una “foto instantánea” del papel evolutivo que tuvieron los Andes en la diversificación de aquellos grupos de especies (Brumfield y Edwards 2007). El objetivo general del capítulo III es comprender la relación entre los Andes y la diversificación del género *Phrygilus* (resultados publicados en Campagna et al. 2011b). Dicho género es rico en especies de ambientes abiertos con distribuciones amplias, proporcionando un grupo de estudio ideal debido a que es uno de los únicos géneros de passeriformes predominantemente Andinos.

1.2.3 Capítulo IV: Divergencia entre passeriformes de las islas Malvinas y sus respectivas poblaciones continentales: un estudio filogeográfico comparativo

La avifauna de islas alrededor del mundo ha inspirado el desarrollo de varias ideas claves en la biología evolutiva. La diversidad de Calandrias en las islas Galápagos fue crucial para la concepción del concepto de especiación por selección natural (Darwin 1839), las aves de las islas Salomón ayudaron a formar la visión de Mayr sobre la especiación alopátrica (Mayr 1940), y

ejemplos de diversificación in situ como los Pinzones de Darwin o los Mieleros Hawaianos (drepanidine) ayudaron a concebir los conceptos de radiaciones adaptativas y especiación ecológica (ver por ejemplo Grant 1998, 1999; Schluter 2000, Lovette et al. 2002, Price 2007). La colonización de islas a partir de eventos de dispersión poco frecuentes da lugar al rápido aislamiento reproductivo de pequeños grupos de individuos, a partir del cual la deriva genética puede jugar un papel importante durante la divergencia en alopatría si los tamaños poblacionales continúan siendo pequeños (ver por ejemplo Vincek et al. 1997, Sato et al. 2001, Mathys y Lockwood 2011). Es posible también que las presiones de selección en las islas y el continente no sean las mismas; difiriendo en clima, riqueza de especies y densidades poblacionales, riesgos de predación, costos de dispersión, disponibilidad de nichos vacantes y otras variables ecológicas (MacArthur y Wilson 1967). Teniendo en cuenta la existencia de estos procesos evolutivos, no es sorprendente que una parte significativa de la avifauna global haya evolucionado asociada a la insularidad, con aproximadamente un 17% de todas las especies de aves confinadas a archipiélagos (Johnson y Stattersfield 1990). Por lo tanto, la avifauna de islas provee un sistema de estudio clave para la diversificación y especiación. El objetivo general del capítulo IV es investigar si las Islas Malvinas albergan linajes endémicos de passeriformes, estudiando su relación con las poblaciones continentales (resultados publicados en Campagna et al. 2012).

CAPÍTULO II

LA RADIACIÓN RECIENTE DE LOS CAPUCHINOS DEL SUR

2.1 RESUMEN

Las radiaciones adaptativas han generado gran parte del conocimiento existente del proceso de especiación en animales, particularmente a través de ejemplos clásicos como los Pinzones de Darwin, las moscas de la fruta Hawaianas o los cíclidos de los grandes lagos Africanos. Estas radiaciones ocurridas en “islas” son comparativamente recientes, haciéndolas particularmente interesantes porque los mecanismos causantes de la diversificación continúan operando. En este capítulo identificamos un nuevo caso de una radiación reciente en aves dentro de un grupo de especies continentales; los capuchinos comprenden 11 especies de *Sporophila* que fueron descritas originalmente en base a diferencias en el color y patrón del plumaje en machos adultos. Utilizamos datos moleculares combinados con el análisis del plumaje y las vocalizaciones de los machos para comprender los límites entre las especies del grupo. Encontramos una marcada variación fenotípica a pesar de la falta de monofilia en el ADN mitocondrial y pocas diferencias en otros genes neutros. Estos resultados son consistentes con una radiación reciente en el grupo, comenzando en el Pleistoceno y dejando la huella genética de retención de polimorfismos ancestrales, hibridación e introgresión y expansiones demográficas. Este aparente desacople entre homogeneidad en el ADN neutro y alta diversidad fenotípica es esperable para un grupo reciente, en el contexto de la teoría de la coalescencia. Finalmente,

discutimos cómo la ecología de los ambientes abiertos en América del Sur durante el Pleistoceno pudo haber ayudado a promover esta radiación espectacular pero incompleta.

2.2 INTRODUCCIÓN

El género *Sporophila* incluye especies granívoras de ambientes abiertos y semiabiertos distribuidas desde el sur de los Estados Unidos hasta el sur de Sudamérica (Meyer de Schauensee 1952). Las especies de *Sporophila* se caracterizan por su tamaño pequeño (10-12 centímetros), pico robusto, y un marcado dimorfismo sexual (Ridgely y Tudor 1989). La taxonomía del género es extremadamente compleja, con ciertas formas consideradas especies, subespecies o variedades geográficas dependiendo del autor. En consecuencia, el número de especies que se incluyen en el género varía entre 28 y 32 (Hellmayr 1938, Meyer de Schauensee 1952, Ridgely y Tudor 1989, Sibley y Monroe 1990, Howard y Moore 1991, Areta 2008, Machado y Silveira 2011).

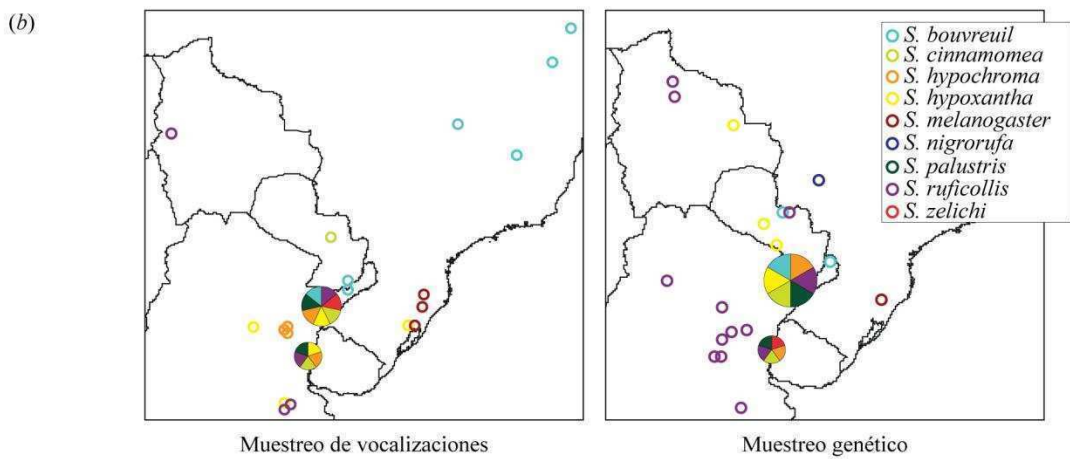
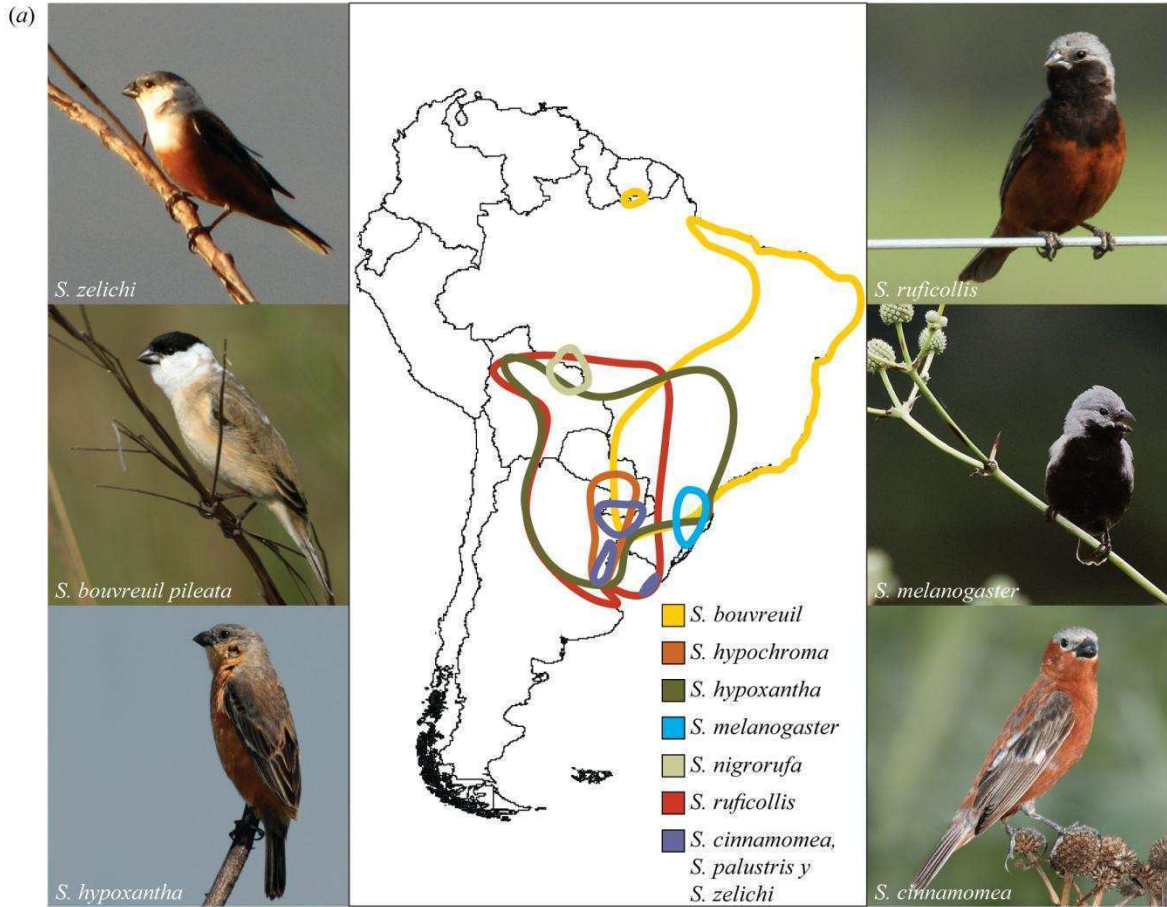
En este capítulo se identifica un nuevo caso de una radiación continental de aves dentro del género *Sporophila*. Los capuchinos comprenden un grupo de 11 especies que son más pequeñas que los demás miembros del género (≈ 8 cm) y están caracterizadas por un plumaje reproductivo predominantemente canela en los machos (Ridgely y Tudor 1989). Los capuchinos son sexualmente dimórficos, con plumajes divergentes en los machos mientras que las hembras son principalmente marrones u olivas sin diferencias notables entre especies (Campagna et al. 2011a, ver Benites et al. 2010 para un análisis de las diferencias de coloración crípticas que existen entre hembras de capuchinos). Las especies de capuchinos son diagnosticadas principalmente a través del plumaje nupcial de los machos (Campagna et al. 2011a), dado que prácticamente no difieren en su morfología (tamaño y forma) (Meyer de Schauensee 1952, Ouellet 1992). Las

especies de capuchinos son altamente simpátricas (o incluso sintópicas) con muchas otras especies del grupo (Ridgely y Tudor 1989, Ouellet 1992). Varias de estas especies son raras, con rangos geográficos pequeños y poblaciones en disminución debido a la pérdida de hábitat y la caza furtiva para el mercado de fauna silvestre (BirdLife International 2011). La mayor parte de los capuchinos son migratorios, sin embargo se sabe muy poco al respecto de dónde pasan el invierno. Es común verlos alimentándose en bandadas mixtas fuera de la temporada reproductiva, desplegando un comportamiento de forrajeo similar y en algunos casos con plumaje eclipse (Ridgely y Tudor 1989, Silva 1999). Análisis filogenéticos utilizando secuencias de ADN mitocondrial sugieren que los capuchinos son monofiléticos y que dos de las 11 especies (*S. minuta* y *S. castaneiventris*) pueden diferenciarse de los demás miembros del clado (Lijtmaer et al. 2004, Campagna et al. 2010, Campagna et al. 2011a). Sin embargo, las nueve especies restantes (*S. bouvreuil*, *S. cinnamomea*, *S. hypochroma*, *S. hypoxantha*, *S. melanogaster*, *S. nigrorufa*, *S. palustris*, *S. ruficollis* y *S. zelichi*) muestran niveles extremadamente bajos de divergencia interespecífica y aparente falta de monofilia recíproca. Estas especies ocurren predominantemente al sur del Río Amazonas y serán referidas de aquí en más como los capuchinos del sur (ver ilustraciones representativas y mapas de distribución en la Figura 2.1).

Funk y Omland (2003) y recientemente McKay y Zink (2010) examinaron las causas más comúnmente citadas para animales de falta de monofilia recíproca en loci mitocondriales, identificando las fallas en la taxonomía como la explicación más frecuente. Dicho problema podría ser incluso más común en grupos como los invertebrados que han recibido comparativamente menos atención. Otras causas comunes son la resolución filogenética inadecuada (causada por datos insuficientes o de baja calidad), la retención de polimorfismos ancestrales, y la hibridación con introgresión. En este capítulo utilizamos este marco conceptual

para entender los procesos responsables del patrón genético mitocondrial observado en los capuchinos del sur (Lijtmaer et al. 2004, Campagna et al. 2010, 2011a), aumentando los análisis genéticos previos para incluir regiones mitocondriales adicionales, secuencias nucleares y marcadores de ADN microsatélite. Los análisis incluyeron una cuantificación objetiva de las vocalizaciones de los machos, un componente central de los sistemas de reconocimiento de pareja en aves (Price 2007). Finalmente, se analizaron algunos genes nucleares candidatos a estar implicados en la diferenciación entre especies de capuchinos del sur. Encontramos diferencias marcadas en el canto de los machos de capuchinos del sur, que sumadas a las que existen en sus patrones de coloración (ver Campagna et al. 2011a para una cuantificación objetiva de las mismas), sugieren que su designación como especies no es un artefacto taxonómico. Este resultado contrasta con la falta de diferenciación genética entre dichas especies. En su conjunto, los datos genéticos implican que los capuchinos del sur comenzaron a radiar en el Pleistoceno pero que el proceso está incompleto. Observamos huellas genéticas de expansiones demográficas a partir de poblaciones ancestrales pequeñas, evidencia de retención de polimorfismos ancestrales y flujo génico entre especies.

Figura 2.1: (a) Distribuciones reproductivas aproximadas para las nueve especies de capuchinos del sur (de acuerdo a Ridgely y Tudor 1989 y BirdLife International 2011) y ejemplos de plumajes de machos adultos para seis especies. Las distribuciones de *S. cinnamomea*, *S. palustris* y *S. zelichi* se consideraron iguales para simplificar el mapa. Fotografías de Roberto Güller (*S. bouvreuil pileata*, *S. cinnamomea*, *S. hypoxantha* y *S. ruficollis*); Ariel Ocampo (*S. zelichi*); y Paulo Fenalti (*S. melanogaster*). (b) Localidades donde se obtuvieron muestras para los análisis genéticos y de cantos, indicando las diferentes especies en códigos de colores. Los círculos grandes se superpusieron sobre áreas que fueron muestreadas intensamente para simplificar la figura. Algunas muestras corresponden a lugares que están por fuera de las distribuciones reproductivas conocidas.



2.3 MÉTODOS

2.3.1 Análisis de las vocalizaciones de los capuchinos

Se obtuvieron grabaciones de vocalizaciones de machos de capuchinos adultos de fuentes comerciales, de la Colección Nacional de Sonidos Naturales (Museo Argentino de Ciencias Naturales “Bernardino Rivadavia”, MACN) y de préstamos de otras instituciones (ver detalles en el Apéndice 1.1). Sólo se utilizaron aquellas grabaciones en las que la especie había sido identificada claramente. Nuestro conjunto de datos incluye vocalizaciones de 131 individuos de diez especies de capuchinos (con excepción de *S. nigrorufa* e incluyendo a *S. bouvreuil pileata* y *S. bouvreuil bouvreuil*, las dos subespecies de la única especie politípica entre los capuchinos del sur) y 30 individuos de tres especies de *Sporophila* externas al grupo de los capuchinos. Se incluyeron grabaciones de entre dos y ocho localidades para cada especie, intentando capturar la variación geográfica intraespecífica en el canto. Las vocalizaciones fueron analizadas con el programa Raven Pro 1.4 (www.birds.cornell.edu/raven) usando la configuración de parámetros predeterminada (ventana de Hann, ancho de banda de 248 Hz y ventana temporal de 0.0058 segundos). Definimos sílabas como aquellos elementos continuos en el sonograma o grupos de elementos separados por intervalos de tiempo pequeños (en el orden de los 0.01 s). Los cantos fueron definidos como una sucesión de al menos cinco sílabas consecutivas separadas por menos de un segundo. Medimos el tiempo de inicio y fin, frecuencia mínima, máxima y enfatizada (la frecuencia con la mayor potencia) para todas las sílabas de un dado canto. No se realizaron mediciones sobre los armónicos debido a que se observó que el número de los mismos variaba con la calidad de las grabaciones. A partir de estas variables derivamos otras 11 para las cuales

se obtuvieron los valores promedio para cada canto: frecuencia mínima (kHz); frecuencia máxima (kHz); duración de cada sílaba (s); rango de frecuencias (kHz); frecuencia enfatizada (kHz); silencio inter-sílaba (s); número total de sílabas; número total de sílabas diferentes (únicas); diversidad de sílabas (cociente entre el número de sílabas únicas y totales); largo total del canto (s); y tasa del canto (número de sílabas producidas por segundo). También se registraron tres variables para cada canto que reflejaban la complejidad de las sílabas: el número promedio de elementos que formaban una sílaba; el número promedio de modulaciones de frecuencias (puntos de inflexión) en una sílaba; y el porcentaje de sílabas con dúos internos (dos elementos que se superponen temporalmente y que no están relacionados a través de armónicos). Cuando disponíamos de más de un canto para un dado individuo (promedio = 6, rango = 1-55) obtuvimos valores promediados para todos los cantos de ese individuo para las 14 variables. Finalmente, clasificamos cada sílaba en una de seis categorías (ver ejemplos en la Figura 2.4a o en la Figura 3 de Haavie et al. 2004): vibrato; figura; silbido; figura/vibrato; silbido/vibrato; silbido/figura. Obtuvimos el número total de sílabas de cada clase producida por cada individuo para el total de sus cantos. La mayoría de estas variables fueron empleadas por su utilidad al caracterizar cantos de passeriformes en estudios previos (Nelson 1989, Haavie et al. 2004, Qvarnström et al. 2006).

Las diferencias en las vocalizaciones de las especies estudiadas fueron analizadas volcando las 14 variables en un análisis de funciones discriminantes (DFA) por pasos. La capacidad del modelo de predecir el grupo de pertenencia de cada individuo fue evaluada mediante un procedimiento de reclasificación utilizando la técnica de jackknifing (Tabachnick y Fidell 2001), implementada en el programa SPSS 15.0 (SPSS inc.). Se llevaron a cabo dos DFAs, el primero utilizando datos de todas las especies analizadas y el segundo incluyendo solamente los

capuchinos del sur. Posteriormente se calcularon las distancias Euclidianas entre los centroides de grupo en el espacio de las dos primeras funciones discriminantes para todos los pares de especies. Con el objetivo de poder mostrar los resultados con claridad, esta matriz de distancias se utilizó para construir un árbol de neighbor-joining (NJ) utilizando el programa NEIGHBOR provisto en el paquete estadístico PHYLIP 3.6.9 (Felsenstein 2005). Las diferencias entre especies en puntuaciones de la primera función discriminante (DFA1) fueron evaluadas mediante múltiples pruebas U de Mann-Whitney, aplicando correcciones secuenciales de Bonferroni (Rice 1989). La proporción de cada una de las seis clases de sílabas utilizadas por una dada especie fue calculada promediando los valores obtenidos para cada uno de los individuos de dicha especie. La variación individual en el uso de sílabas fue evaluada utilizando la modificación de Chao basada en abundancia (Chao et al. 2005) al índice de similitud de Jaccard, implementada en el programa EstimateS 8.2 (Colwell 2000). Este índice se basa en la probabilidad de que dos sílabas elegidas al azar de dos cantos pertenezcan a una categoría compartida entre esos cantos y varía entre cero (sin solapamiento en el uso de sílabas) y uno (uso idéntico de las categorías de sílabas). Se calculó el valor del índice promedio y los límites del intervalo de confianza del 95% dentro y entre especies. Los valores interespecíficos promedio del índice fueron convertidos a distancia usando la fórmula $y = 1 - \text{índice}$ para poder mostrar los resultados en un árbol de NJ.

2.3.2 Muestreo para análisis genéticos

Las muestras de tejido utilizadas en este estudio fueron obtenidas en expediciones organizadas por la División de Ornitología del MACN entre los años 2006 y 2010 u obtenidas mediante préstamos de otras instituciones (ver Apéndice 1.2). En la mayoría de los casos un

voucher (piel de estudio, esqueleto o espécimen en etanol) fue depositado en la colección del MACN o en otra institución. En el caso de las muestras de sangre, se obtuvieron fotos digitales antes de liberar al individuo.

Se muestrearon las 11 especies de capuchinos incluyendo las dos subespecies de *S. bouvreuil* (*S. b. bouvreuil* y *S. b. pileata*); utilizándose otras cuatro especies simpátricas como grupos externos: *S. collaris*, *S. caerulescens*, *S. leucoptera* y *Volatinia jacarina* (las cuales se encuentran por fuera del grupo de estudio, Lijtmaer et al. 2004). Cuando fue posible se incluyó más de un individuo por especie y representantes de varias localidades de la distribución geográfica de cada una de ellas. Las especies de capuchinos fueron identificadas utilizando tanto patrones de coloración como información de la distribución geográfica de cada una. La mayoría de las muestras fueron obtenidas de machos con plumaje adulto, lo que permite una identificación sencilla de la especie. En el caso de los capuchinos del sur, en el que las hembras son difíciles de identificar usando información de plumaje, las pocas muestras provenientes de hembras o individuos de sexo desconocido fueron claramente identificadas usando información de la distribución y las especies presentes en cada localidad de colecta (29 de 204 muestras de capuchinos del sur).

Nuestro conjunto de datos para análisis filogenéticos mitocondriales incluye 38 especímenes de los nueve capuchinos del sur, diez individuos pertenecientes a *S. minuta* y *S. castaneiventris*, y trece individuos pertenecientes a grupos externos. En total se secuenciaron aproximadamente 2.6 kilobases (kb) para tres marcadores mitocondriales: subunidad I de la citocromo c oxidasa (COI), citocromo b (Cyt b) y la región control mitocondrial (RC). Para aquellos análisis basados en la frecuencia de alelos de ADN microsatélite, incrementamos el tamaño muestral incluyendo tanto especímenes recientemente colectados como aquellos preservados como pieles de estudio

en la Colección Ornitológica Nacional del MACN. Esto incrementó el conjunto de datos a 204 capuchinos del sur, 12 individuos de *S. castaneiventris* y *S. minuta*, y 24 individuos pertenecientes a grupos externos. Finalmente, varias muestras de tejido fresco (no las pieles de estudio) fueron usadas para amplificar diversos marcadores nucleares con el objetivo de buscar polimorfismos entre especies de capuchinos del sur. El año de colecta, localidad de muestreo, sexo del individuo y tipo de muestra obtenida se detallan en el Apéndice 1.2.

2.3.3 Extracción de ADN, amplificación de marcadores moleculares y secuenciación o genotipificación

Las fuentes de ADN utilizadas para este estudio incluyen músculo pectoral o hígado congelados, sangre conservada en alcohol o buffer de lisis (Seutin et al. 1991) y almohadillas plantares, plumas o fragmentos de piel obtenidos de pieles de estudio. Se extrajo ADN siguiendo el protocolo descrito por Ivanova et al. (2006) utilizando columnas de extracción individuales (Epoch Life Sciences; Missouri City, Texas). Las muestras obtenidas de pieles de estudio fueron rehidratadas en buffer fosfato salino (PBS) por aproximadamente 24 horas, luego de las cuales se descartó el buffer y las muestras fueron digeridas, agregando 5 μ l de proteinasa K cada 7 horas, hasta que la mayor parte del tejido se encontraba digerido. Amplificamos un total de siete marcadores moleculares utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR): tres regiones mitocondriales, COI (694 pb), Cyt b (902 pb) y RC (\approx 1050 pb); dos marcadores nucleares ligados al cromosoma Z, Chromodomain-Helicase-DNA binding protein (CHD1Z, \approx 399 bp) e intron 3 del gen de la muscle skeletal receptor tyrosine kinase (MUSK, \approx 697 bp); un intrón autosómico, intron 5 del gen del β -fibrinógeno (Fib5, \approx 559 bp); y dos pseudogenes nucleares de

origen mitocondrial descritos previamente (Sato et al. 2001), Numt2 (≈ 765 bp) y Numt3 (≈ 679 bp). La RC fue elegida porque su alta tasa de sustitución ofrece el potencial de distinguir entre especies de origen reciente, especialmente importante a la hora de poner a prueba la monofilia recíproca de las especies de capuchinos del sur. Los marcadores restantes han probado ser de gran utilidad en estudios filogeográficos y casos de especies de aves cercanamente emparentadas incluyendo los Pinzones de Darwin (Sato et al. 1999, 2001; Cadena et al. 2007, Cabanne et al. 2008, Brelsford e Irwin 2009).

La COI fue amplificada siguiendo protocolos descritos por Kerr et al. (2009). La muestra correspondiente a *S. nigrorufa* provino de una piel de estudio colectada en 1885 y por lo tanto contenía ADN degradado. Para dicha muestra la COI se amplificó en dos fragmentos cortos que se solapaban utilizando primers internos junto con los usados para las restantes muestras (Kerr et al. 2009). La amplificación de Cyt b, RC, Numt2 y Numt3 se realizó siguiendo las condiciones delineadas por Sato et al. (2001). Finalmente las PCRs de Fib5 y MUSK se llevaron a cabo en 25 μ l de buffer KCl de PCR (Fermentas; Burlington, Ontario, Canadá) conteniendo 2 μ l de ADN genómico, 0.4 μ M de cada primer, 0.2 mM de dNTPs, una unidad de Taq ADN polimerasa (Fermentas) y las concentraciones de $MgCl_2$ indicadas en la Tabla 2.1. Las PCRs para CHD1Z se llevaron a cabo en 25 μ l de buffer KCl de PCR conteniendo 2 μ l de ADN genómico, 1 μ M de cada primer, 0.25 mM de dNTPs, la concentración de $MgCl_2$ indicadas en la Tabla 2.1 y una unidad de Taq ADN polimerasa. Las PCRs fueron corridas bajo el siguiente programa: 5 minutos a 94°C seguidos de 35 ciclos de 30 segundos a 94°C, 45 segundos a la temperatura de hibridación especificada en la Tabla 2.1 y 1.5 minutos a 72°C, finalmente 5 minutos a 72 °C. Las secuencias de los primers con las referencias originales, temperaturas de hibridación y concentraciones de $MgCl_2$ usadas en todas las PCRs se detallan en la Tabla 2.1. Los productos de

PCR fueron visualizados en un gel de agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio, purificados usando el QIAquick PCR purification Kit (QIAGEN; Mississauga, Ontario, Canadá) y secuenciados en ambas direcciones con los mismos primers utilizados en la amplificación. Parte de la secuenciación de COI se llevó a cabo en el Canadian Centre for DNA Barcoding (Guelph, Ontario, Canadá). Las demás secuencias fueron obtenidas en el London Regional Genomics Centre (London, Ontario, Canadá) o en Macrogen Korea (Seoul, Korea). Todas las secuencias fueron depositadas en Genbank (ver detalles en Apéndice 1.2).

Se genotificaron muestras para seis loci de ADN microsatélite desarrollados para varias especies de passeriformes los cuales mostraron ser polimórficos en *Sporophila*. Tres loci fueron desarrollados para *Geospiza fortis* y especies cercanas incluyendo *Sporophila aurita* (Petren 1998). Una secuencia de M13 (5'-CACGACGTTGTAAAACGA-3') se agregó al extremo 5' del primer forward de cada par. Las PCRs se llevaron a cabo en 10 μ l de buffer KCl de PCR conteniendo 2 μ l de ADN genómico, 0.15 μ M de cada primer, 0.1 mM de dNTPs, 2.5 mM $MgCl_2$, 6 μ M de M13 marcado con Well-Red (Sigma-Aldrich; Oakville, Ontario, Canadá) y 0.5 unidades de Taq ADN polimerasa. Las PCRs se corrieron bajo el siguiente programa: 3 minutos a 95°C seguidos de 35 ciclos de 30 segundos a 95°C, 45 segundos a la temperatura de hibridación especificada en la Tabla 2.1 y 45 segundos a 72°C, finalmente 10 minutos a 72 °C. Los productos de PCR fueron genotificados usando un secuenciador de capilares automático Beckman Coulter CEQ8000 y los alelos fueron determinados visulamente usando el programa CEQ 8000 Genetic Analysis System (Beckman Coulter; Mississauga, Ontario, Canadá). El 15% de las muestras provenientes de pieles de estudio fueron genotificadas dos veces obteniéndose resultados idénticos.

Tabla 2.1: Primers y condiciones de PCR usadas para amplificar los marcadores moleculares utilizados en este estudio (incluye primers usados en los estudios del capítulo III y IV). ADN mitocondrial (ADNmt); ADN nuclear (ADNnu).

Locus	Nombre y secuencia del primer	Tipo de marcador	Temperatura de hibridación	Concentración de Mg ²⁺	Referencia
COI	BirdF1 5'-TTCTCCAACCACAAAGACATTGGCAC-3'	ADNmt	51°C	2.5 mM	Kerr et al. 2009 Ivanova et al. 2011 (AquaF2)
	COIbirdR2 5'-ACGTGGGAGATAAATCCAAATCCTGG-3'				
	AvMiF1 5'-CCCCGACATAGCATTC-3'				
	AvMiR1 5'-ACTGAAGCTCCGGCATGGGC-3'				
	AquaF2 5'-ATCACRACCATCATYAAAYATRAARCC-3'				
Cyt b	CB1 5'-CCAACATCTCHKHTGATGAAAATT-3'	ADNmt	56°C	3.5 mM	Sato et al. 1999
	CB2 5'-GATGAAKGGGTVTTCTACTGGTTG-3'				
RC	M1 5'-CATCAGACAGTCCATGAAATGTAGG-3'	ADNmt	58°C	3.5 mM	Sato et al. 1999
	H1261 5'-AGGTACCATCTTGGCATCTTC-3'				
COII	L8263 5'-GCCACTCATGCCTCTTTCTTATGGG-3'	ADNmt	50-55°C	2-3.5 mM	Chesser1999, 2000
	H8856 5'-ATGAAGGAGGTTTGATTTAGTCGTC-3'				
Numt2	M1 5'-CATCAGACAGTCCATGAAATGTAGG-3'	ADNnu: Autosómico	66°C	3.5 mM	Sato et al. 2001
	RF12 5'-TCTACCACAGAGCAATGTCCAGC-3'				
Numt3	NB77 5'-CCTCCTCTAACCCCTCATAGCAAC-3'	ADNnu: Autosómico	66°C	3.5 mM	Sato et al. 2001
	NB74 5'-CTGTCAGGGTGGTAAGGCACACTAG-3'				
CHD1Z	2550F 5'-GTTACTGATTCTGCTACGAGA-3'	ADNnu: Ligado al Z	50-55°C	1.5-2 mM	Fridolfsson y Ellegren 1999
	2718R 5'-ATTGAAATGATCCAGTGCTTG-3'				
Fib5	Fib5 5'-CGCCATACAGAGTATACTGTGACAT-3'	ADNnu: Autosómico	50-54°C	2-2.5 mM	Kimball et al. 2009
	Fib6 5'-GCCATCCTGGCGATTCTGAA-3'				
Musk	MUSK-13F2 5'-AAATAACCCGACCACCTGTAAA-3'	ADNnu: Ligado al Z	55-62°C	2-3.5 mM	Kimball et al. 2009
	MUSK-13R2 5'-TAGGCACTGCCAGACTGTT-3'				
MELK	For 5'-CAACTTTTTCACCAGTAAG-3'	ADNnu: Ligado al Z	55 °C	2 mM	Backström et al. 2010
	Rev 5'-CTACGAGGAAATCTCAA-3'				
SLC45A2	For 5'-TAATGCAGACCTTCTCTTT-3'	ADNnu: Ligado al Z	53 °C	2 Mm	Backström et al. 2010
	Rev 5'-CTGTAGCTGGGGCAGGA-3'				
MC1R	MSHR9 5'-ATGCCAGTGAGGGCAACCA-3'	ADNnu: Autosómico	60-65 °C	1.5 mM	Mundy et al. 2004
	MSHR72 5'-CTGGCTCCGGAAGGCATAGAT-3'				
Escu6	F 5'-CATAGTGATGCCCTGCTAGG-3'	Microsatélite	56 °C	2.5 mM	Hanotte et al. 1994
	R 5'-GCAAGTGCTCCTTAATATTTGG-3'				
Mcyμ4	F 5'-ATAAGATGACTAAGGTCTCTGGTG-3'	Microsatélite	56 °C	2.5 mM	Double et al. 1997
	R 5'-TAGCAATTGTCTATCATGGTTTG-3'				
Pdoμ3	F 5'-CTGTTCAATTAACACAGGT-3'	Microsatélite	52 °C	2.5 mM	Neumann y Wetton 1996
	R 5'-AGTGAACTTTAATCAGTTG-3'				
Gf05	F 5'-AAACACTGGGAGTGAAGTCT-3'	Microsatélite	52 °C	2.5 mM	Petren 1998
	R 5'-AACTATTCTGTGCTCCTGTTACAC-3'				
Gf08	F 5'-TGGGAGAGCAAGGTGGGAACAG-3'	Microsatélite	62 °C	2.5 mM	Petren 1998
	R 5'-TGGAGTGGTGATTAACCAGCAGG-3'				
Gf12	F 5'-AATCCTTCTCGTCCCTCTTGG-3'	Microsatélite	56 °C	2.5 mM	Petren 1998
	R 5'-TTTGAGTGTGCAGCAGTTGG-3'				

2.3.4 Análisis basados en códigos de barras genéticos (secuencias de COI)

Con el objetivo de comparar los patrones de COI dentro de los capuchinos del sur con el de otras aves Neotropicales, usamos información depositada en el proyecto “Birds of Argentina - Phase I” en <http://www.barcodinglife.org>, dado que este conjunto de datos contiene secuencias

de COI de 1594 individuos pertenecientes a 500 especies de aves Neotropicales (Kerr et al. 2009). Para dicha comparación se calcularon distancias de 2 parámetros de Kimura (K2P, Kimura 1980) usando el BOLD Management & Analysis System (Ratnasingham y Hebert 2007) y MEGA 4 (Tamura et al. 2007). La distancia de K2P estima distancia genética utilizando el número de sustituciones nucleotídicas, asignándole diferente peso a las transiciones y transversiones. Esta medida de distancia genética es adecuada cuando la divergencia es baja (Nei y Kumar 2000), y por esta razón es el modelo utilizado para identificación y otros análisis a nivel de especie con códigos de barras genéticos (Hebert et al. 2003).

No se encontraron inserciones, deleciones o codones de terminación en las secuencias de COI. Las secuencias fueron alineadas para análisis filogenéticos usando el programa BioEdit versión 7.0.9.0 (Hall 1999). Se construyó un árbol de neighbor-joining (NJ) utilizando distancias K2P y MEGA 4. La robustez de los nodos fue evaluada llevando a cabo 1000 pseudoréplicas de bootstrap estándar (Felsenstein 1985). Con el objetivo de analizar la sensibilidad de la topología al método de reconstrucción filogenética, se llevó a cabo un análisis Bayesiano con el programa MrBayes 3.1.2 (Huelsenbeck y Ronquist 2001, Ronquist y Huelsenbeck 2003) y uno de máxima parsimonia (MP) con el programa T.N.T 1.1 (Goloboff et al. 2003). Para el análisis Bayesiano se eligió el modelo de evolución molecular usando la prueba jerárquica de cociente de verosimilitudes implementada en Modeltest v3.7 (Posada y Crandall 1998). El mejor ajuste a los datos se produjo con el modelo HKY (Hasegawa et al. 1985) con heterogeneidad en la tasa de sustitución aproximada por una función gamma (+G). Se corrieron dos análisis Bayesianos independientes por 5.0×10^6 generaciones bajo probabilidades a priori no informativas, luego de las cuales ambas corridas convergieron (el indicador de convergencia standard deviation of split frequencies había alcanzado valores <0.01). Se tomaron muestras de genealogías cada 100

generaciones, descartando las primeras 12500 como parte del burn-in. El indicador Potential Scale Reduction Factor (Gelman y Rubin 1992) era muy cercano a uno para todos los parámetros, indicando que el muestreo de la probabilidad a posteriori era adecuado. Las búsquedas heurísticas de MP consistieron de 1000 secuencias de adición al azar con el algoritmo de intercambio de ramas TBR (guardando 100 árboles por réplica). Finalmente se realizó un consenso estricto con todos los árboles obtenidos. La robustez de los nodos de la topología resultante se evaluó llevando a cabo 1000 pseudoréplicas de bootstrap estándar (Felsenstein 1985) consistiendo de 100 secuencias de adición al azar seguidas de TBR (guardando 10 árboles por pseudoréplica). Los resultados obtenidos mediante los tres métodos de reconstrucción filogenética fueron similares, por lo que sólo se muestra la topología Bayesiana.

Varios haplotipos de COI difieren por pocas sustituciones y en muchos casos son compartidos entre especies. Por lo tanto, las relaciones entre los haplotipos de COI de los capuchinos del sur se representó a través de una red de haplotipos de parsimonia estadística (Templeton et al. 1992) construida con el programa TCS v1.21 (Clement et al. 2000).

2.3.5 Análisis basados en marcadores de ADN mitocondrial

La relación filogenética entre especies de capuchinos se exploró construyendo árboles con información de tres marcadores mitocondriales (COI, Cyt b y RC). Las secuencias de ADN se alinearon con el programa BioEdit 7.0.9.0; verificando a ojo que aquellas codificantes no tuviesen inserciones o deleciones y traduciéndolas a secuencias de aminoácidos para confirmar la ausencia de codones de terminación. Debido a que los tres marcadores se encuentran ligados por pertenecer al genoma mitocondrial, se concatenaron para llevar a cabo el análisis filogenético

Bayesiano utilizando el programa MrBayes 3.1.2 y el de MP usando T.N.T 1.1. Para la construcción del árbol Bayesiano se seleccionó el modelo de evolución molecular para cada región mitocondrial por medio del programa jModelTest 0.1.1 (Guidon y Gascuel 2003, Posada 2008). Los cálculos de verosimilitud se llevaron a cabo utilizando 11 esquemas de sustitución, variación en las frecuencias nucleotídicas, una proporción de sitios invariantes, variación en las tasas de sustitución (aproximada por una distribución gamma definida por cuatro categorías de tasas) y un árbol inicial fijado por la opción BIONJ. Los modelos de evolución molecular que mejor se ajustaban a cada partición (marcador molecular) se eligieron por medio del criterio de información de Akaike y posteriormente fueron utilizados en el programa MrBayes (aproximando al más cercano dado que MrBayes no implementa todas las opciones contempladas por jModelTest). El modelo que mejor ajustó a los datos para los tres marcadores mitocondriales fue el de tiempo general reversible (GTR, Tavaré 1986) con variación por sitio en las tasas de sustitución aproximada por una función gamma (+G) y una proporción de sitios invariantes (+I). A cada locus se le asignó una partición diferente en el análisis, las cuales fueron desligadas permitiendo que los parámetros se estimaran por separado mientras se producía la distribución a posteriori de topologías. Se realizaron dos corridas Bayesianas independientes con cuatro cadenas por diez millones de generaciones utilizando probabilidades a priori no informativas. Luego de este punto el indicador standard deviation of split frequencies era <0.01 , mostrando la convergencia de ambas corridas. Se muestrearon genealogías cada 100 generaciones, descartando el 25% inicial como burn-in. Se verificó que las corridas alcanzaran el estado estacionario usando las funciones cumulative y compare implementadas en el programa AWTY (Wilgenbusch et al. 2004). El indicador Potential Scale Reduction Factor se encontraba cercano a uno para todos los parámetros, indicando que la distribución a posteriori había sido

muestreada adecuadamente. Finalmente, se obtuvo un consenso de mayoría al 50% de la distribución a posteriori de topologías. Para analizar la sensibilidad de la topología al método de reconstrucción filogenético se llevó a cabo un análisis de MP usando T.N.T 1.1 y la estrategia de búsqueda descrita en la sección 2.3.4. Los resultados obtenidos mediante ambos métodos de reconstrucción filogenética fueron similares, por lo que sólo se muestra la topología Bayesiana.

Con el objetivo de explorar si existen diferencias estadísticamente significativas en la frecuencia de haplotipos mitocondriales entre especies de capuchinos del sur, se construyeron matrices de Φ_{ST} realizando comparaciones entre pares de especies para cada gen por separado, utilizando el programa Arlequin v3.5.1.2 (Excoffier y Lischer 2010). Φ_{ST} estima la diferenciación entre especies a través de la proporción de la variación genética explicada por diferencias entre estos grupos, teniendo en cuenta el grado de divergencia entre haplotipos a través de una matriz de distancias K2P. Aquellas especies para las cuales el número de muestras era demasiado bajo fueron excluidas del análisis. Los valores de Φ_{ST} entre capuchinos del sur fueron comparados con los de la especie hermana, *S. minuta* (Campagna et al. 2010). La significancia estadística se evaluó mediante 1000 permutaciones al azar con correcciones secuenciales de Bonferroni (Rice 1989). La matriz de valores de Φ_{ST} fue utilizada para construir un árbol de NJ como fue descrito en el punto 2.3.1.

La edad del ancestro mitocondrial de los capuchinos del sur y la del ancestro entre estos y *S. minuta* se estimó utilizando el tiempo al ancestro común más reciente (TMRCA) con el enfoque coalescente implementado en el programa Bayesiano BEAUti/BEAST v1.4.8 (Drummond y Rambaut 2007). Los tiempos de divergencia absolutos se estimaron usando las secuencias de Cyt b y una calibración de 2.1% de divergencia por millón de años (Weir y Schluter 2008). El análisis se corrió por 100 millones de generaciones usando el modelo de evolución molecular

GTR+I+G (la distribución gamma fue modelada utilizando cuatro categorías en las tasas de sustitución), asumiendo un tamaño poblacional constante y un reloj molecular relajado (uncorrelated lognormal). Se obtuvieron resultados similares utilizando los modelos de crecimiento poblacional exponencial y de expansión. Se confirmó la estabilidad en la estimación de los parámetros a lo largo de la corrida y que el número efectivo de muestras independientes (effective simple size) fuese adecuado con el programa Tracer v1.4 (Rambaut y Drummond 2007).

2.3.6 Análisis basados en la frecuencia de alelos de ADN microsatélite

Los análisis de diversidad molecular, equilibrio de Hardy-Weinberg y desequilibrio de ligamiento se llevaron a cabo con el programa Arlequin v3.5.1.2 (Excoffier y Lischer 2010). El grado de diferenciación genético entre especies fue evaluado calculando valores de F_{ST} (la reducción en la heterocigosis de especies con respecto a todas las especies tomadas en su conjunto) y distancia genética estándar de Nei (N_s ; basada en la proporción de alelos compartidos entre especies, Nei 1972). La matriz de valores de F_{ST} entre pares de especies fue obtenida usando Arlequin y usada para construir un árbol de NJ. La significancia estadística fue evaluada por medio de 1000 permutaciones al azar con correcciones secuenciales de Bonferroni. Las distancias N_s entre pares de especies también fueron utilizadas para construir árboles de NJ con el programa Populations 1.2.32 (Langella 1999) y la robustez de la topología fue evaluada realizando pseudoréplicas de bootstrap con individuos y loci por separado. *S. nigrorufa* y *S. zelichi* fueron excluidas del análisis porque el número de muestras para estas especies era demasiado pequeño.

Se utilizaron dos estrategias para explorar patrones generales en los datos dentro del conjunto de todos los capuchinos del sur. Primero, se calcularon las distancias genéticas de a pares entre todos los individuos genotipificados utilizando dos medidas de distancia desarrolladas para marcadores de ADN microsatélite: distancia D_{SW} (Shriver et al.1995) y distancia cuadrática promedio (ASD, Goldstein et al. 1995). Las distancias genéticas entre individuos fueron usadas en un análisis de coordenadas principales (PCoA) llevado a cabo con el programa GenAlEx (Peakall y Smouse 2006). Se obtuvieron resultados similares con ambas medidas de distancia, por lo que sólo se muestran los resultados obtenidos con D_{SW} . La segunda fue la estrategia Bayesiana implementada en el programa Structure v2.3.3 (Pritchard et al. 2000) que identifica el número de subpoblaciones (K) que mejor se ajusta a los datos. Se utilizó el modelo de ancestralidad mixta (admixture ancestry model) con frecuencias alélicas correlacionadas (Falush et al. 2003). El análisis se corrió para las especies de capuchinos del sur con valores de K=1 hasta nueve (diez iteraciones por valor de K) por dos millones de generaciones, descartando las 500000 muestras iniciales como parte del burn-in.

2.3.7 Análisis basados en marcadores nucleares

Las secuencias pertenecientes a cada uno de los marcadores nucleares amplificados (CHD1Z, Fib5, MUSK, Numt2 y Numt3) fueron alineadas utilizando el programa BioEdit 7.0.9.0 y revisadas a ojo para encontrar sitios diagnósticos de una o más especies (los cuales no se observaron para ninguno de los cinco marcadores nucleares). El marcador Numt2 brindó buena resolución entre los capuchinos del sur y los grupos externos por lo que fue utilizado para construir árboles filogenéticos. Se construyó un árbol Bayesiano con el programa MrBayes y el

modelo GTR+G elegido usando jModelTest, siguiendo el procedimiento descrito para los árboles derivados de marcadores mitocondriales. También se construyó un árbol de MP usando T.N.T como se mencionó anteriormente (como las topologías producidas mediante ambos métodos resultaron ser similares, sólo se muestra la Bayesiana).

Se evaluó si las especies de capuchinos del sur difieren en la frecuencia de haplotipos de los marcadores nucleares para los cuales se obtuvieron secuencias. Los haplotipos de cada marcador fueron inferidos utilizando el programa DnaSP 5.10 (Librado y Rozas 2009). Sólo se utilizaron aquellos haplotipos que no poseían sitios con una probabilidad de asignación menor a 0.95. Utilizando este criterio, la combinación entre el número de sitios segregantes y el número de muestras causó que se recuperaran pocos haplotipos para cada marcador. Para incrementar la cantidad de haplotipos utilizables, cada gen fue dividido arbitrariamente a la mitad y se infirieron los haplotipos de forma separada para las porciones 5' y 3' de cada locus. Las diferencias en las frecuencias de haplotipos entre especies fueron cuantificadas utilizando valores de F_{ST} (obtenidos con el programa Arlequin), calculados independientemente para las porciones 5' y 3' de cada locus. La significancia estadística de los valores de F_{ST} se evaluó como se mencionó anteriormente y los resultados se muestran en árboles de NJ.

2.3.8 Análisis combinando diferentes marcadores moleculares

La historia demográfica de las especies de capuchinos del sur fue explorada a través de secuencias mitocondriales y nucleares. Los marcadores de ADN microsatélite mostraron evidencia de desequilibrio de ligamiento y desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg (ver sección 2.4.3) y por lo tanto no fueron utilizados en estos análisis. Se evaluó si las secuencias

mitocondriales y nucleares contenían huellas de expansiones o contracciones demográficas utilizando la prueba F_s de F_u (Fu 1997) implementada en Arlequin y calculando el parámetro de crecimiento exponencial g con el programa Lamarc 2.1.6 (Kuhner 2006). Los tiempos de divergencia entre pares de especies, la migración (evidencia de hibridación e introgresión de genes) y los tamaños poblacionales efectivos ancestrales y actuales se estimaron por medio del programa IMA2 (Hey y Nielsen 2007, Hey 2010). No se encontró evidencia de recombinación ($p > 0.05$) en las porciones 5' y 3' de cada uno de los cinco genes nucleares utilizando la prueba Phi (Bruen et al. 2006) implementada en el programa SplitsTree4 (Huson y Bryant 2006).

Las pruebas de expansiones o contracciones demográficas se llevaron a cabo por separado en aquellas especies para las cuales los tamaños muestrales eran mayores y sobre el conjunto de los capuchinos del sur. La prueba F_s de F_u se llevó a cabo por separado en Arlequin para COI, Cyt b, RC y las porciones 5' y 3' de CHD1Z, Fib5, MUSK, Numt2 y Numt3. La significancia estadística de dicha prueba se evaluó mediante 1000 réplicas simuladas. El parámetro de crecimiento exponencial g se calculó combinando información de RC y la porción 5' o 3' de cada marcador nuclear. En consecuencia, el parámetro g se calculó dos veces para cada especie; una primera vez utilizando las secuencias de RC y una combinación aleatoria de los fragmentos 5' o 3' de cada marcador nuclear y una segunda vez, usando RC y la combinación recíproca de fragmentos (si el fragmento 5' de un dado marcador nuclear se incluía en la primera corrida, la segunda utilizaba el fragmento 3'). Finalmente, se obtuvo la media entre ambas corridas. El programa Lamarc se utilizó en modo de máxima verosimilitud con los modelos de evolución molecular de Felsenstein 84 (Felsenstein 1984) y GTR para los marcadores nucleares y RC respectivamente. Se llevaron a cabo dos búsquedas simultáneas implementando cadenas con

temperatura. Se utilizaron 20 cadenas iniciales y cinco finales, guardando 2000 y 10000 genealogías respectivamente a intervalos de 20 generaciones.

Las estimaciones de tamaños poblacionales efectivos, tiempos de divergencia e introgresión fueron obtenidos usando IMA2. Los tamaños muestrales fueron demasiado bajos como para resolver un modelo incluyendo todas las especies de capuchinos del sur simultáneamente. Por lo tanto, las especies para las cuales los tamaños muestrales eran mayores se compararon de a pares (ver Cabanne et al. 2008). Debido a que no se encontró una marcada estructura genética entre especies de capuchinos del sur (sólo valores bajos de Φ_{ST} y F_{ST} consistentes con flujo génico), también se corrió el programa IMA2 entre el clado de los capuchinos del sur y la especie hermana *S. minuta* y entre *S. hypoxantha* (la especie mejor muestreada dentro de los capuchinos del sur) y la combinación de los demás capuchinos del sur. Como se mencionó anteriormente no se encontró evidencia de recombinación en los fragmentos 5' y 3' de los cinco marcadores nucleares utilizados. Para varios de estos fragmentos la prueba F_s de F_u produjo valores menores que cero y significativos (ver la sección 2.4.4 y la Tabla 2.5). No obstante, estas secuencias nucleares fueron utilizadas en los análisis de IMA2 debido a que interpretamos estos resultados como evidencia de expansiones demográficas y no como una huella de selección natural (y por lo tanto una desviación de la neutralidad que violaría las suposiciones del modelo implementado por IMA2), por dos razones. En primer lugar, también se obtuvieron estimaciones mayores que cero y significativas del parámetro de crecimiento exponencial g , evidencia de una expansión demográfica. En segundo lugar, no es esperable que se observe simultáneamente sobre varios loci no ligados una desviación de la neutralidad causada porque los marcadores están ligados a genes sobre los que actuó la selección natural. Es más probable que un cambio demográfico tenga un efecto sobre todo el genoma. Se llevaron a cabo dos corridas por par de especies, una

con datos de RC y una combinación aleatoria de fragmentos 5' y 3' de CHD1Z, Fib5, MUSK, Numt2 y Numt3, y una segunda utilizando RC y la combinación recíproca de fragmentos de marcadores nucleares. Se utilizó un modelo simplificado con un solo parámetro de migración y el modelo de evolución molecular de sitios infinitos (Kimura 1969) en aquellos loci con una sola base segregante por sitio en la muestra. En aquellos casos en los que se observó más de una base segregando por sitio en la muestra, se utilizó el modelo HKY (Hasegawa et al. 1985). Las corridas en modo M mostraron intercambiar información entre cadenas de manera exitosa utilizando el modelo de calentamiento geométrico, 100 cadenas y un periodo de burn-in de 250000 generaciones. Se condujeron análisis preliminares para definir los intervalos adecuados en las probabilidades a priori de cada parámetro. Luego de estas corridas iniciales, sólo se continuó trabajando con aquellos pares de especies para los cuales los datos permitían estimar todos los parámetros en el modelo. Como en todos los casos se obtuvieron resultados similares con ambas combinaciones de fragmentos de marcadores nucleares, se eligió una combinación al azar para llevar a cabo las restantes corridas. Finalmente se realizaron tres o cuatro corridas por par de especies iniciando desde puntos diferentes (diferentes random seeds) hasta obtener al menos 120000 genealogías. La densidad conjunta de la probabilidad a posteriori para la estimación de los diferentes parámetros del modelo fue obtenida en modo L. Como no se disponía de una calibración del reloj molecular para las especies de capuchinos del sur, se utilizaron calibraciones estimadas para otras especies. Los valores aproximados de los parámetros demográficos (tiempos de divergencia y tamaños poblacionales efectivos) se calcularon a partir de aquellos parámetros obtenidos con el programa IMA2 (tiempo de divergencia: t/μ ; tamaño poblacional efectivo: $4N\mu$; y migración: m/μ ; siendo μ la tasa de mutación) siguiendo los métodos de Hey y Nielsen (2004). Las estimaciones de la tasa

poblacional de migración ($2Nm$) pueden ser obtenidas independientemente de la tasa de mutación ($2Nm = 4N\mu \times 1/2 \times m/\mu$) y por lo tanto no dependen de la calibración del reloj molecular. Debido a que el modelo implementado por IMA2 fue simplificado para incluir sólo un parámetro de migración, se utilizó el tamaño poblacional efectivo promedio entre las dos poblaciones incluidas en el modelo para obtener la estimación del número de migrantes efectivos por generación ($2Nm$). Se asumió una tasa de divergencia del 20% por millón de años para RC (Wenink et al. 1994) y ésta se convirtió en una tasa de mutación específica del linaje para todo el marcador. En los loci nucleares se utilizó una calibración de 3.9×10^{-9} y 3.6×10^{-9} sustituciones por sitio, por año para aquellos ligados al cromosoma Z y autosómicos respectivamente (Axelsson et al. 2004) y se convirtió en una estimación para todo el marcador. Finalmente se asumió un tiempo generacional de un año para las especies de *Sporophila*.

2.3.9 Búsqueda de genes implicados en la diversificación de los capuchinos

Además de los marcadores neutros utilizados en este estudio, se amplificaron y secuenciaron genes candidatos a estar implicados en generar las diferencias fenotípicas existentes entre las especies de capuchinos del sur. Si bien aún se sabe poco al respecto de la base genética de la divergencia de poblaciones naturales, en los últimos años algunos genes han sido asociados a fenotipos específicos en aves (Theron et al. 2001, Kerje et al. 2004, Mundy 2005, Gunnarsson et al. 2007).

En primer lugar, se seleccionó el gen del receptor 1 de melanocortina (MC1R), para el cual se conocen mutaciones puntuales que están implicadas en el melanismo de varias aves (Mundy 2005); un gen de especial interés en el caso de *S. melanogaster* dado que en lugar de poseer el

plumaje canela característico, este capuchino tiene una coloración negra/gris (ver Figura 2.1). Se amplificaron ≈ 815 pb del gen MC1R bajo las mismas condiciones detalladas para Fib5 y MUSK en la sección 2.3.3 (ver las secuencias de los primers, concentración de $MgCl_2$ y temperatura de hibridación en la Tabla 2.1).

Recientemente, Backström et al. (2010) llevó a cabo una comparación de los genes ubicados en el cromosoma Z del par de especies hermanas *Ficedula hypoleuca* y *F. albicollis*, identificando varias regiones con elevada divergencia interespecífica y diversidad nucleotídica reducida a nivel intraespecífico. Este resultado sugiere que dichas regiones podrían haber estado bajo efecto de selección divergente, e implicadas en la evolución de mecanismos de aislamiento reproductivo. Se seleccionaron siete marcadores: NUP155, GPR98, KIF24, MELK, PLAA, TYRP1 y SCL45A2; para dos de ellos (TYRP1 y SCL45A2) se conocen mutaciones que afectan los patrones de coloración en gallinas y codornices (Backström et al. 2010). Sólo se pudieron obtener productos de PCR para MELK (≈ 350 pb) y SCL45A2 (≈ 1 kb) consistentemente para todas las especies de capuchinos del sur. Las PCRs de ambos marcadores siguieron las condiciones descritas en la sección 2.3.3 para Fib5 y MUSK (ver detalle de primers, concentración de $MgCl_2$ y temperatura de hibridación en la Tabla 2.1)

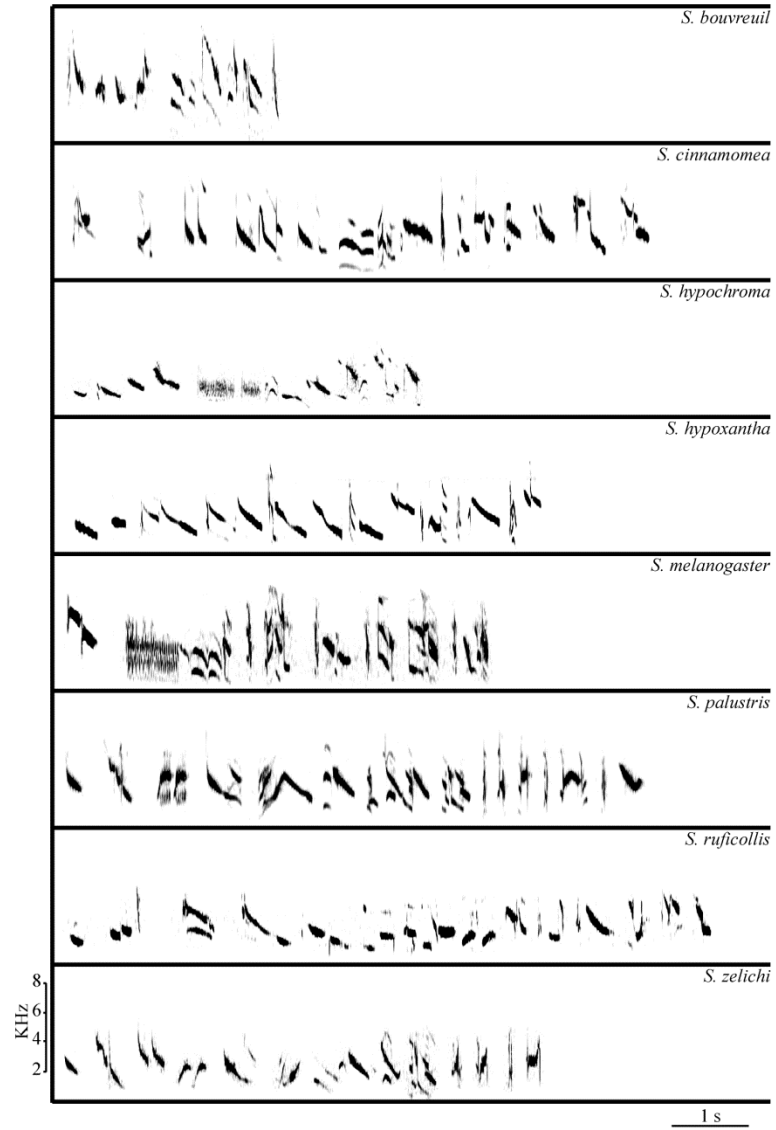
Se obtuvieron secuencias de los tres marcadores (MC1R, MELK y SCL45A2) para ocho de las nueve especies de capuchinos del sur (exceptuando *S. nigrorufa* para la cual no se disponía de tejido fresco) y un grupo externo (*S. caerulescens*). Las secuencias fueron alineadas con BioEdit 7.0.9.0 e inspeccionadas visualmente para detectar la presencia de polimorfismos diagnósticos de cada especie.

2.4 RESULTADOS

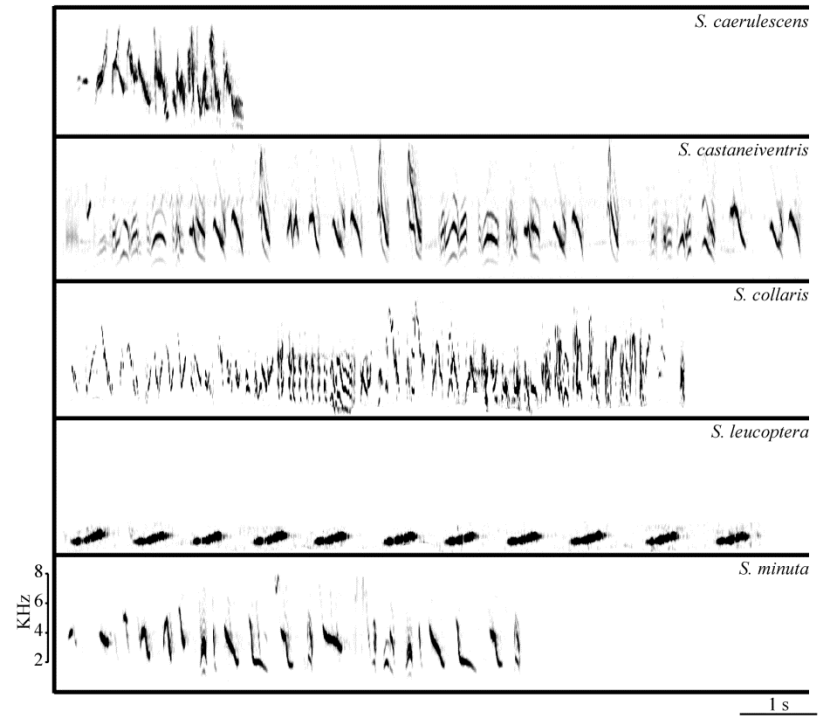
2.4.1 Variación en las vocalizaciones de los capuchinos

Las vocalizaciones de los capuchinos del sur y otras especies de *Sporophila* consisten en una sucesión de sílabas complejas (Figura 2.2). El análisis de funciones discriminantes por pasos retuvo 13 de las 14 variables (ver la matriz de estructura en la Tabla 2.2) y encontró diferencias estadísticamente significativas entre las especies (λ de Wilk = 3.36×10^{-4} , $\chi^2 = 1175.82$, g.l. = 156, $p < 0.001$). El análisis distingue las vocalizaciones de los capuchinos del sur de aquellas de *S. castaneiventris* y *S. minuta* (Figura 2.3a) y de forma más notable de aquellas de especies que no pertenecen al grupo de los capuchinos. Las diferencias en las vocalizaciones entre especies de capuchinos del sur son comparativamente menores, con 66% de los casos asignados a la especie correcta (41 de 54 casos mal clasificados involucran capuchinos del sur). Un segundo DFA encontró diferencias significativas en los cantos aún cuando las especies externas a los capuchinos del sur fueron excluidas (λ de Wilk = 0.192, $\chi^2 = 154.18$, g.l. = 35, $p < 0.001$; Figura 2.3b). En este análisis, los valores de DFA1 fueron mayores para aquellos individuos cuyos cantos poseían sílabas que abarcan un pequeño rango de frecuencias, mientras que se obtuvieron altas puntuaciones de DFA2 para los individuos que produjeron cantos con sílabas más largas y complejas que abarcan un amplio rango de frecuencias (ver Tabla 2.3). El éxito de reclasificación de los cantos a la especie correcta fue bajo (51.5% de los casos clasificados correctamente con un total de 49 errores). Aunque existe solapamiento entre las vocalizaciones de los capuchinos del sur, se puede observar cierto grado de agregación entre puntos que

(a)



(b)



representan cantos de la misma especie (Figura 2.3b) y existen diferencias significativas en las puntuaciones de DFA1 entre varias especies (Figura 2.3c).

Figura 2.2: (a) Ejemplos de cantos de ocho especies de capuchinos del sur (exceptuando *S. nigrorufa*) y (b) de las cinco especies de *Sporophila* externas a los capuchinos del sur analizadas en este trabajo. Para *S. bouvreuil*, *S. caerulescens*, *S. castaneiventris*, *S. hypoxantha*, *S. minuta* y *S. ruficollis* se observó variación regional en los cantos. Esta figura ejemplifica un solo tipo de canto por especie. Todos los sonogramas se encuentran representados a escala.

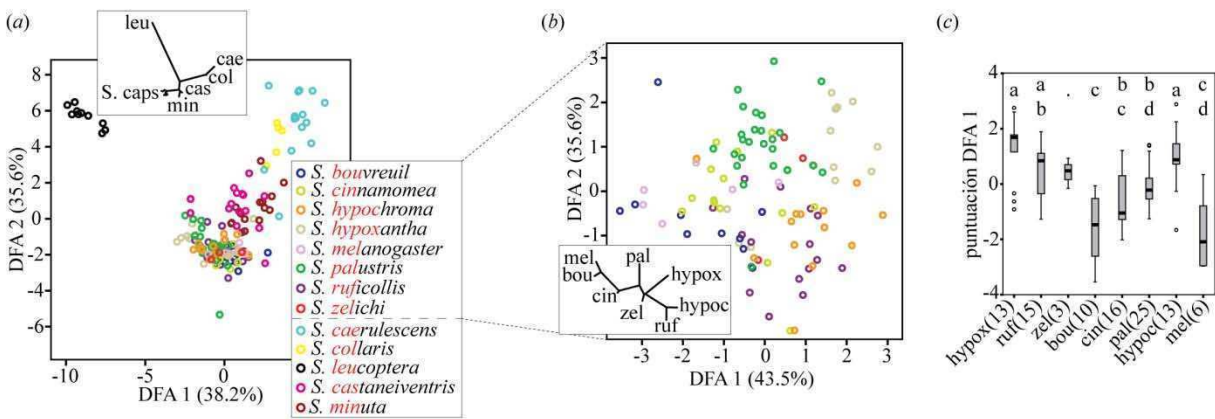


Figura 2.3: Diferencias en los cantos de varias especies de *Sporophila*. (a) DFA incluyendo todas las especies con un árbol de NJ construido a partir de distancias Euclidianas entre centorides de grupo (*S. caps*: capuchinos del sur). (b) DFA utilizando sólo las ocho especies de capuchinos del sur (árbol de NJ como en a). (c) Distribución de puntuaciones de DFA1 para las especies de capuchinos del sur (los tamaños muestrales se encuentran a continuación de los nombres de especie abreviados); aquellas especies que comparten la misma letra en la parte superior del panel no muestran diferencias estadísticamente significativas. Los puntos implican que no hay diferencias con otras especies. Todas las comparaciones significativas: $p < 0.001$; excepto por *S. palustris* vs. *S. bouvreuil*, *S. melanodera* vs. *S. ruficollis* y *S. palustris* vs. *S. hypoxantha* donde $p < 0.01$.

Tabla 2.2: Matriz de estructura con las 13 variables (de un total de 14) retenidas por el análisis de funciones discriminantes por pasos incluyendo todas las especies de *Sporophila* analizadas en este estudio. Las tres variables con la mayor correlación en cada función discriminante se muestran en negrita.

Variables	DFA1	DFA2
Tasa del canto	0.74	0.59
Duración de las sílabas	-0.60	-0.14
Número de elementos por sílaba	0.12	-0.19
Frecuencia mínima	0.04	-0.04
Sílabas con dúos internos	0.04	-0.12
Duración inter-sílaba	-0.42	-0.09
Diversidad de notas	0.36	-0.33
Frecuencia enfatizada	0.24	-0.03
Frecuencia máxima	0.32	-0.02
Modulaciones de frecuencia	0.15	-0.05
Largo del canto	-0.09	-0.01
Número de sílabas únicas	0.19	-0.02
Número de sílabas	0.02	0.03
Autovalor	8.39	7.82
% Varianza explicado	38.2	35.6

Tabla 2.3: Matriz de estructura con las cinco variables (de un total de 14) retenidas por el análisis de funciones discriminantes por pasos que incluyó sólo especies de capuchinos del sur. Las tres variables con la mayor correlación en cada función discriminante se muestran en negrita.

Variables	DFA1	DFA2
Número de elementos por sílaba	-0.53	0.42
Rango de frecuencias	-0.41	0.61
Sílabas con dúos internos	-0.18	0.53
Duración de las sílabas	0.18	0.59
Número de sílabas únicas	0.21	0.04
Autovalor	0.96	0.79
% Varianza explicado	43.5	35.6

Las especies de *Sporophila* difieren en sus cantos en el uso de las seis clases de sílabas (Figura 2.4a), siendo mayores las diferencias observadas entre capuchinos del sur y grupos

externos que dentro de los capuchinos del sur. La variación en el uso de cada tipo de sílaba dentro y entre especies fue evaluada utilizando un índice de similitud de Jaccard modificado (Chao et al. 2005) calculado entre pares de cantos. Dicho índice varía entre cero (cuando dos cantos no comparten sílabas de la misma clase) y uno (idéntico uso de las distintas clases de sílabas). El valor intraespecífico promedio fue de 0.87 (rango: 0.74-1), y el límite promedio inferior del intervalo de confianza del 95% fue de 0.84. Los valores interespecíficos variaron desde 0.95 (*S. palustris* vs. *S. zelichi*; dos especies que han sido consideradas por algunos autores como conespecíficas, ver Areta 2008) hasta 0.67 (*S. melanogaster* vs. *S. ruficollis*). El IC del 95% incluyó el uno sólo en el caso del par de especies para los cuales el número de muestras fue el más pequeño (*S. collaris* y *S. zelichi*), sugiriendo que todas las otras comparaciones de a pares presentaron diferencias estadísticamente significativas. Aproximadamente la mitad de los IC del 95% calculados para comparaciones entre especies de capuchinos del sur mostraron diferencias mayores que 0.84, el umbral impuesto por la variación intraespecífica (ver Figura 2.4b).

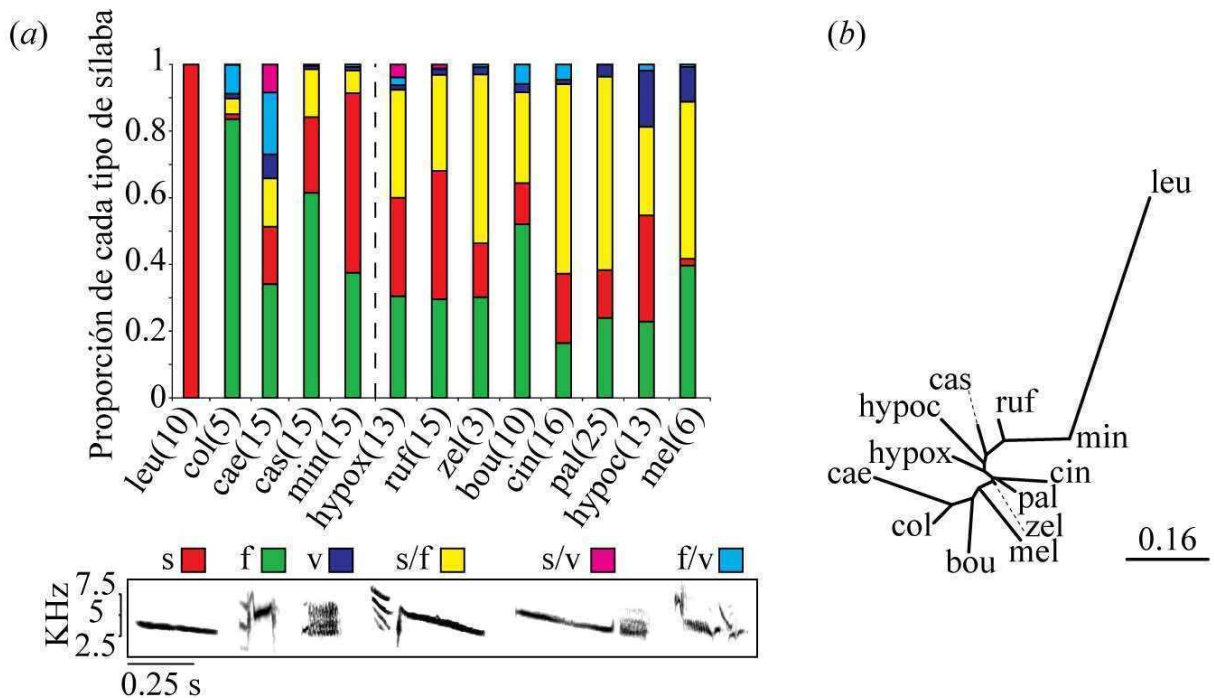


Figura 2.4: (a) Proporción de las seis categorías de sílabas usadas por diferentes especies (tamaños muestrales entre paréntesis). Ejemplos de sílabas de cada clase en el panel inferior (s: silbido; f: figura; v: vibrato; y combinaciones de estos). (b) Árbol de NJ derivado de una matriz basada en una transformación 1-x de un índice de similitud de Jaccard modificado calculado en base al uso de sílabas entre pares de especies. La escala representa el umbral de variación intraespecífica (el límite inferior del IC del 95% promediado a través de todas las comparaciones intraespecíficas).

2.4.2 Variación en los códigos de barras genéticos entre especies de capuchinos del sur y comparación con otras especies Neotropicales

Los tres métodos de reconstrucción filogenética confirmaron con valores de soporte altos que los capuchinos del sur son monofiléticos en relación a *S. castaneiventris* y *S. minuta* y los demás grupos externos. Sin embargo, no fue posible distinguir entre las especies de capuchinos del sur o resolver sus relaciones filogenéticas en ninguna de las tres topologías. La Figura 2.5 muestra la topología obtenida a través del análisis Bayesiano (no se muestran aquellas obtenidas por NJ o MP debido a que los resultados fueron idénticos). Los capuchinos del norte conforman un grupo polifilético, siendo *S. minuta* la especie hermana del clado de los capuchinos del sur mientras que *S. castaneiventris* se encuentra asociada a otros *Sporophilas* que no son capuchinos. Cuando se forzó la monofilia de los capuchinos se obtuvo un árbol Bayesiano donde los capuchinos del sur formaron un grupo monofilético dentro de los capuchinos del norte. En éste árbol *S. castaneiventris* es la especie hermana del grupo conformado por *S. minuta* y los capuchinos del sur, y por lo tanto los capuchinos del norte constituyen un grupo parafilético. Ambas topologías Bayesianas no difieren de manera significativa de acuerdo a una prueba de cociente de verosimilitudes [$2(\ln L1 - \ln L0) = 0.2$, g.l. = 1, $p > 0.1$].

La falta de resolución filogenética dentro del grupo de los capuchinos del sur no es sorprendente si se considera que las especies de este grupo comparten haplotipos y que algunos individuos presentan distancias K2P mayores al ser comparados con otros individuos de su misma especie que con representantes de otras especies del grupo. Esto puede observarse en la red de haplotipos (Figura 2.6), donde se muestran los 22 haplotipos de COI encontrados entre los 38 individuos de capuchinos del sur. Los haplotipos difieren en hasta 11 pasos mutacionales y el más común (F5) está presente en cinco de las nueve especies de capuchinos del sur (13 de los 38 individuos).

Las nueve especies de capuchinos del sur que no pueden ser distinguidas usando los códigos de barras genéticos representan un caso único entre las aves de Argentina (basado en el análisis de 500 especies, representando el 51% de la avifauna Argentina, Kerr et al. 2009). Por lo tanto, se comparó el patrón genético observado entre los capuchinos del sur con el del resto de la avifauna Argentina (Figura 2.7). La divergencia intra e interespecífica promedio y sus rangos son similares en los capuchinos del sur (K2P; 0.65% vs. 0.60% y 0.14-1.2% vs. 0.07-1.2%, respectivamente). La distancia intraespecífica más alta (1.9%) se observó para *S. bouvreuil*, la única especie politípica del grupo, al comparar la subespecie rufa (*S. bouvreuil bouvreuil*) con la blanca (*S. bouvreuil pileata*). Este resultado es consistente con un estudio que propone revisar el estado taxonómico de estas subespecies en base a diferencias en los patrones de coloración y distribución (Machado y Silveira 2011). La distancia intraespecífica promedio entre especies de capuchinos del sur es mayor que la de la mayoría de las especies Argentinas, un resultado llamativo dado que se cree que muchas de las especies con distancias intraespecíficas más grandes en realidad contienen más de un linaje merecedor de status específico (Areta y Pearman 2009, Kerr et al. 2009, Sanín et al. 2009). La distancia interespecífica promedio entre especies de

capuchinos del sur se encuentra en el extremo inferior de la distribución del resto de las comparaciones cogenéricas (Figura 2.7). La divergencia interespecífica observada para los capuchinos del sur se encuentra más cercana a la divergencia intraespecífica promedio que a la distancia interespecífica promedio de la avifauna Argentina (se obtuvo un resultado similar cuando se comparó solamente con el resto de los passeriformes de Argentina). Los capuchinos del sur son el único grupo de este tamaño que existe entre las aves Neotropicales estudiadas hasta el momento que no puede ser separado por sus códigos de barras (Vilaça et al. 2006, Chaves et al. 2008, Kerr et al. 2009, Tavares et al. 2011). Las restantes especies de *Sporophila* mostraron una diferencia marcada entre la distancia intraespecífica promedio y la divergencia interespecífica (K2P; 0.21%, rango 0.12-0.37% vs. 8.2%, rango 6.5-9.3%).

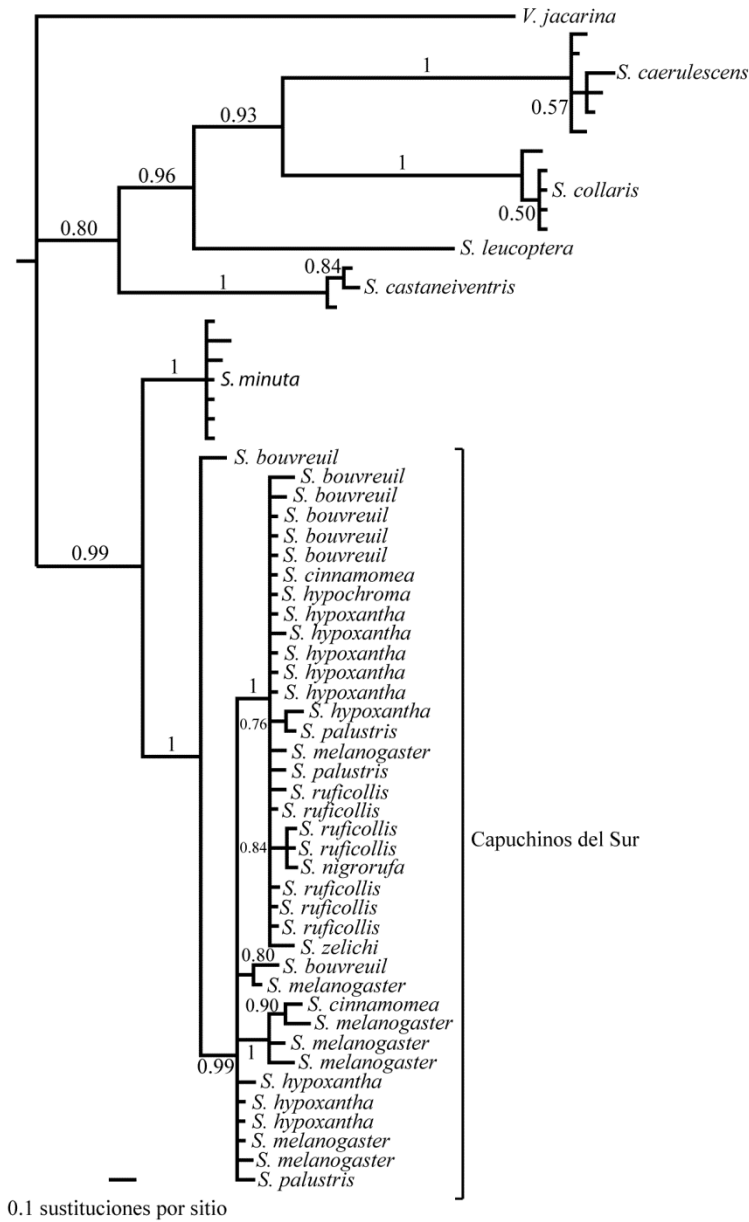


Figura 2.5. Análisis filogenético basado en 694 pb de COI. Árbol Bayesiano con probabilidades a posteriori indicando robustez de los nodos. Cuando los miembros de la misma especie forman un clado el nombre se indica una sola vez para simplificar la figura. Los valores de probabilidad a posteriori dentro de los clados conformados por individuos de la misma especie así como los de la mayoría de los nodos dentro del clado de los capuchinos del sur fueron omitidos para simplificar la figura.

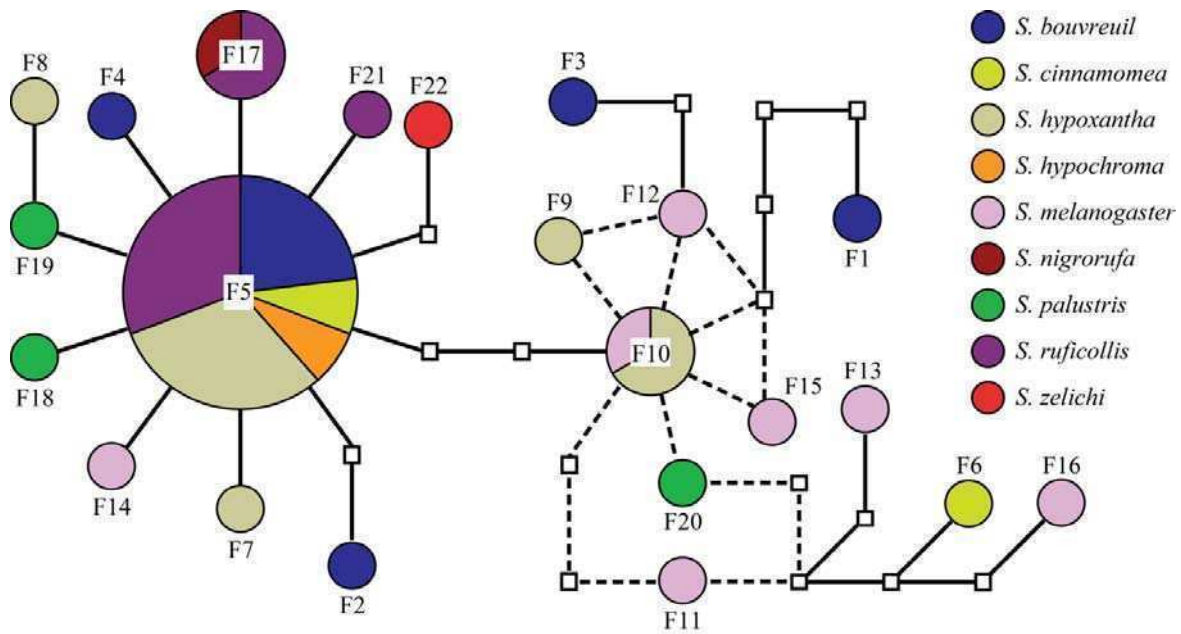


Figura 2.6: Red de haplotipos de máxima parsimonia sin enraizar mostrando conexiones con un 95% de probabilidad entre 22 haplotipos de COI obtenidos de 38 individuos pertenecientes a nueve especies de capuchinos del sur. Cada línea representa un cambio mutacional. Las líneas punteadas muestran conexiones alternativas que fueron resueltas de manera ambigua en el análisis. Los cuadrados vacíos representan haplotipos no muestreados o extintos. El área de cada círculo es proporcional al número de individuos con ese haplotipo. El haplotipo F5 está presente en 13 individuos, el F10 y el F17 en tres individuos y los restantes haplotipos se encontraron sólo en un individuo.

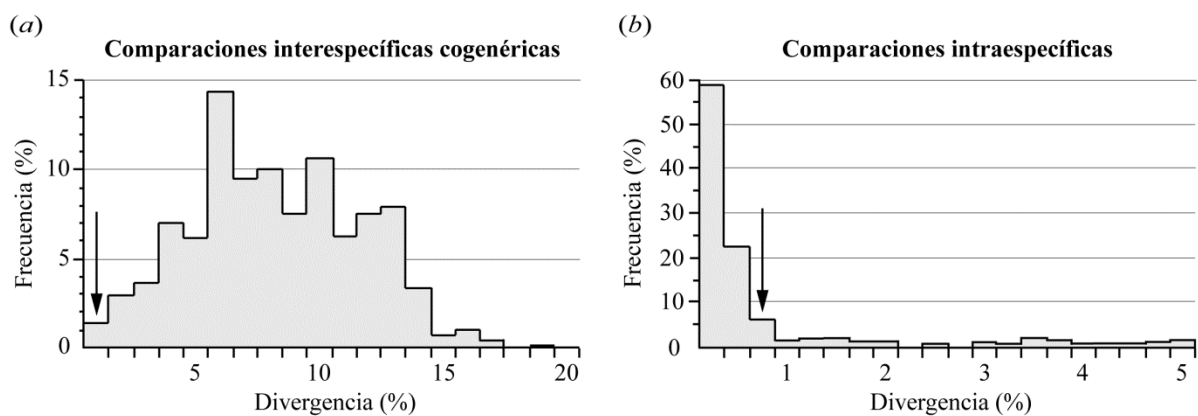


Figura 2.7: Distancia K2P intraespecífica e interespecífica cogenérica promedio para los capuchinos del sur comparada con aquellas de especies presentes en el conjunto de datos Argentino (excluyendo a los capuchinos del

sur). (a) Distribución de frecuencias de distancias interespecíficas cogenéricas. (b) Distribución de frecuencias de distancias intraespecíficas. La flecha indica la posición de los capuchinos del sur relativa a las demás especies del conjunto de datos de Argentina.

2.4.3 Baja diferenciación genética entre capuchinos del sur

Todos los análisis utilizando una variedad de marcadores genéticos neutrales revelaron niveles de diferenciación genética extremadamente bajos entre especies de capuchinos del sur. El árbol obtenido únicamente con COI (Figura 2.5) es similar a la topología resultante del análisis de tres regiones mitocondriales combinadas (COI, Cyt b y RC). Tanto los capuchinos como los capuchinos del sur son grupos monofiléticos robustos. *S. minuta* es la especie hermana a la radiación de los capuchinos del sur y los capuchinos del norte (*S. minuta* y *S. castaneiventris*) no constituyen un grupo monofilético. Si bien se incluyó la RC por su alta tasa evolutiva, ninguna de las especies de capuchinos del sur mostró ser monofilética en su ADN mitocondrial (Figura 2.8a). Los capuchinos del sur muestran valores de Φ_{ST} significativos con respecto a *S. minuta* (Figura 2.8b: promedio de 0.89 para COI; 0.76 para Cyt b; y 0.74 para CR; $p < 0.01$). *S. melanogaster* mostró valores de Φ_{ST} bajos pero significativos con respecto a otras dos especies de capuchinos del sur consistentemente para los tres marcadores mitocondriales: *S. hypoxantha* (COI: 0.24; y CR: 0.15) y *S. ruficollis* (COI: 0.47; Cyt b: 0.24; y CR: 0.26).

Los loci de ADN microsatélite variaron en sus niveles de polimorfismo, encontrándose entre tres (locus Gf08) y 40 (locus Mcy μ 4) alelos por locus en el total de las 231 muestras analizadas de individuos de *Sporophila*. La heterocigosidad intraespecífica observada promediada para los seis loci varió desde 0.58 (*S. cinnamomea*) hasta 0.72 (*S. castaneiventris*), con un valor promedio absoluto para todas las especies de 0.64. La heterocigosidad esperada varió desde 0.62 (*S.*

minuta) hasta 0.76 (*S. caerulescens*), con un valor global de 0.69. Se aplicaron correcciones secuenciales de Bonferroni a los resultados de las pruebas para detectar desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg y desequilibrio de ligamiento. Sólo tres de las 60 combinaciones de especies/locus mostraron desviaciones significativas del equilibrio de Hardy-Weinberg: en *S. bouvreuil* y *S. palustris* el locus Pdo μ 3 mostró exceso y defecto de heterocigotas respectivamente, mientras que en *S. caerulescens* el locus Gf12 mostró defecto de heterocigotas. Cuando se analizaron todas las muestras en su conjunto, sólo los loci Esc μ 6 y Gf05 permanecieron en equilibrio de Hardy-Weinberg, mientras que los demás mostraron defecto de heterocigotas pudiéndose deber al efecto Wahlund. Considerando sólo al conjunto de los capuchinos del sur, Pdo μ 3 fue el único locus que mostró desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg (defecto de heterocigotas), lo cual sugiere que las especies externas al grupo son responsables de la mayor parte de la estructura genética observada. Los loci Gf05 y May μ 4 se encontraron en desequilibrio de ligamiento en *S. cinnamomea*, *S. hypochroma*, *S. hypoxantha* y *S. ruficollis*. El par Gf12/Gf05 también mostró estar en desequilibrio de ligamiento en *S. hypoxantha*. Cuando todos los individuos fueron analizados de manera combinada, May μ 4 mostró estar en desequilibrio de ligamiento con todos los demás loci excepto Esc μ 6, lo cual también ocurrió con los pares Gf12/Gf05 y Pdo μ 3/Gf08. Estos mismos loci fueron utilizados en estudios previos en los que no mostraron evidencia de estar ligados (Croteau et al. 2007, Campagna et al. 2011b). Es posible que el desequilibrio observado haya sido causado por alelos que no fueron detectados o por alelos nulos.

El análisis de coordenadas principales (PCoA) no reveló estructura genética dentro de los capuchinos del sur (Figura 2.9a). A pesar de que el desequilibrio de ligamiento puede causar una sobreestimación en el cálculo del número de grupos genéticos hecho por Structure, los resultados

corroboran aquellos del PCoA, indicando que los capuchinos del sur comprenden un único grupo genético ($K=1$). Los valores de F_{ST} entre especies de capuchinos del sur fueron siempre menores a 0.01 y estadísticamente indistinguibles de cero (Figura 2.9b). Si bien los tamaños muestrales de los grupos externos son bajos y la señal genética puede haber sido borrada por la homoplasia, se encontró que casi todos los valores de F_{ST} y de distancia genética de Nei provenientes de comparaciones entre capuchinos del sur y grupos externos, o entre grupos externos eran mayores que aquellos derivados de comparaciones entre capuchinos del sur y estadísticamente significativos (Figura 2.9b y c).

Los capuchinos del sur no mostraron sitios diagnósticos en ninguno de los cinco marcadores nucleares y el árbol Bayesiano construido con secuencias de Numt2 no resolvió por debajo del nivel de los capuchinos (Figura 2.10a). Sin embargo, se observaron diferencias en las frecuencias de haplotipos y la mayor parte de las comparaciones entre capuchinos del sur y grupos externos mostraron valores de F_{ST} altos y estadísticamente significativos. También se observaron diferencias significativas entre *S. hypoxantha* y *S. ruficollis* (5' Numt2: 0.29; 3' Numt2: 0.15; y 5' MUSK: 0.36), *S. hypoxantha* y *S. cinnamomea* (3' Numt3: 0.51), y *S. palustris* y *S. ruficollis* (5' Numt2: 0.40) (Figura 2.10b).

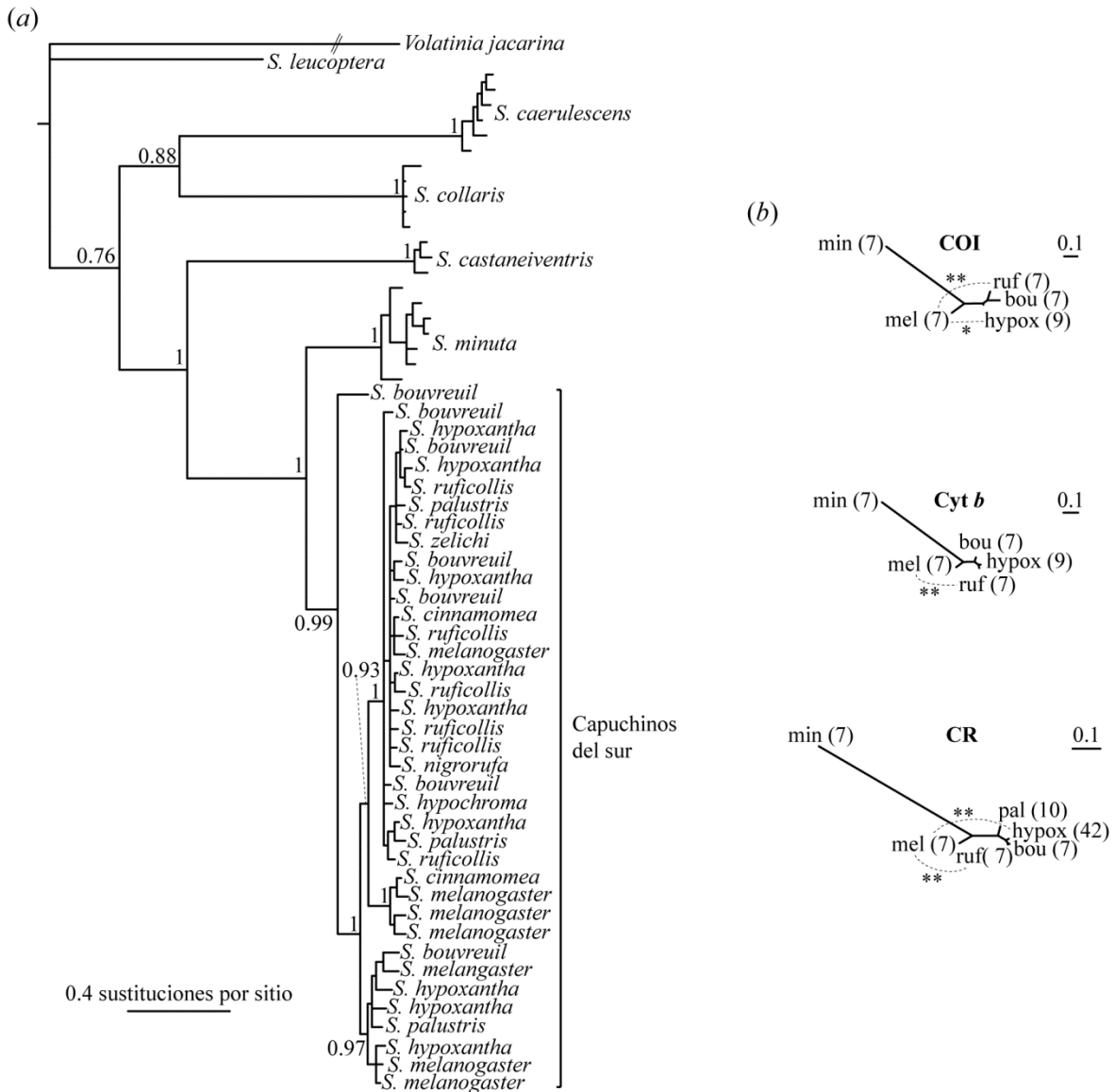


Figura 2.8: (a) Árbol Bayesiano con probabilidades a posteriori indicando robustez de los nodos (algunos se omiten para mayor claridad de la figura). Cuando los miembros de la misma especie forman un clado, el nombre se indica una sola vez para simplificar la figura. (b) Árboles de NJ construidos a partir de matrices de Φ_{ST} para cada locus mitocondrial por separado; los tamaños muestrales se indican entre paréntesis. Diferencias estadísticamente significativas entre especies de capuchinos del sur se indican mediante líneas punteadas (*p < 0.05; **p < 0.01; ***p < 0.001). Los nombres de las especies se abrevian como en la Figura 2.3.

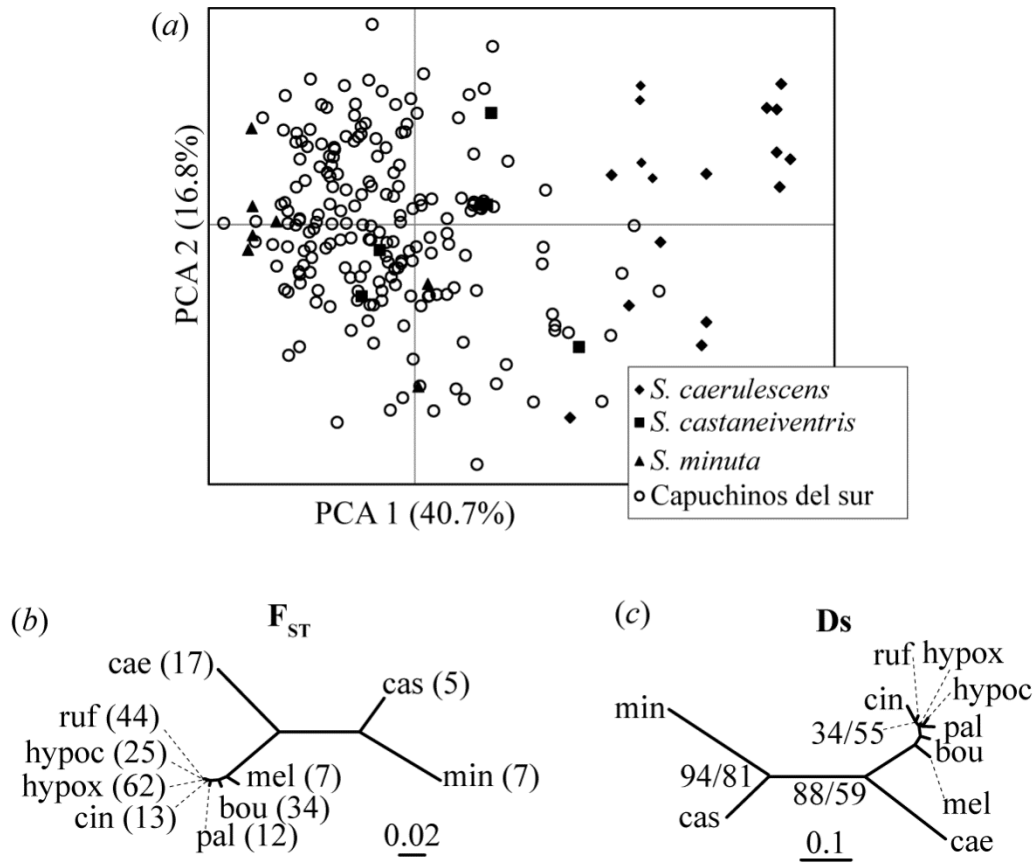


Figura 2.9: (a) Análisis de Coordenadas Principales utilizando distancias D_{SW} calculadas entre individuos de *Sporophila* genotificados para seis marcadores de ADN microsatélite. Como no se observó ningún patrón entre individuos de capuchinos del sur, todas las especies se representaron por medio de círculos blancos. (b) Árbol de NJ construido con matrices de F_{ST} y (c) distancia genética estándar de Nei; los tamaños muestrales se indican entre paréntesis. El soporte de los nodos del árbol basado en distancias de Nei se obtuvo realizando pseudoréplicas de bootstrap sobre individuos (izquierda) y loci (derecha); los valores se omitieron cuando ambos eran menores a 50.

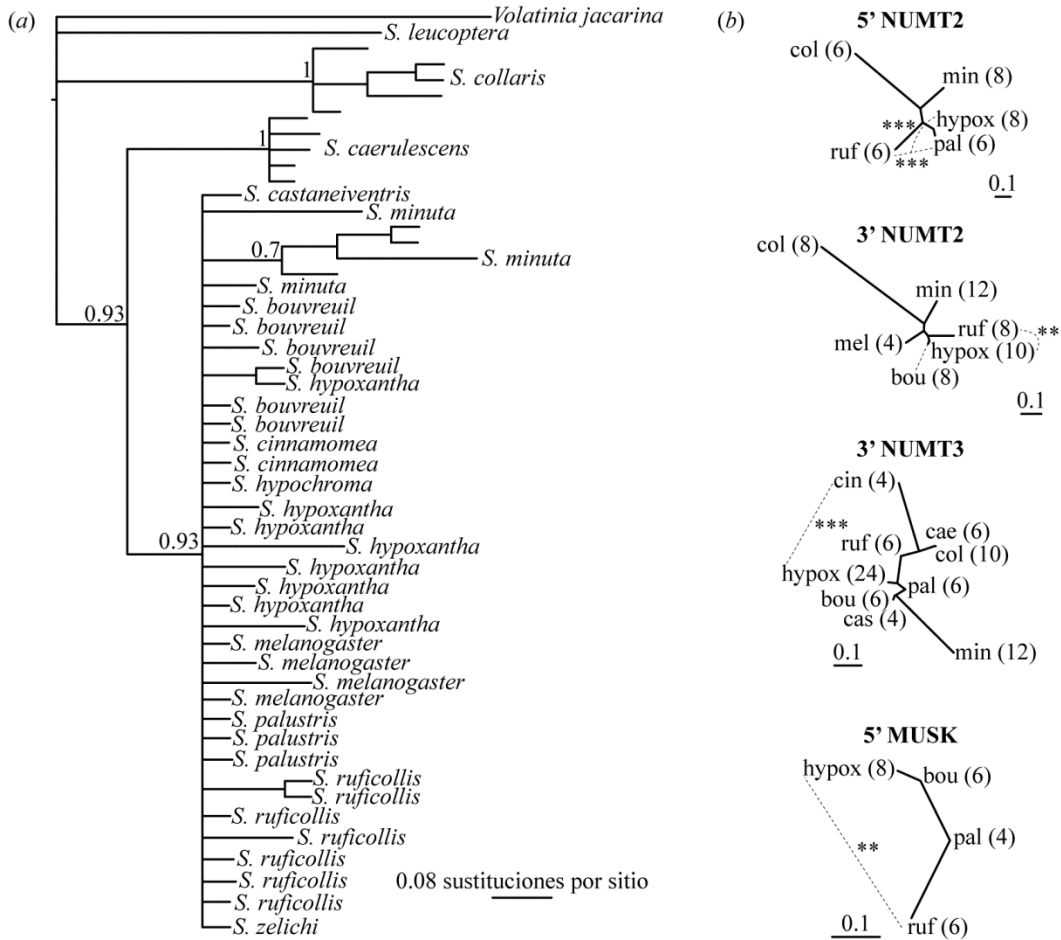


Figura 2.10: (a) Árbol Bayesiano construido con secuencias del marcador Numt2. (b) Árboles de NJ construidos a partir de matrices de F_{ST} obtenidas de frecuencias de haplotipos de intrones nucleares (sólo se representan aquellas que muestran diferencias estadísticamente significativas entre capuchinos del sur); el número de haplotipos usados se detalla entre paréntesis. Diferencias estadísticas y abreviaciones como en la Figura 2.8.

2.4.4 Historia demográfica del clado de los capuchinos del sur

El origen del clado de los capuchinos del sur data del Pleistoceno. El tiempo estimado al ancestro común más cercano (TMRCA) calculado usando el programa coalescente BEAST (aplicando una calibración del reloj molecular de 2.1% de divergencia por millón de años para

Cyt b, Drummond y Rambaut 2007, Weir y Schluter 2008) sugiere que el ancestro mitocondrial de todos los capuchinos del sur tiene una edad aproximada de 422000 (intervalo que abarca 95% de la distribución a posteriori: 211000 - 690000 años). La edad del ancestro entre el clado de los capuchinos del sur y la especie hermana (*S. minuta*) se estimó en 681000 años (intervalo que abarca el 95% de la distribución a posteriori: 409000 - 989000). Los análisis de IMA2 (Hey 2010) sugieren que hubo flujo génico considerable entre especies de capuchinos del sur (Tabla 2.4). En cambio, no hubo flujo génico entre el clado de los capuchinos del sur y la especie hermana *S. minuta*. El tiempo de divergencia promedio entre especies de capuchinos del sur calculado con IMA2 es de aproximadamente 110000 años antes del presente. El tiempo de divergencia estimado entre los capuchinos del sur y *S. minuta* es de hace aproximadamente 140000 años atrás. Estos resultados deben ser interpretados con precaución debido a que los parámetros del modelo fueron estimados con IMA2 usando una calibración aproximada del reloj molecular y una estrategia que no consideró a todos los capuchinos del sur interactuando al mismo tiempo en el modelo. Como consecuencia de estas dificultades, una interpretación conservadora de los datos es que, en líneas generales, los capuchinos del sur radiaron aproximadamente en el periodo que abarca entre el Pleistoceno medio y el presente. Las estimaciones del tamaño poblacional efectivo promedio actual para las especies de capuchinos del sur fueron aproximadamente nueve veces más grandes que el tamaño poblacional efectivo ancestral promedio (Tabla 2.4), sugiriendo la posibilidad de expansiones demográficas. Esto es consistente con resultados negativos y estadísticamente significativos de la prueba F_s de F_u para distintos marcadores en el clado de los capuchinos del sur (tomados en su conjunto) y para especies para las cuales los tamaños muestrales permitieron realizar la prueba (Tabla 2.5). El parámetro de crecimiento exponencial g fue positivo para el clado de los capuchinos del sur, *S.*

hypoxantha y *S. palustris*, brindando evidencia adicional de expansiones demográficas durante la radiación de los capuchinos del sur (Tabla 2.5).

2.4.5 Análisis de secuencias de MC1R, SLC45A2 y MELK en capuchinos del sur

Ninguno de los tres marcadores (MC1R, SLC45A2 y MELK) mostró posiciones diagnósticas para alguna de las ocho especies de capuchinos del sur analizadas o algún patrón genético diferente del observado para los marcadores neutrales utilizados en este estudio. Dicho resultado sugiere que estos genes no se encuentran implicados en la diferenciación fenotípica entre especies de capuchinos del sur. Las secuencias de MC1R fueron alineadas con secuencias de variantes normales y melánicas de *Coereba flaveola*. Las variantes normales de este gen poseen una G en la posición 274, mientras que las melánicas tienen una A que determina un cambio en el aminoácido 92 (Glu → Lys, Theron et al. 2001). Todas las secuencias correspondientes a capuchinos del sur poseían una G en la posición 274, al igual que las variantes normales de *Coereba flaveola*, indicando que el melanismo en *S. melanogaster* no es producto de dicha mutación.

Tabla 2.4: Estimaciones de tamaños poblacionales efectivos ancestrales y actuales ($N_{\text{ancestral}}$, N_A and N_B ; en unidades de x1000 individuos), tiempos de divergencia (t ; x1000 años) e hibridación con introgresión (m ; número de migrantes efectivos por año). Los parámetros fueron estimados en corridas realizadas de a pares de especies (o especies vs. grupos, como el conjunto de los capuchinos del sur) y se muestran los valores promedio así como los intervalos que abarcan el 95% de la distribución a posteriori. *S. caps*: capuchinos del sur.

A	B	N_A	N_B	$N_{\text{ancestral}}$	t	m
<i>S. minuta</i>	<i>S. caps</i>	101 (47-164)	248 (171-331)	26 (0-62)	140 (97-185)	0.1 (0-0.3)
<i>S. hypoxantha</i>	<i>S. caps</i>	416 (142-769)	461 (161-858)	151 (50-267)	101 (22-182)	12 (1-27)
<i>S. hypoxantha</i>	<i>S. ruficollis</i>	511 (60-1654)	489 (41-1763)	46 (3-108)	134 (60-213)	104 (4-201) ^a
<i>S. hypoxantha</i>	<i>S. melanogaster</i>	267 (56-584)	342 (33-1043)	31 (0-85)	59 (16-105)	23 (0-70)
<i>S. hypoxantha</i>	<i>S. palustris</i>	364 (114-679)	947 (104-2333) ^b	45 (4-104)	153 (82-227)	43 (4-97)
<i>S. hypoxantha</i>	<i>S. bouvreuril</i>	485 (47-1502)	360 (15-1674)	59 (0-125)	153 (51-265)	56 (10-115)
<i>S. ruficollis</i>	<i>S. melanogaster</i>	578 (11-1808)	483 (15-1580)	71 (0-120)	51 (0-121)	40 (0-126)
<i>S. palustris</i>	<i>S. bouvreuril</i>	1029 (58-2473) ^b	620 (36-2214)	35 (0-93)	136 (61-236)	96 (0-214)

^aPicos múltiples en la curva de probabilidad a posteriori.

^bLa curva de probabilidad a posteriori alcanza valores bajos pero no cero hacia el límite superior de la probabilidad a priori.

Tabla 2.5: Resultados de la prueba Fs de Fu y cálculos del parámetro de crecimiento exponencial g para el clado de los capuchinos del sur y aquellas especies para las cuales los tamaños muestrales eran mayores (número de haplotipos entre paréntesis). La prueba Fs de Fu se llevó a cabo sobre los loci mitocondriales y los haplotipos inferidos para las porciones 5' y 3' de los intrones nucleares. Los valores de p estadísticamente significativos (<0.05) se resaltan en negrita. Para g, la significancia estadística se evaluó por medio de intervalos de confianza. S. caps: capuchinos del sur.

	S. caps		S. hypoxantha		S. palustris		S. bouvreuil		S. ruficollis		S. melanogaster	
	Fs	P	Fs	p	Fs	p	Fs	p	Fs	p	Fs	p
RC	-25.75 (73)	0	-21.95 (42)	0	-4.43 (10)	0.003	-2.12 (7)	0.073	-3.65 (7)	0.008	0.18 (7)	0.449
COI	-8.07 (30)	0	-0.67 (9)	0.281	-	-	0 (7)	0.44	-0.44 (7)	0.15	-3.13 (7)	0.025
Cyt b	-24.37 (30)	0	-3.56 (9)	0.013	-	-	-2.94 (7)	0.031	-4.95 (7)	0	-3.03 (7)	0.026
5'Numt2	-7.68 (30)	0.001	-0.05 (8)	0.467	-4.17 (6)	0.001	-	-	3.36 (6)	0.937	-	-
3'Numt2	-9.29 (36)	0	-2.41 (10)	0.051	-	-	-0.62 (8)	0.203	-0.79 (8)	0.161	-	-
5'Fib5	-5.48 (78)	0.01	-1.95 (24)	0.078	0.81 (16)	0.693	0.05 (10)	0.489	0.67 (10)	0.656	-1.64 (8)	0.065
3'Fib5	-8.89 (92)	0.001	-3.15 (34)	0.038	-0.05 (12)	0.475	0.39 (10)	0.58	-1.61 (12)	0.101	-3.99 (14)	0.005
5'Numt3	-7.33 (42)	0.005	-4.65 (28)	0.026	2.13 (6)	0.811	-	-	-	-	-	-
3'Numt3	-9.08 (50)	0.002	-5.65 (24)	0.001	2.24 (6)	0.873	-1.42 (6)	0.114	1.02 (6)	0.686	-	-
5'MUSK	-7.33 (28)	0.01	0.72 (8)	0.62	-	-	-	-	-0.08 (6)	0.291	-	-
3'MUSK	-9.08 (28)	0.003	-1.04 (8)	0.167	-	-	-	-	-	-	-	-
5'CHD1Z	-7.33 (52)	0.01	0.54 (8)	0.432	-0.18 (8)	0.206	0 (6)	0.28	0 (6)	0.249	-0.48 (12)	0.021
3'CHD1Z	-3.09 (44)	0.009	-	-	-0.79 (8)	0.178	-	-	-	-	0.63 (6)	0.461
g	452.32**		753.17**		253.55**		-70.96 ns		263.97 ns		-89.13 ns	

**Intervalo de confianza del 99% no incluye cero.

* Intervalo de confianza del 95% no incluye cero.

ns, no muestra diferencias estadísticamente significativas.

2.5 DISCUSIÓN

Los capuchinos del sur muestran una enorme diversidad fenotípica (en coloración y canto) a pesar de niveles extremadamente bajos de diferenciación genética neutra y falta de monofilia recíproca en todos los marcadores genéticos utilizados. Nuestros análisis son consistentes con una expansión demográfica del clado y flujo génico entre algunas de las especies que lo componen. En su conjunto, sugerimos que este es un caso de una radiación continental extremadamente rápida, reciente e incompleta, con una marcada divergencia particularmente en el canto y los patrones de coloración de los machos. Pensamos que la retención de polimorfismos ancestrales y la hibridación con introgresión de genes son responsables del límite difuso entre estas especies, al menos en loci nucleares. No interpretamos que la falta de monofilia recíproca entre estas especies se deba a la falta de datos (Funk y Omland 2003) debido a que se observa un patrón similar para varios marcadores genéticos, con diferente forma de herencia, mecanismos mutacionales y tasas de divergencia. Llamativamente, los capuchinos del sur suman otro ejemplo a la lista de radiaciones rápidas de semilleros (ver por ejemplo Arnaiz-Villena et al. 1998, Grant 1999, Benkman 2003, Sorenson et al. 2003), brindando soporte adicional a la idea de que es posible que el fenotipo de semillero sea particularmente propenso a formar parte de procesos de especiación rápida y explosiva (Price 2007). En los siguientes párrafos discutimos nuestros resultados, argumentando que la práctica de reconocer varias especies de capuchinos del sur es correcta, y haciendo inferencias al respecto del origen del grupo, así como también de su posible futuro a la luz de las amenazas de conservación a las que se enfrenta.

2.5.1 ¿Los capuchinos del sur son especies incipientes?

Las especies de capuchinos del sur no pudieron ser diagnosticadas utilizando marcadores neutrales, una situación similar a la de algunos Pinzones de Darwin (Freeland y Boag 1999, Sato et al. 1999). Este resultado es esperable si los eventos de especiación ocurrieron recientemente y cercanos unos a otros y no implica que el grupo sea panmíctico. El patrón genético resultante se denomina hemiplasia (Avice y Robinson 2008) y es el resultado de eventos de especiación rápidos y explosivos que causan que los polimorfismos ancestrales persistan a través de los nodos del árbol de especies (Degnan y Rosenberg 2009). Este fenómeno limita la capacidad de datar los eventos de especiación, independientemente de las dificultades técnicas relacionadas con los programas utilizados y las calibraciones del reloj molecular. En este caso, la edad del ancestro entre los capuchinos del sur y la especie hermana (*S. minuta*) impone el límite superior del tiempo de especiación (datando aproximadamente del Pleistoceno medio). La falta de monofilia en los marcadores neutrales no implica que estas especies no sean entidades biológicas válidas. Diferencias en las vocalizaciones, plumaje, u otros caracteres morfológicos sujetos a presiones de selección (particularmente en poblaciones aisladas) pueden evolucionar rápidamente, creando un tiempo de retraso hasta que sea posible diagnosticar linajes en los marcadores neutrales (McKay y Zink 2010). Por lo tanto, las diferencias en los genes que generan los caracteres fenotípicos diagnósticos deberían delimitar las especies correctamente, a la vez que los marcadores neutrales muestran signos de retención de polimorfismos ancestrales y evidencia de introgresión (Wu 2001). Estrategias genómicas como el análisis de polimorfismos en el largo de fragmentos amplificados (AFLPs) o la tecnología de secuenciación de próxima

generación nos ayudarán a encontrar los genes implicados en la evolución de las diferencias fenotípicas entre capuchinos del sur.

Contrastando con la falta de diferenciación en marcadores neutrales, encontramos una marcada diversidad en el canto y el patrón de coloración de los machos, sugiriendo que las especies del grupo no son un artefacto taxonómico sino un ejemplo de una radiación incompleta. Evidencia adicional de esto son las diferencias crípticas de plumaje encontradas entre las hembras del grupo (Benites et al. 2010). Se requieren experimentos de playback para poner a prueba si las diferencias fenotípicas observadas en el grupo causan apareamiento preferencial entre especies. Hasta el momento, un análisis de la respuesta agresiva de machos al playback realizada entre *S. hypoxantha* y *S. palustris* sugiere que al menos estas especies de capuchinos del sur pueden distinguir el canto heteroespecífico del propio, virtualmente ignorando el primero (Benites et al. 2012). El trabajo futuro deberá focalizarse en las diferencias fenotípicas entre especies y su posible función como mecanismo de aislamiento reproductivo.

2.5.2 Posibles condiciones que favorecieron la radiación del grupo

Nuestros datos son consistentes con que los capuchinos del sur se hayan originado a partir de poblaciones pequeñas aisladas, expandiéndose luego para ocupar sus distribuciones actuales. La fragmentación del rango de distribución geográfico como consecuencia de las intrusiones marinas durante el Pleistoceno tardío, acelerado por la selección sexual, ha sido propuesto como una posible causa de la radiación de los capuchinos del sur (Lijtmaer et al. 2004, Nores 1989). Alternativamente, Fjeldså y Rahbek (2006) propusieron que requerimientos de un tipo de hábitat específico pudieron haber mantenido pequeñas poblaciones locales aisladas en distintos parches

de pastizal. Las reconstrucciones paleoclimáticas indican que los ambientes abiertos (caatinga, cerrado y sabana) dominaron el continente Sudamericano durante el último máximo glacial (hace aproximadamente 27000 años), acompañado por una retracción marcada de la selva húmeda (Clapperton 1993). Existe evidencia de que incursiones de aire polar desde el sur afectaron las temperaturas y el régimen de precipitaciones durante varios de los ciclos glaciales del Cuaternario, causando cambios en el largo de las estaciones secas y el ciclo entre las condiciones de clima preponderantemente seco y el clima húmedo. Se cree que estas condiciones causaron expansiones y regresiones de los ambientes abiertos y la selva húmeda que continuaron hasta entrado el Holoceno (Clapperton 1993, Servant et al. 1993, Ledru et al. 2005). La fluctuación en la prevalencia de la selva húmeda sobre los ambientes abiertos y vice versa y la interdigitación entre estos dos biomas puede haber contribuido a aislar pequeñas poblaciones en “islas” de ambiente propicio, o refugios de pastizal, en un escenario análogo al propuesto por la hipótesis de refugios de selva (Haffer 1969). Se cree que la contracción de los ambientes abiertos durante el Holoceno, causada por los cambios en la cobertura de la selva, afectó la composición de las comunidades de especialistas de sabana, llevando a la extinción a varios mamíferos de gran porte (de Vivo y Carmignotto 2004). Tanto las ingresiones marinas como las existencia de refugios de pastizal pueden haber contribuido a aislar pequeñas poblaciones ancestrales de capuchinos del sur, haciendo que sea difícil poder distinguir entre estas alternativas.

Sin dudas el futuro de los capuchinos del sur se encuentra ligado al uso de la tierra por parte del hombre. La expansión de la agricultura industrial representa una amenaza para los pastizales y sólo pequeñas áreas permanecen sin modificar (Eva et al. 2004), conllevando un riesgo para las especies de capuchinos del sur que son sensibles a la modificación del hábitat (Filloy y Bellocq 2006). El hecho que los capuchinos del sur hayan sido forzados a habitar los pequeños parches

de ambiente adecuado que aún persisten acarrea potenciales consecuencias para la viabilidad de pequeñas poblaciones con mecanismos de aislamiento reproductivo potencialmente permeables (Rhymer y Simberloff 1996), especialmente frente a la posibilidad de que formen híbridos. Es posible que la reproducción sintópica forzada aumente la probabilidad de que ocurra un error de imprinting con un individuo de otra especie, el cual eventualmente puede llevar a la hibridación (Grant y Grant 1996, 1997; Irwin y Price 1999). La teoría predice que las posibilidades de hibridación incrementan cuando las especies son forzadas a coexistir en pequeños parches de hábitat, con la disrupción del hábitat natural y cuando es difícil encontrar parejas de la misma especie (Hubbs 1955, Wirtz 1999, Randler 2002), como es el caso actual de muchas de las especies del grupo. Este último factor podría ser de especial relevancia para los capuchinos del sur dado que difieren en su abundancia, con especies como *S. hypoxantha* y *S. ruficollis* siendo mucho más comunes que *S. palustris*, *S. melanogaster*, *S. nigrorufa* o *S. zelichi*. Desafortunadamente el destino de este grupo único de aves podría no ser tan enigmático como su origen.

CAPÍTULO III

FILOGENIA MOLECULAR DEL GÉNERO PHRYGILUS: POLIFILIA EXTREMA EN UN GRUPO DE ESPECIALISTAS ANDINOS

3.1 RESUMEN

La enorme diversidad de aves Neotropicales ha sido considerada una consecuencia evolutiva de la variedad de hábitats y compleja topografía de los Andes. Existen explicaciones de cómo el contexto de los Andes pudo haber impulsado la diversificación de linajes (ej. vicarianza o especiación parapátrica a través de gradientes ecológicos verticales), sin embargo más estudios sobre especies Andinas son necesarios para revelar la importancia relativa de los diferentes procesos. En este capítulo se utilizan secuencias de ADN mitocondrial y nuclear para derivar la primer hipótesis filogenética de *Phrygilus*, uno de los géneros más diversos de passeriformes Andinos. Se encontró fuerte evidencia de que el género es polifilético, comprendido por cuatro clados distantemente relacionados y con al menos nueve otros géneros dispersos entre ellos (*Acanthidops*, *Catamenia*, *Diglossa*, *Haplospiza*, *Idiopsar*, *Melanodera*, *Rowettia*, *Sicalis* y *Xenodacnis*). Estos clados de especies de *Phrygilus* coinciden con grupos establecidos previamente principalmente en base a caracteres de plumaje, sugiriendo un único origen evolutivo para cada uno. Estudiamos la historia de diversificación de cada clado, analizando los tiempos de divergencia, reconstrucciones de rangos altitudinales ancestrales y distribuciones geográficas actuales. El origen de las especies que componen a *Phrygilus* data del Pleistoceno,

con representantes diversificándose dentro, desde y hacia los Andes. Finalmente exploramos si las especies de *Phrygilus* presentaban estructura filogeográfica, en especial aquellas con rangos altitudinales y latitudinales amplios dentro de los Andes. La especie mejor muestreada (*P. fruticeti*) no mostró un patrón filogeográfico claro; sin embargo, se encontraron linajes genéticos divergentes dentro de algunas de las especies analizadas, siendo *P. unicolor* el caso más extremo y merecedor de un estudio más detallado.

3.2 INTRODUCCIÓN

Únicamente el 13,6% de las especies de passeriformes Neotropicales pueden ser encontradas regularmente por arriba de los 3000 metros de altitud (Ridgely y Tudor 1989, 1994), siendo la proporción de oscines levemente mayor que la de suboscines (15.6% vs. 12.3%). Entre los oscines, aproximadamente un cuarto de las especies adaptadas a la altura pertenecen a tres géneros: *Diglossa*, *Hemispingus* y *Phrygilus*. *Asthenes* y *Muscisaxicola* comprenden un quinto de los suboscines adaptados a la altura. Si bien existen estudios filogenéticos para *Diglossa* (Mauck y Burns 2009), *Hemispingus* (García-Moreno 2001) y *Muscisaxicola* (Chesser 2000), las afinidades evolutivas dentro de *Asthenes* y *Phrygilus* no han sido investigadas aún. Este capítulo se centra en las relaciones evolutivas dentro de *Phrygilus*, un género que contiene 11 especies encontradas predominantemente en ambientes abiertos a lo largo de los Andes, desde Venezuela hasta Argentina (Ridgely y Tudor 1989, ver también la Tabla 3.1). El género presenta la ventaja de que abarca un amplio rango de alturas, incluyendo especies exclusivas de tierras bajas (ej. *P. carbonarius*), especialistas de altura como *P. dorsalis* y *P. erythronotus* que ocurren exclusivamente arriba de los 4000 m y especies como *P. plebejus* que abarcan todo el gradiente

altitudinal. Además, algunas especies del género poseen una amplia distribución latitudinal a lo largo de los Andes (ej. *P. alaudinus*, *P. fruticeti* y *P. unicolor*), mientras que otras tienen distribuciones pequeñas dentro de los Andes (ej. *P. dorsalis* y *P. erythronotus*). Las especies de *Phrygilus* con distribuciones altitudinales y geográficas amplias también son buenas candidatas para realizar estudios filogeográficos que podrían aportar ideas de cómo los Andes influenciaron la diversificación de linajes. Mientras que hasta el momento no se ha realizado un estudio filogenético del género, Klicka et al. (2007) incluyó cuatro especies de *Phrygilus* dentro de un estudio más amplio destinado a clarificar la taxonomía de la tribu Cardinalini. Si bien no todas los nodos relevantes mostraron un soporte robusto, dicho estudio sugiere que representantes de los géneros *Catamenia*, *Haplospiza*, *Diglossa* y *Sicalis* se encuentran dispersos entre las especies de *Phrygilus*. Ridgely y Tudor (1989) comentaron al respecto de las relaciones entre las especies de *Phrygilus*, dividiendo al género en cuatro grupos basados principalmente en caracteres derivados del plumaje (Tabla 3.1). Estos resultados sugieren que es necesario realizar un estudio filogenético de *Phrygilus*, incluyendo una prueba robusta de la monofilia del género.

En este capítulo se utilizan secuencias de ADN mitocondrial y nuclear para derivar la primera hipótesis filogenética para todas las especies de *Phrygilus*. La filogenia obtenida es luego usada para: 1) poner a prueba la monofilia del género; 2) poner a prueba la monofilia de cada uno de los cuatro grupos de plumaje definidos por Ridgely y Tudor (1989); 3) evaluar la monofilia a nivel de especie y cuantificar la diversidad genética dentro de cada especie; 4) estudiar la historia de diversificación del género en relación a los Andes; y finalmente, 5) se utilizó evidencia derivada de secuencias de ADN y loci de ADN microsatélite para explorar la estructura filogeográfica de *P. fruticeti*; una especie con distribución amplia a lo largo de los Andes y de Patagonia en general.

Tabla 3.1: Distribución y grupos de plumaje compuestos por especies de *Phrygilus* (basado en Fjeldså y Krabbe 1990, Ridgely y Tudor 1989).

Grupo de plumaje ^{a, b}	Especies (muestras)	Distribución geográfica ^c	Elevación (metros) ^d	Hábitat
Mayormente grises; hembras marrones con rayas. CLADO I.	<i>P. unicolor</i> (5)	Andes desde Venezuela hasta Patagonia	3000-4500, menor en el sur (G)	pastizales de páramo y puna; zonas de arbustos en alturas a las que no se encuentran árboles
	<i>P. plebejus</i> (6)	Andes desde Ecuador hasta el N Chile y Argentina	2500-4500, localmente a nivel del mar (G)	pastizales de páramo y puna
Pico amarillo, parte ventral gris o negra; hembras con rayas. CLADO II.	<i>P. alaudinus</i> (7)	Andes desde Ecuador hasta el centro de Chile y NO de Argentina	zonas bajas hasta aprox. 3500 (G)	áreas abiertas arenosas o con piedras, arbustos bajos y pastos dispersos
	<i>P. fruticeti</i> (29)	Andes desde Perú hasta N Chile y Argentina, Patagonia	2000-4000, nivel del mar en el S (G)	áreas con arbustos
	<i>P. carbonarius</i> (5)	Centro de Argentina	Estepa Patagónica (L)	estepas semiabiertas con arbustos
Con capucha (gris o negro); hembras poco llamativas. CLADO III.	<i>P. atriceps</i> (11)	Andes desde S Perú hasta N Chile y Argentina	principalmente arriba de 3000 (H)	laderas con arbustos y áreas semiabiertas en valles donde crecen cactus
	<i>P. gayi</i> (4)	Chile y Argentina	principalmente 1500-3500, localmente a nivel del mar (G)	Pastizales y bordes de bosques con vegetación arbustiva
	<i>P. punensis</i> (3)	Andes de Perú y NO Bolivia	2000-4000 (H)	laderas con piedras y arbustos
	<i>P. patagonicus</i> (5)	S Chile y Andes de S Argentina	nivel del mar hasta 1800 (L)	Bordes y zonas abiertas en bosques de <i>Nothofagus</i> , áreas despejadas con arbustos
Grandes, dorsal gris; ventral blanco, con negro, rufo o gris; sin diferencias entre sexos. CLADO IV.	<i>P. dorsalis</i> (1)	Andes de SO Bolivia, N Chile y NO Argentina	arriba de 4000 (H)	pastizales de altura en la puna y laderas con piedras
	<i>P. erythronotus</i> (3)	Andes de SO Bolivia y zonas adyacentes de Perú y Chile	arriba de 4000 (H)	pastizales de altura en la puna y laderas con piedras

^aGrupos definidos por Ridgely y Tudor (1989).

^bEn las figuras los grupos de plumaje se indican por su número de clado.

^cN, Norte; S, Sur; E, Este; O, Oeste.

^d(H), Especialista de altura; (L), Especies de zonas bajas; (G), Generalista. Para más detalles ver la sección 3.3.5.

3.3 MÉTODOS

3.3.1 Muestreo para análisis genéticos

Las muestras utilizadas en este estudio fueron colectadas por P Handford y SC Lougheed, obtenidas en varias expediciones organizadas por la División de Ornitología del MACN, u obtenidas en préstamo del Louisiana State University Museum of Natural Sciences. La mayor parte de las muestras provienen de especímenes con voucher (88%), mientras que las restantes fueron identificadas inequívocamente en el campo y por lo tanto incluidas en el estudio. Las 11 especies de *Phrygilus* se encuentran representadas en nuestro conjunto de datos y cuando fue posible se incluyeron múltiples individuos por especie (rango 1-29 individuos) y de tantas localidades dentro de su distribución como fue posible (rango 1–11) (ver detalles en Apéndice 2.1). La monofilia de cada una de las especies se evaluó utilizando el gen de la citocromo c oxidasa I (COI) debido a que este marcador es utilizado exitosamente para delimitar e identificar especies (Hebert et al. 2003). Varios estudios han demostrado que es posible utilizar secuencias de COI para identificar incluso especies cercanamente emparentadas o hermanas en diversos órdenes de aves (Vilaça et al. 2006, Chaves et al. 2008, Tavares y Baker 2008, Kerr et al. 2009, Tavares et al. 2011).

Con el objetivo de realizar una prueba rigurosa de la monofilia del género utilizamos los marcadores COI y citocromo b (Cyt b), lo cual permitió obtener secuencias disponibles en

repositorios públicos como Genbank (www.ncbi.nlm.nih.gov) y BOLD (www.boldsystems.org) (ver detalles en el Apéndice 2.2) de las presuntas especies externas al grupo. Se obtuvieron secuencias de aquellas especies consideradas cercanamente emparentadas con *Phrygilus* por Jønsson y Fjeldså (2006), Klicka et al. (2007) y Ridgely y Tudor (1989). Jønsson y Fjeldså (2006) incluyeron a *Phrygilus* junto con más de 20 otros géneros en “Passeroidea clade 13”, mientras que Ridgely y Tudor (1989) sugirieron que *Catamenia*, *Diuca*, *Idiopsar* y *Melanodera* eran las especies más cercanamente emparentadas con *Phrygilus*. Klicka et al. (2007) encontró soporte para la proximidad de algunos de estos géneros con especies de *Phrygilus* a la vez que dicho estudio agregó a *Sicalis* a la lista. Finalmente incluimos representantes de los géneros *Gubernatrix* y *Rowettia* debido a que existe evidencia indirecta de que estas especies podrían estar emparentadas con *Diuca* (Bertonatti y López Guerra 1997) y *Melanodera* (Ridgely y Tudor 1989), respectivamente. Luego de realizar análisis preliminares con los conjuntos de datos de COI y Cyt b, se seleccionaron especies candidatas sospechadas de hacer polifilético al género *Phrygilus*. Se obtuvieron muestras para aquellas especies seleccionadas que se encontraban representadas en la colección de tejidos de la División de Ornitología del MACN (ver Apéndice 2.1) para realizar un análisis filogenético más detallado. Se utilizó un individuo de *Sturnella loyca* para enraizar todos los árboles debido a que esta especie se encuentra inequívocamente por afuera del grupo de estudio (Jønsson y Fjeldså 2006).

Se obtuvieron secuencias de COI para todos los individuos muestreados y un subgrupo de individuos de cada especie de *Phrygilus*, perteneciente a diferentes localidades (entre tres y cinco cuando disponíamos de más de una) fue seleccionado para llevar a cabo un análisis con mayor número de marcadores mitocondriales y nucleares. Las especies seleccionadas como candidatas a

hacer polifilético al género *Phrygilus* también fueron incluidas en este conjunto de datos restringido.

3.3.2 Extracción de ADN, amplificación de marcadores moleculares y secuenciación

Las fuentes de ADN incluyeron músculo pectoral congelado, hígado o sangre. La extracción de ADN se realizó de la misma forma que se describe en la sección 2.3.3. Se amplificaron un total de 3925 pares de bases (pb) de cinco fragmentos de genes utilizando PCR. Se incluyeron tres regiones mitocondriales; COI (694 pb), Cyt b (922 pb) y la región control (RC, ≈1050 pb); un marcador ligado al cromosoma Z, el intrón 3 de la muscle skeletal receptor tyrosine kinase (MUSK, 678 pb); y un intrón autosómico, intrón 5 del gen de β -fibrinógeno (Fib5, 581 bp). Esta combinación comprende marcadores moleculares con un amplio rango de tasas de sustitución con el objetivo de lograr una buena resolución tanto en nodos profundos como recientes. La amplificación de COI siguió las condiciones descritas por Kerr et al. (2009). Las PCRs para Cyt b y RC se llevaron a cabo siguiendo las condiciones delineadas por Sato et al. (2001). Finalmente las condiciones de PCR de MUSK y Fib5 se detallan en la sección 2.3.3 y la Tabla 2.1 del capítulo II. La amplificación de MUSK no fue exitosa para la mayor parte de los grupos externos seleccionados y por lo tanto no se pudieron incorporar en el estudio secuencias de este marcador para dichas especies. Las secuencias de todos los primers con sus referencias originales, temperaturas de hibridación y concentraciones de $MgCl_2$ utilizadas para todas las PCRs se detallan en la Tabla 2.1.

Los productos de PCR se visualizaron y purificaron como se indica en la sección 2.3.3; luego fueron secuenciados bidireccionalmente usando los primers que se detallan en la Tabla 2.1.

Aproximadamente la mitad de las secuencias de COI fueron obtenidas en el Canadian Centre for DNA Barcoding (Guelph, Ontario, Canadá) como parte del proyecto de código de barras de las aves de Argentina. La secuenciación restante se llevó a cabo en el London Regional Genomics Centre (London, Ontario, Canadá) y la Unidad de Genómica, Instituto de Biotecnología, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA; Buenos Aires, Argentina). Todas las secuencias fueron depositadas en Genbank; para obtener los números de acceso ver el Apéndice 2.1.

3.3.3 Variabilidad genética y análisis filogenéticos

Las secuencias fueron alineadas usando BioEdit 7.0.9.0 (Hall 1999) y las distancias K2P para el conjunto de datos de COI se calcularon usando MEGA 4 (Tamura et al. 2007). Las distancias K2P se utilizaron para evaluar la divergencia intra e interespecífica dado que esta medida de distancia genética es adecuada en casos donde existen pocas sustituciones entre secuencias (Nei y Kumar 2000). Las secuencias mitocondriales codificantes fueron analizadas a ojo para verificar la ausencia de inserciones o deleciones y traducidas a secuencias de aminoácidos para confirmar que no poseían codones de terminación. Debido a que la señal filogenética puede variar en diferentes loci (Edwards et al. 2005), se construyeron árboles a partir de cada uno de los cinco marcadores elegidos y se los combinó para producir árboles de ADN mitocondrial (ADNmt: COI + Cyt b + CR), árboles de ADN nuclear (ADNnu: Fib5 + MUSK), y árboles multigénicos (incluyendo los 5 loci). En el análisis multigénico sólo se utilizaron aquellos individuos para los cuales se disponía de secuencias de al menos tres marcadores (incluyendo uno nuclear). No tuvimos acceso a muestras de tejido de *Melanodera xanthogramma* e *Idiopsar brachyurus* y sólo disponíamos de secuencias de Cyt b obtenidas de Genbank. Sin embargo, estas especies fueron

incluidas en los análisis multigénicos debido a que el árbol de Cyt b mostró evidencia de que se encuentran cercanamente emparentadas con *Phrygilus*. Los datos faltantes introducidos al incluir dichas especies en el análisis no impidieron que se obtenga una topología casi sin politomías. Se llevó a cabo un análisis filogenético Bayesiano con el programa MrBayes 3.1.2 (Huelsenbeck y Ronquist 2001, Ronquist y Huelsenbeck 2003) y uno de máxima parsimonia (MP) con TNT 1.1 (Goloboff et al. 2003). Para el análisis Bayesiano se seleccionó el modelo de evolución nucleotídica para cada partición (marcador molecular) con el programa jModelTest 0.1.1 (Guindon y Gascuel 2003, Posada 2008) como se describe en la sección 2.3.5. Se realizaron dos corridas de jModelTest para cada locus, una para las secuencias utilizadas para construir árboles de genes individuales y otra para el subgrupo de las primeras usado para construir el árbol multigénico. Si bien el número de secuencias de cada gen usado en el análisis multigénico fue menor que el usado en los análisis de genes individuales (especialmente en el caso del conjunto de datos de Cyt b y COI), los modelos que mejor ajustaron a los datos fueron los mismos en ambos casos. Para los conjuntos de datos de COI, Cyt b y MUSK se utilizó el modelo de Tiempo General Reversible (GTR, Tavaré 1986) con variación en la tasa de sustitución aproximada por una función gamma (+G) y una proporción de sitios invariantes (+I); para el conjunto de datos de RC se utilizó el GTR+G; y para el conjunto de datos de Fib5 se usó el modelo HKY (Hasegawa et al. 1985).

Cada topología fue obtenida realizando dos análisis Bayesianos independientes, con entre cuatro y seis cadenas y utilizando probabilidades a priori no informativas para todos los parámetros por entre siete y diez millones de generaciones. La convergencia de las corridas fue evaluada como se describe en la sección 2.3.5. Se muestrearon árboles cada 100 generaciones, descartando el 25% inicial de las muestras (17500 a 25000 genealogías) como burn-in. Para

obtener los árboles de ADNmt, ADNnu y el árbol multigénico los loci fueron concatenados y cada uno fue colocado en una partición diferente, bajo el modelo de evolución seleccionado por jModelTest. Las particiones fueron desligadas antes de comenzar el análisis, permitiendo obtener los parámetros por separado mientras se estimaba la distribución a posteriori de topologías. Finalmente, se obtuvo un consenso de mayoría al 50%.

La sensibilidad de las topologías al método de reconstrucción filogenética fue evaluada realizando un análisis de MP. Las búsquedas y evaluaciones de la robustez de los nodos se llevaron a cabo de la misma forma que se describe en la sección 2.3.4. Los datos fueron analizados dándole el mismo peso a las tres posiciones de cada codón y asignándole un peso dos, cinco y diez veces menor a la tercera posición. Los cuatro esquemas de pesos mostraron resultados similares por lo que sólo se muestran aquellos obtenidos mediante el esquema de pesos iguales.

3.3.4 Tiempos de diversificación

La edad de los nodos fue estimada usando el tiempo al ancestro común más cercano (TMRCA) con la metodología Bayesiana implementada en el paquete estadístico BEAUti/BEAST v1.4.8 (Drummond y Rambaut 2007). Las edades de los diferentes nodos fueron convertidas a tiempos absolutos usando el conjunto de datos de Cyt b y una calibración de 2.1% de divergencia por millón de años (Weir y Schluter 2008). El análisis se llevó a cabo por 100 millones de generaciones usando el modelo de sustitución nucleotídica GTR+I+G (la distribución gamma fue modelada utilizando cuatro categorías en las tasas de sustitución), asumiendo un tamaño poblacional constante y un reloj molecular relajado (uncorrelated

lognormal). Se confirmó la estabilidad en la estimación de los parámetros a lo largo de la corrida y que el número efectivo de muestras independientes (effective simple size) fuese adecuado con el programa Tracer v1.4 (Rambaut y Drummond 2007).

3.3.5 Reconstrucción de rangos altitudinales ancestrales

Las 11 especies de *Phrygilus* fueron clasificadas en tres categorías: especies de tierras bajas (L), especialistas de altura (H) y generalistas (G) (ver Tabla 3.1), de acuerdo a los rangos altitudinales descritos por Ridgely y Tudor (1989). Aquellas especies con rangos altitudinales que van desde el nivel del mar hasta los 1800 m se consideraron especies de tierras bajas, las especies con rangos que van desde el nivel del mar hasta los 3000 m se consideraron generalistas, y finalmente aquellas especies que ocurren principalmente por arriba de los 2000/3000 m (pero nunca a nivel del mar) se consideraron especialistas de altura. Estas categorías capturan la variación en los rangos altitudinales observada en el género y difieren de estudios previos de especies Andinas (Brumfield y Edwards 2007, *Thamnophilus*; Sedano y Burns 2010, *Tangara*) principalmente en el límite inferior de (H). Ambos estudios sólo incluyeron especies que ocurren raramente por arriba de los 3000 m, por lo que en ellos la categoría (H) abarca taxones que son encontrados por arriba de los 500 m. En un estudio reciente realizado en el Pato Maicero (*Anas georgica*), una especie distribuida a lo largo de los Andes que ocurre desde el nivel del mar hasta los 5000 m, McCracken et al. (2009) encontró evidencia de adaptación a diferentes presiones parciales de oxígeno en genes de globinas al comparar poblaciones de tierras bajas (<1809 m) con especialistas de altura (>3063 m). Por lo tanto, para nuestro estudio se fijó el límite inferior de (H) en 2000/3000 m debido a que es posible que estos

valores capturen restricciones fisiológicas que los especialistas de altura de *Phrygilus* puedan estar experimentando. Se utilizó el criterio de máxima parsimonia para optimizar este carácter de tres estados en la filogenia de *Phrygilus*, considerando a los estados ordenados en la secuencia (L) – (G) – (H), implicando dos pasos de (L) a (H). Creemos que esta es la secuencia más probable para la evolución de este carácter, desde un punto de vista fisiológico, ecológico y geológico. Debido a que se encontró evidencia de la polifilia del género *Phrygilus* (ver sección 3.4.1), los estados ancestrales del rango altitudinal fueron reconstruidos por separado utilizando T.N.T 1.1 sobre cada grupo monofilético de plumaje usando la topología multigénica. Como no tenemos la certeza de que nuestro estudio haya identificado todas las especies que hacen a *Phrygilus* un género polifilético, las especies hermanas de cada grupo de plumaje y por consiguiente el estado altitudinal de la raíz de cada clado fue considerado como desconocido. Para los clados I y IV las optimizaciones fueron triviales porque todos los miembros poseían el mismo estado del carácter.

3.3.6 Filogeografía de *Phrygilus fruticeti*

Los individuos fueron genotipificados para seis loci de ADN microsatélite desarrollados en diversas especies de passeriformes que mostraron tener varios alelos en *P. fruticeti* (ver detalles en la Tabla 2.1 del capítulo II). La amplificación de los marcadores y la genotipificación de los mismos se llevó a cabo como se indica en la sección 2.3.3.

Los cálculos de diversidad genética, pruebas de equilibrio de Hardy-Weinberg, desequilibrio de ligamiento y cálculos de F_{ST} se llevaron a cabo con Arlequin v3.5.1.2 (Excoffier y Lischer 2010). El grado de estructura genética dentro de la especie se evaluó con el programa Bayesiano

Structure v2.3.3 (Pritchard et al. 2000) que permite identificar el número de subpoblaciones K a las que mejor ajustan los datos. Se utilizó el modelo de ancestralidad mixta (admixture ancestry model) con frecuencias alélicas correlacionadas (Falush et al. 2003). El análisis se llevó a cabo con valores de K entre uno y cinco por 2200000 generaciones, descartando las 200000 iniciales como parte del periodo de burn-in.

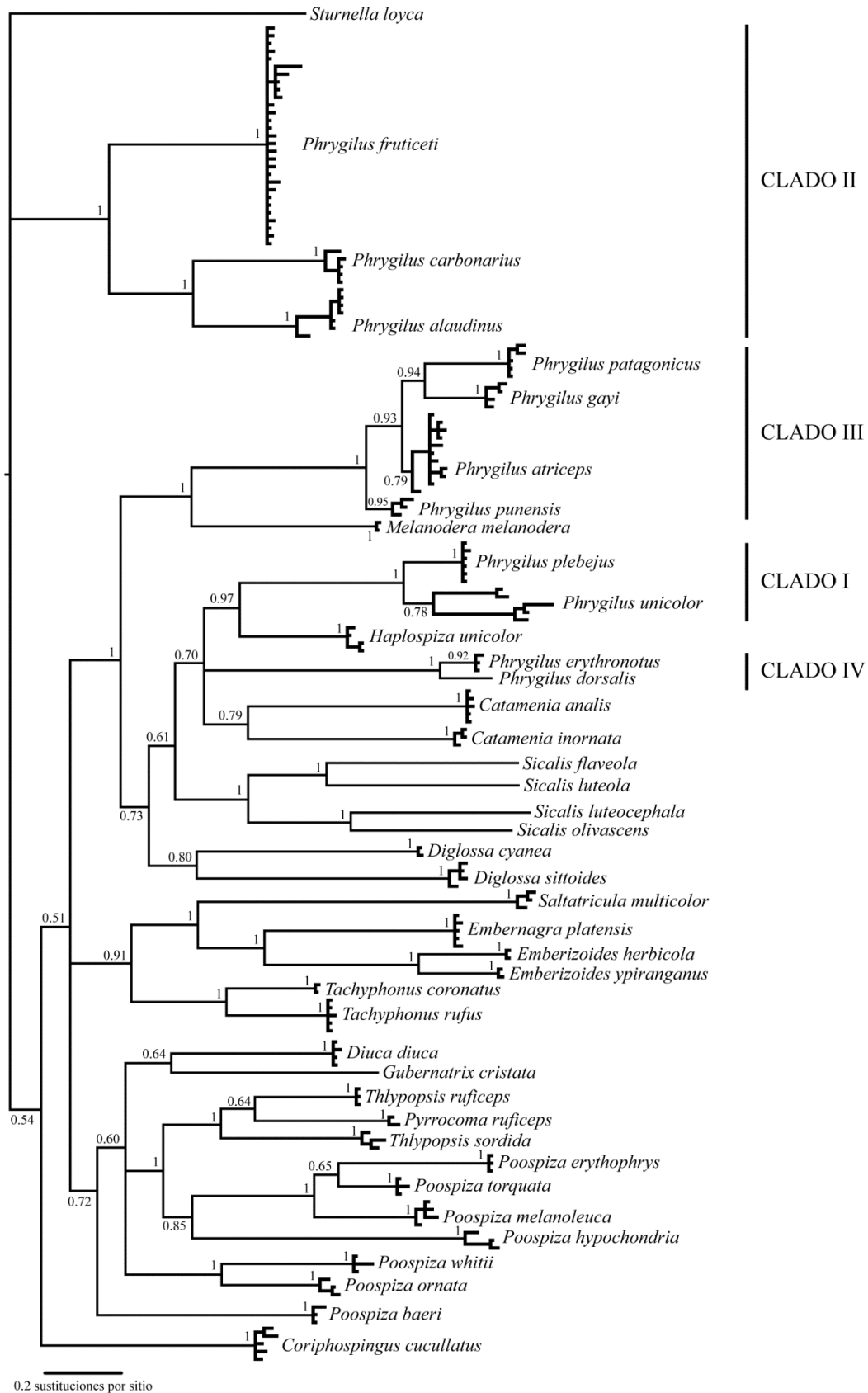
3.4 RESULTADOS

3.4.1 Phrygilus es un género polifilético

Los árboles Bayesianos de COI y Cyt b (Figuras 3.1 y 3.2 respectivamente) identificaron cuatro clados (I a IV) con alto soporte compuestos por especies de Phrygilus de entre las 86 especies pertenecientes a 31 géneros utilizadas como grupos externos. Estos clados coinciden con los grupos de plumaje propuestos por Ridgely y Tudor (1989) que se describen en la Tabla 3.1. Si bien algunos nodos no poseen valores de soporte alto (probabilidad a posteriori <0.95), ambos árboles sugieren que varias especies que no pertenecen a Phrygilus están cercanamente emparentadas con miembros del género, haciendo que Phrygilus constituya un género polifilético. El método de reconstrucción filogenética de MP no produjo topologías que resolvieran por debajo de los cuatro clados compuestos por especies de Phrygilus que coinciden con grupos de plumaje (estos árboles no se muestran). Con el objetivo de lograr una mejor resolución filogenética, se obtuvieron secuencias de tres loci adicionales (RC, Fib5 y MUSK) para un subgrupo de individuos de cada especie de Phrygilus y para aquellas especies sospechadas de hacer de Phrygilus un género polifilético. Exceptuando la topología producida

con secuencias del marcador MUSK, donde la mayoría de los grupos externos estaban ausentes, los árboles de genes obtenidos con estos nuevos marcadores también mostraron evidencia de la polifilia de *Phrygilus* (ver la Figura 1 del Apéndice 2.3). Mientras que las topologías producidas por RC y MUSK poseen alto soporte para los clados I a IV, la resolución con Fib5 fue baja y sólo brindó soporte para el clado IV (Figura 1 del Apéndice 2.3). La Figura 3.3 muestra la topología multigénica concatenada obtenida en el análisis Bayesiano (el análisis de MP produjo resultados similares, ver la Figura 2 del Apéndice 2.3). La topología obtenida por medio del análisis concatenado confirma con una probabilidad a posteriori de uno, que los géneros *Catamenia*, *Diglossa*, *Haplospiza*, *Idiopsar* y *Melanodera* se encuentran ubicados entre clados compuestos por especies de *Phrygilus*. Cuando se forzó la monofilia de *Phrygilus* se produjo una topología Bayesiana significativamente menos probable que aquella que se muestra en la Figura 3.3 (de acuerdo a una prueba de cociente de verosimilitudes, $[2(\ln L1 - \ln L0) = 480.24, g.l. = 1, p < 0.001]$). Además, la topología de la Figura 3.3 sugiere que los cuatro grupos de plumaje no se encuentran cercanamente emparentados, con nodos profundos dividiendo al clado II de los demás. Por último, se obtuvieron resultados similares cuando se concatenaron y analizaron por separado secuencias mitocondriales y nucleares (ver la Figura 3 en el Apéndice 2.3).

Figura 3.1: Árbol Bayesiano (consenso de mayoría al 50%) basado en 694 pb del gen de COI con probabilidades a posteriori indicando el soporte de los nodos. Los nombres de las especies se indican una sola vez para simplificar la figura y además se omitieron los valores de soporte de algunos clados intraespecíficos. Por lo tanto, aquellas terminales sin nombrar representan casos en los que se disponía de más de un individuo por especie e ilustran el nivel de divergencia intraespecífico. Los clados I a IV representan los grupos de plumaje definidos por Ridgely y Tudor (1989) detallados en la Tabla 2.1.



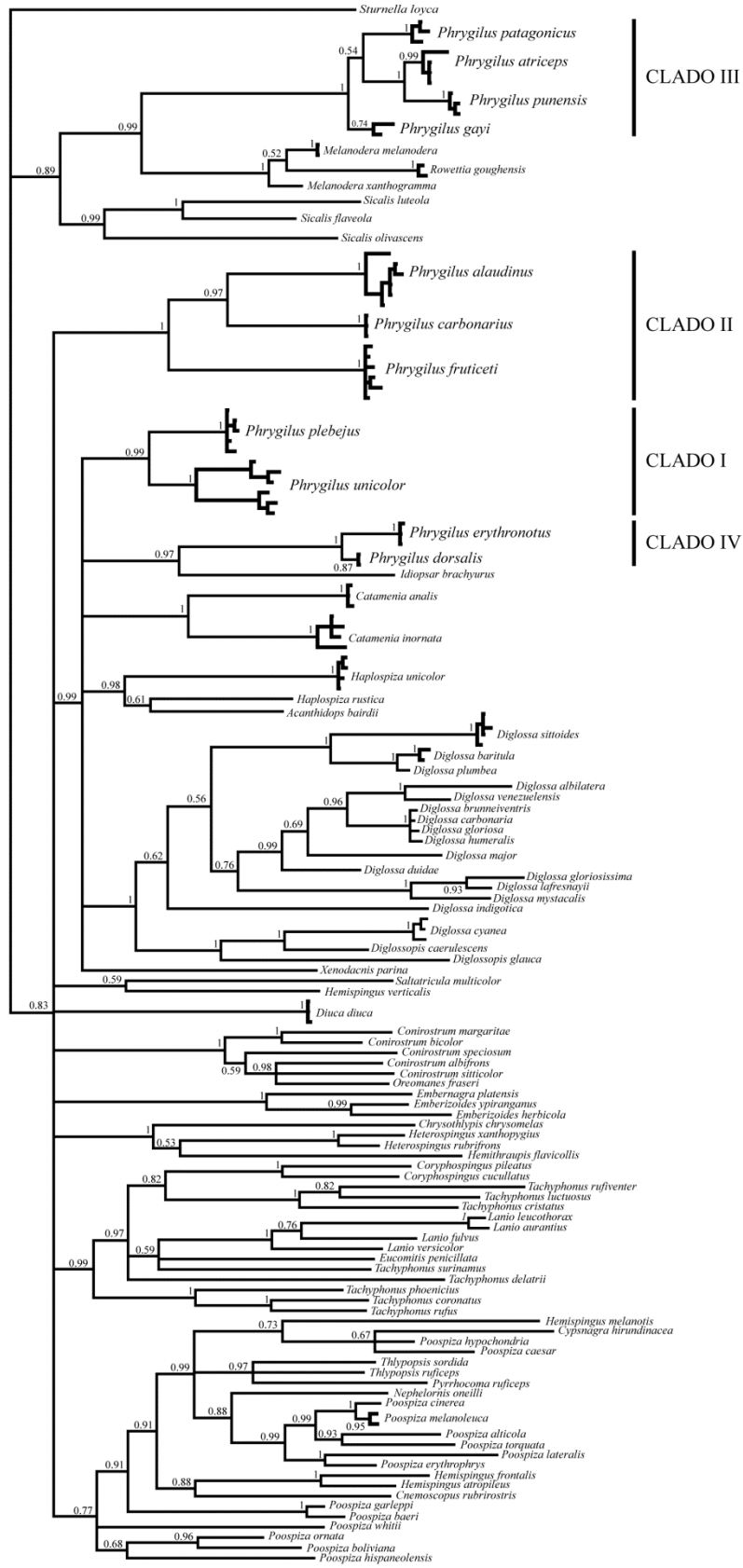


Figura 3.2: Árbol Bayesiano (consenso de mayoría al 50%) basado en 922 pb del gen de Cyt b con probabilidades a posteriori indicando el soporte de los nodos. Demás detalles como en la Figura 3.1.

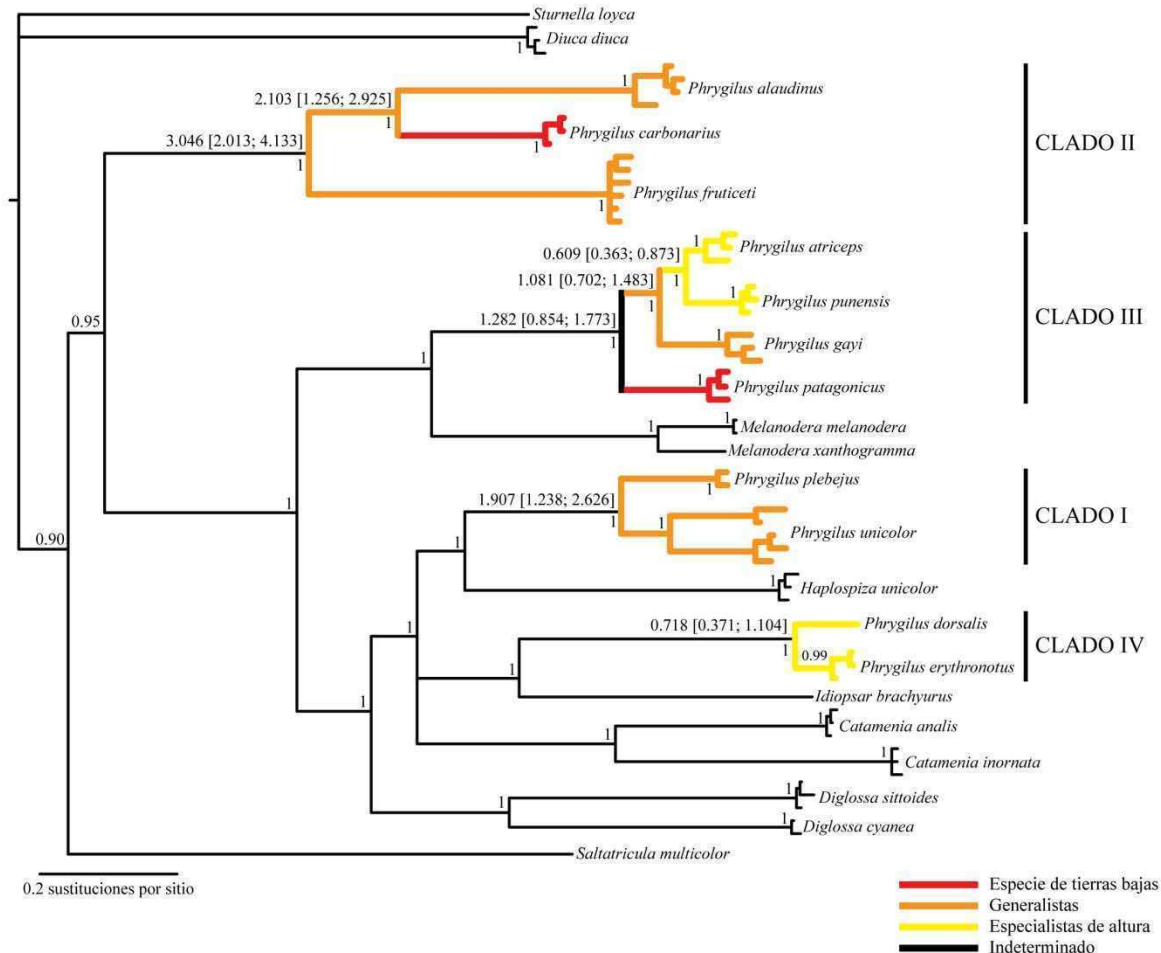


Figura 3.3: Árbol Bayesiano (consenso de mayoría al 50%) basado en 3925 pb del conjunto de datos multigénico concatenado (COI, Cyt b, CR, MUSK y Fib5) con probabilidades a posteriori indicando el soporte de los nodos. Los rangos altitudinales fueron mapeados y los estados ancestrales reconstruidos por separado sobre los clados I a IV utilizando MP. Las edades de algunos nodos dentro de los clados I a IV fueron estimadas usando el tiempo al ancestro común más reciente calculado con datos provenientes de secuencias de Cyt b y una calibración de 2.1% de divergencia por millón de años (Weir y Schluter 2008). Las estimaciones de tiempo se indican en millones de años antes del presente junto con sus límites del intervalo de confianza del 95% entre corchetes. Demás detalles como en la Figura 3.1.

3.4.2 Afinidades dentro de cada grupo de plumaje: tiempos de diversificación y reconstrucción de rangos altitudinales ancestrales

El árbol Bayesiano multigénico (Figura 3.3) resuelve con altos valores de soporte todos los nodos dentro de cada uno de los cuatro grupos de plumaje que se indican en la Tabla 2.1. Esta topología es idéntica con respecto a los clados I a IV a la obtenida para este mismo conjunto de datos utilizando el método de reconstrucción de MP (Figura 2 en el Apéndice 2.3), y no contradice ningún nodo con alto valor de soporte obtenido usando otras estrategias de análisis (árboles de genes individuales, ADNmt o ADNnu). Debido a que existe evidencia contundente de la polifilia del género, el análisis de los tiempos de diversificación y la reconstrucción de los estados ancestrales del rango altitudinal se limitó a los cuatro grupos de plumaje por separado. Los tiempos al ancestro común más cercano estimados utilizando el programa BEAST se indican en la Figura 3.3 junto con sus límites del intervalo de confianza del 95%. Los rangos altitudinales fueron mapeados y los estados ancestrales reconstruidos usando MP sobre la topología obtenida por medio del análisis multigénico (Figura 3.3).

Los clados I y IV están compuestos de especies hermanas que comparten el mismo estado en el rango altitudinal (generalista para el clado I y especialista de altura para el clado IV), sugiriendo que la diferenciación en el clado IV ocurrió en la altura. El clado IV es el más reciente dentro de los grupos de plumaje, con un tiempo de divergencia estimado en aproximadamente 0.7 millones de años (Ma) antes del presente, mientras que el clado I es más antiguo (aproximadamente 2 Ma), mostrando estructuración genética marcada dentro de *P. unicolor*.

El clado II es el grupo de plumaje más antiguo, con una edad estimada en 3 Ma antes del presente y una divergencia entre *P. alaudinus* y *P. carbonarius* calculada en aproximadamente 2 Ma. La topología de la Figura 3.3 sugiere que *P. carbonarius* ocupó las tierras bajas a partir de una condición ancestral de generalistas de altura.

Los nodos dentro del clado III se encuentran resueltos con alto grado de soporte en la Figura 3.3. Topologías alternativas, como aquellas obtenidas en los árboles Bayesianos de genes usando los datos de COI o Cyt b (Figuras 3.1 y 3.2), poseen bajo soporte (probabilidades a posteriori <0.95). Los árboles de genes de CR, MUSK y Fib5 así como la topología construida con los marcadores nucleares concatenados (ADNnu) no resuelven las afinidades entre las especies de cada clado (Figuras 1 y 3 en el Apéndice 2.3), posiblemente a raíz de la retención de polimorfismos ancestrales en los genes nucleares y la homoplasia en la región control. La evidencia sugiere que la adaptación a la altura es una condición derivada en este clado, con *P. punensis* y *P. atriceps* divergiendo en ambientes de altura alrededor de 0.6 Ma atrás. El estado altitudinal ancestral de este grupo no pudo ser resuelto debido a que depende del estado del carácter presente en la especie hermana del clado. Si efectivamente el clado compuesto por las especies de *Melanodera/Rowettia* es hermano del clado III (lo cual no es seguro, ver sección 3.5.1), el estado ancestral podría ser tanto especie de tierras bajas como generalista de altura (*Rowettia* y *M. melanodera* son especies de tierras bajas mientras que *M. xanthogramma* es un generalista de altura). La historia de diversificación de este clado sugiere una sucesión de especies desde las tierras bajas hacia los ambientes de altura; sin embargo el estado ancestral del carácter altitudinal para este grupo aún es incierto.

3.4.3 Monofilia a nivel de especie y divergencia intraespecífica

La distancia interespecífica promedio entre las especies de *Phrygilus* es de 11.3% K2P en COI, variando desde 2.5% en el par *P. punensis*/*P. atriceps* a un máximo de 14.7% en el par *P. gayi*/*P. alaudinus*. Si los clados I a IV son considerados por separado, la distancia interespecífica promedio es menor (clado I, 4.78%; clado II, 8.75%; clado III, 3.88%; y clado IV, 2.57%). El árbol Bayesiano de COI (Figura 3.1) indica que, exceptuando *P. dorsalis* para el cual se dispone de una sola secuencia de COI, todas las demás especies del grupo son monofiléticas. El árbol Bayesiano de Cyt b (Figura 3.2) confirma este patrón para todas las especies de *Phrygilus* (incluyendo *P. dorsalis*). Varias especies del grupo no han alcanzado la monofilia recíproca desde el punto de vista de los loci nucleares analizados (Figuras 1 y 3 en el Apéndice 2.3), posiblemente como consecuencia del mayor tamaño poblacional efectivo de estos marcadores (comparado con aquellos mitocondriales) y la retención de polimorfismos ancestrales. Finalmente, algunas especies muestran falta de monofilia recíproca en la RC (Figura 1 en el Apéndice 2.3), posiblemente como consecuencia de la homoplasia en este marcador altamente variable.

La distancia intraespecífica promedio es de 0.54%, variando desde 0.03% en *P. plebejus* a 3.04% en *P. unicolor*. Tres especies mostraron tener al menos un individuo difiriendo por más de 1% en distancia genética K2P de los demás individuos muestreados: *P. fruticeti* (promedio 0.37%; rango 0-1.4%), *P. alaudinus* (0.45%, 0-1.5%) y *P. unicolor* (3.04%, 0.3-5%). Estas tres especies de *Phrygilus* son las que ocupan los rangos geográficos más amplios (ver Tabla 3.1). Se observó una marcada divergencia dentro de *P. unicolor*, entre individuos del sur de Perú/norte de Argentina e individuos del norte de Perú, mientras que el individuo de *P. alaudinus* muestreado

en Perú difirió de aquellos obtenidos en Argentina. En este estudio se investiga la estructura filogeográfica encontrada en *P. fruticeti*; estudios futuros deberán llevarse a cabo para entender la causa de la divergencia en COI encontrada dentro de *P. alaudinus* y *P. unicolor*. Las distancias K2P inter e intraespecíficas para las diferentes especies se detallan en la Tabla 1 del Apéndice 2.3.

3.4.4 Estructura filogeográfica de *Phrygilus fruticeti*

Los individuos de *P. fruticeti* fueron agrupados en cuatro grupos de acuerdo a la localidad en la que fueron muestreados, abarcando todo el rango geográfico de la especie. Estos grupos son, de norte a sur: Perú, Jujuy, Catamarca y Río Negro (los últimos tres pertenecen a Argentina). El individuo muestreado en la provincia de Neuquén (Argentina) fue incluido junto con aquellos de la provincia adyacente de Río Negro. El individuo de Tacna (Perú) fue agrupado junto con aquellos de Lima (Perú), aunque esta localidad se encuentra aproximadamente a la misma distancia con respecto a Jujuy (Argentina); la inclusión de las muestras de Tacna en el grupo de Jujuy no alteró nuestras conclusiones. Se encontraron entre 7 (locus Pdo μ 3) y 20 (locus Esc μ 6) alelos por locus en los 29 individuos analizados. La heterocigosidad observada dentro de cada población promediada para los seis loci abarcó desde 0.53 (Catamarca) a 0.72 (Perú), con un valor promedio global de 0.66. La heterocigosidad esperada promediada para los seis loci varió desde 0.76 (Río Negro) a 0.83 (Jujuy), con un promedio global de 0.79.

Se aplicaron correcciones secuenciales de Bonferroni (Rice 1989) para los resultados de las pruebas para detectar desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg, desequilibrio de ligamiento y significancia estadística de las comparaciones de F_{ST} de a pares. Una sola

comparación de las 24 combinaciones posibles (de locus y poblaciones) mostró desviaciones de las proporciones alélicas esperadas por el equilibrio de Hardy-Weinberg: el locus Pdoμ3 mostró deficiencia de heterocigotas en Jujuy. Cuando todas las muestras fueron tomadas en su conjunto, Escμ6 y Pdoμ3 mostraron deficiencias significativas en el número de heterocigotas de acuerdo a lo predicho por el equilibrio de Hardy-Weinberg. No se encontró evidencia de desequilibrio de ligamiento analizando las cuatro poblaciones por separado o combinando todas las muestras. El mayor valor de F_{ST} se obtuvo entre el grupo de individuos del norte de la distribución de la especie y aquellos del sur (Perú vs. Río Negro, Tabla 3.2), aunque este valor no fue significativo luego de aplicar la corrección secuencial de Bonferroni. Cuando se calcularon los valores de Φ_{ST} usando haplotipos de COI (Tabla 3.3), se encontraron diferencias significativas entre Perú y Río Negro. Por último, los resultados usando el programa Structure sugieren que las poblaciones muestreadas componen una única población genética ($K = 1$).

Tabla 3.2: Valores de F_{ST} (debajo de la diagonal) y sus correspondientes valores de p (arriba de la diagonal) obtenidos comparando poblaciones de *P. fruticeti* de a pares utilizando datos de seis marcadores de ADN microsatélite. Ninguna comparación mostró ser estadísticamente significativa después de aplicar correcciones secuenciales de Bonferroni. Los valores de F_{ST} negativos deben interpretarse como cero. Los tamaños muestrales se indican en cada fila luego del nombre de la población.

	Río Negro	Jujuy	Catamarca	Perú
Río Negro (12)	-	0.28	0.74	0.045
Jujuy (9)	0.015	-	0.49	0.41
Catamarca (5)	-0.0032	0.019	-	0.19
Perú (3)	0.062	0.029	0.072	-

Tabla 3.3: Valores de Φ_{ST} (debajo de la diagonal) y sus correspondientes valores de p (arriba de la diagonal) obtenidos comparando poblaciones de *P. fruticeti* de a pares utilizando datos de frecuencia de haplotipos de COI.

Las comparaciones que fueron estadísticamente significativas luego de aplicar correcciones de Bonferroni se indican en negrita. Demás detalles como en la Tabla 3.2.

	Río Negro	Jujuy	Catamarca	Perú
Río Negro (13)	-	0.16	0.18	0.0017
Jujuy (8)	0.036	-	0.46	0.35
Catamarca (5)	0.054	-0.017	-	0.019
Perú (3)	0.40	0.039	0.40	-

3.5 DISCUSIÓN

En este capítulo utilizamos una combinación de marcadores moleculares y algoritmos de reconstrucción filogenética para poner a prueba de manera rigurosa la monofilia del género *Phrygilus* y proponer la primera hipótesis de la relación filogenética entre los miembros del género. Encontramos evidencia contundente de que *Phrygilus* es un género polifilético, compuesto por cuatro clados lejanamente emparentados. Estos clados coinciden con grupos de especies propuestos por Ridgely y Tudor (1989) basados principalmente en caracteres del plumaje, sugiriendo que estos tuvieron un solo origen evolutivo. Uno de nuestros objetivos iniciales fue estudiar la historia de diversificación del género en relación a los Andes; sin embargo debido a que *Phrygilus* no constituye un género monofilético el análisis se restringió sólo a los cuatro clados. A continuación se discuten las implicancias biogeográficas para la diversificación de los grupos de plumaje en relación a los Andes, examinando la evidencia de las edades estimadas de los nodos, la reconstrucción de los estados ancestrales de los rangos altitudinales y las distribuciones actuales de las diferentes especies. Por último, analizamos los patrones genéticos dentro de las diferentes especies de *Phrygilus*, particularmente en relación a *P. fruticeti* que fue estudiada en mayor detalle que las otras especies del grupo.

3.5.1 Polifilia de *Phrygilus*

En un trabajo previo utilizando evidencia derivada de una filogenia molecular, Klicka et al. (2007) sugirió que *Phrygilus* podría no ser un género monofilético. Nuestro árbol multigénico confirma que representantes de al menos otros cinco géneros se encuentran dentro del grupo que contiene a las 11 especies de *Phrygilus*. Si se tiene en cuenta que existe evidencia fuerte a favor de la monofilia de *Diglossa* (Mauck y Burns 2009) y asumiendo que *Catamenia* es monofilético (esto no ha sido estudiado hasta el momento y *C. homochroa* no fue incluida en nuestro estudio), al menos 26 especies se encuentran repartidas entre los miembros de *Phrygilus* (tres especies de *Catamenia*, 18 *Diglossa*, dos *Haplospiza*, un *Idiopsar*, y dos *Melanodera*). Esta lista no es exhaustiva dado que otras especies que no fueron incluidas en nuestro estudio podrían ubicarse por dentro del grupo interno. La lista de especies utilizadas como presuntos grupos externos en el conjunto de datos de COI y Cyt b derivó principalmente del meta análisis realizado por Jønsson y Fjeldså (2006), al cual le agregamos a *Diuca*, *Gubernatrix*, *Idiopsar*, *Melanodera*, *Rowettia* y *Sicalis*. El análisis de Jønsson y Fjeldså (2006) utilizó información de las filogenias moleculares de passeriformes publicadas hasta el momento, las cuales constituían sólo un 37% de las especies de este grupo. Además, luego de nuestro análisis inicial utilizando COI y Cyt b, seleccionamos un grupo de especies para las cuales disponíamos de muestras de tejido para el análisis multigénico. Esta estrategia nos obligó a no incluir géneros como *Acanthidops*, *Rowettia*, *Sicalis* y *Xenodacnis* que también podrían contribuir a la polifilia de *Phrygilus* de acuerdo a los árboles basados exclusivamente en marcadores mitocondriales (Figuras 3.1 y 3.2). La monofilia de los cuatro grupos de plumaje propuestos por Ridgely y Tudor (1989) recibió un soporte robusto, sugiriendo que los patrones de plumaje utilizados para describir dichos grupos tuvieron un único

origen evolutivo. En base a estos resultados, recomendamos que los clados I a IV de *Phrygilus* sean considerados géneros independientes o que sus miembros sean colocados en otros géneros ya existentes (siempre y cuando estos grupos continúen siendo monofiléticos en futuros estudios con mejor representatividad de grupos externos). Esta sugerencia implica que el clado III, que contiene a *P. gayi*, debe retener el nombre de *Phrygilus* dado que Cabanis (1844) utilizó a dicha especie para describir el género. Recientemente, el comité Sudamericano de clasificación (SACC), encargado de organizar la taxonomía de las aves Sudamericanas, se basó en estos resultados para sugerir un cambio en la taxonomía de *Phrygilus* (Remsen et al. 2011). La propuesta se encuentra actualmente bajo consideración y consiste en asignar las especies del clado I (*P. unicolor* y *P. plebejus*) al nuevo género *Geospizopsis*; aquellas del clado II (*P. alaudinus*, *P. carbonarius* y *P. fruticeti*) a *Rhopospina*; mantener a las especies del clado III (*P. atriceps*, *P. punensis*, *P. gayi* y *P. patagonicus*) en *Phrygilus*; y finalmente, incluir las especies del clado IV (*P. dorsalis* y *P. erythronotus*) junto con *Idiopsar brachyurus* en el género *Idiopsar*.

3.5.2 Diversificación de grupos de plumaje: implicancias biogeográficas

Si bien el nivel de polifilia de *Phrygilus* no permite realizar un análisis de la historia de diversificación del género, el análisis para cada grupo por separado aún provee información útil sobre la relación entre el origen de estas especies y los Andes. Para poder obtener conclusiones biogeográficas al respecto de la historia de diversificación de los clados I-IV es necesario hacer al menos dos supuestos. En primer lugar hay que asumir que la estimación de las edades absolutas de las especies y los eventos de diversificación es precisa. Se han propuesto varias calibraciones para la tasa de divergencia de secuencias de ADN mitocondrial en aves (Lovette

2004), siendo la más usada de 2% por millón de años obtenida inicialmente por Shields y Wilson (1987) usando datos de polimorfismos en el largo de fragmentos de restricción (RFLP) en gansos de los géneros *Anser* y *Branta*. Nosotros usamos el resultado similar obtenido recientemente por Weir y Schluter (2008) en aves de 2.1% de divergencia en secuencias de citocromo b por millón de años. El segundo supuesto es que los rangos actuales de las especies (geográficos y altitudinales) variaron poco con respecto a aquellos rangos ancestrales durante el periodo de especiación. Los eventos geológicos que producen eventos de vicarianza (como el surgimiento de montañas) por lo general tienen lugar en periodos de tiempo que son largos incluso con respecto a los tiempos de especiación, por lo que es incierto cuándo estas barreras fueron lo suficientemente importantes como para aislar poblaciones (Ribas et al. 2005). Por lo tanto, si ocurre un cambio en el rango de distribución de una especie luego de un evento de especiación (debido por ejemplo a la competencia con una tercera especie), es probable que se infiera de manera incorrecta que la dispersión o el cambio en el rango altitudinal contribuyeron al evento de especiación (Heads 2009). Las siguientes inferencias se encuentran condicionadas al cumplimiento de estos supuestos.

La adaptación a la altura (aquellas especies que se encuentran solamente por arriba de los 3000 m) ocurrió dos veces de manera independiente en la misma región del centro de los Andes (norte de Argentina y Chile, sur de Perú y Bolivia): dentro del clado III y en el clado IV. La divergencia entre *P. atriceps* y *P. punensis* data aproximadamente al Pleistoceno medio (clado III; ca. 0.6 Ma antes del presente) y ocurrió en la altura de los Andes centrales. Esta región ya había alcanzado su altura actual aproximadamente hace 6 Ma (Garzzone et al. 2008), sugiriendo que si en el proceso de especiación están implicados eventos de vicarianza, es más probable que hayan sido causados por las glaciaciones del Pleistoceno o por la influencia de éstas sobre los

patrones de vegetación que por procesos de orogénesis. Los mismos procesos pueden haber afectado a *P. dorsalis* y *P. erythronotus* que poseen un patrón de diversificación virtualmente idéntico, también dentro de la región de los Andes centrales (clado IV; ca. 0.7 Ma antes del presente). La divergencia entre estos dos pares de especies hermanas especialistas de altura constituyen los eventos de especiación más recientes dentro de los ocurridos en los cuatro grupos de plumaje, sugiriendo que quizás las glaciaciones del Pleistoceno hayan tenido un efecto mayor sobre la especiación de poblaciones restringidas a ambientes de altura, como fue propuesto por Weir (2006).

La divergencia entre *P. plebejus* y *P. unicolor* data del Pleistoceno temprano (clado I, ca. 1.9 Ma antes del presente); sin embargo, es difícil sacar conclusiones sobre el posible origen de este par de especies debido a que las distribuciones actuales de ambas abarcan la mayor parte de los Andes, desde Venezuela hasta Argentina y desde el nivel del mar hasta los 4500 m. *Phrygilus alaudinus* y *P. fruticeti* también poseen distribuciones geográficas y altitudinales amplias (la condición ancestral en el clado II); sin embargo, *P. carbonarius* parece haber ocupado las tierras bajas de Patagonia durante el Pleistoceno temprano (ca. hace 2 Ma). El Clado II es el más antiguo de los cuatro grupos de plumaje, datando del Plioceno (ca. hace 3 Ma).

El patrón de diversificación del clado III implica una sucesión de especies a lo largo de un gradiente altitudinal desde el sur hasta el centro de los Andes. Este clado data aproximadamente del Pleistoceno temprano (ca. hace 1.3 Ma atrás) cuando la mayor parte de los Andes había alcanzado su elevación actual (Garziona et al. 2008, Gregory-Wodzicki 2000), sugiriendo que las barreras físicas ya existían al momento de la especiación. Nuestros resultados sugieren que las especies del clado III se fueron adaptando a la altura mientras que se expandían en dirección norte hacia los Andes centrales. Es posible que este clado se haya originado en las tierras bajas

de Patagonia; sin embargo, no fue posible reconstruir de manera certera el rango altitudinal del ancestro de este grupo. Este patrón de diversificación es consistente tanto con especiación parapátrica a lo largo de un gradiente ecológico vertical (Endler 1977) como con eventos de vicarianza que ocurrieron luego de la orogénesis de los Andes.

Finalmente, Vuilleumier (1991) consideró que *P. patagonicus* y *P. gayi* eran especies hermanas y propuso que un cambio de hábitat entre ambientes de estepa (el ambiente más común donde pueden encontrarse las especies de *Phrygillus*) y el bosque de *Nothofagus* contribuyó al origen del especialista de *Nothofagus* *P. patagonicus* a partir de una población de *P. gayi*. En este estudio encontramos evidencia que sugiere que estas dos especies no son hermanas. Además, es necesario determinar de manera certera cuál es el clado hermano del clado III antes de poder inferir la dirección más probable del cambio de hábitat.

El estudio del patrón filogeográfico de cada especie de *Phrygillus* a lo largo de todo su rango geográfico es crucial para poder entender mejor los mecanismos por los cuales los Andes pudieron afectar la diversificación de las especies de este grupo. Comparaciones con otros grupos de especies con distribuciones similares en los ambientes abiertos de la región (por ejemplo los canasteros del género *Asthenes*) también ayudarán a comprender la relevancia y generalidad de estos procesos (Nelson y Platnick 1980).

3.5.3 Monofilia a nivel de especie y divergencia intraespecífica

Un mejor muestreo a lo largo del rango geográfico de una especie mejora la posibilidad de detectar estructuración genética a nivel poblacional y/o falta de monofilia recíproca. El esfuerzo de muestreo en este estudio no fue igual para todas las especies de *Phrygillus*, obteniéndose entre

una y 29 muestras por especie y analizando entre una y 11 localidades. Encontramos que la distancia genética promedio entre especies es alta (nunca por debajo de 2.5% K2P en COI), observando monofilia a nivel de especie en todos aquellos casos en que fue posible realizar dicha evaluación. Encontramos algunos casos de divergencia intraespecífica elevada, lo que sugiere la presencia de estructuración genética. Es interesante que las tres especies que poseen al menos un individuo con una divergencia mayor a 1% K2P en COI con respecto a los restantes miembros de la misma especie son aquellas que ocupan los rangos geográficos más amplios: *P. alaudinus*, *P. fruticeti* y *P. unicolor*. El caso más extremo fue el de *P. unicolor*, con una distancia intraespecífica promedio de 3.04% (rango: 0.3 a 5%). Este valor es comparativamente alto con respecto a distancias genéticas intraespecíficas obtenidas para otras especies de aves Neotropicales (Kerr et al. 2009, Campagna et al. 2010, Tavares et al. 2011). Kerr et al. (2009) comparó 500 especies de aves Argentinas, encontrando sólo cinco con una distancia intraespecífica máxima por arriba de 4.5% K2P en COI. Estudios posteriores mostraron que dos de estas especies, *Cinclodes fuscus* y *Upucerthia dumetaria*, poseían más de una especie (Areta y Pearman 2009, Sanín et al. 2009). Tomados en su conjunto, estos resultados resaltan la necesidad de un estudio que contemple la variación en *P. unicolor* a lo largo de toda su distribución, focalizándose particularmente en la región de los Andes centrales donde identificamos linajes divergentes. Es posible que en esta región también diverjan poblaciones de *P. alaudinus*, dado que nuestra muestra de Arequipa, Perú difiere en 1.5% K2P en COI de aquellas del norte de Argentina.

Finalmente, nuestro análisis de la estructura filogeográfica dentro de *P. fruticeti* no mostró una divergencia tan marcada como la observada en *P. unicolor*. Los cálculos de Φ_{ST} basados en frecuencias de haplotipos de COI mostraron un aislamiento significativo entre poblaciones de *P.*

fruticeti muestreadas en los extremos norte y sur de la distribución de esta especie. El mismo patrón fue observado en los valores de F_{ST} calculados en base a frecuencias de alelos de ADN microsatélite, aunque este resultado no mantuvo la significancia estadística luego de la corrección secuencial de Bonferroni. Cuando todos los individuos fueron analizados de manera conjunta, dos loci mostraron estar fuera del equilibrio de Hardy-Weinberg en la dirección de la deficiencia de individuos heterocigotas. Esto sugiere que existe un cierto grado de aislamiento entre poblaciones de *P. fruticeti* y que quizás nuestra capacidad de detectar estructuración genética fina esté limitada por los tamaños muestrales. Alternativamente, el patrón genético observado en *P. fruticeti* puede deberse a una combinación entre un origen reciente y una expansión rápida para ocupar el rango geográfico actual.

CAPÍTULO IV

DIVERGENCIA ENTRE PASSERIFORMES DE LAS ISLAS MALVINAS Y SUS RESPECTIVAS POBLACIONES CONTINENTALES: UN ESTUDIO FILOGEOGRÁFICO COMPARATIVO

4.1 RESUMEN

La colonización de islas oceánicas remotas por diversos organismos ha dado lugar al surgimiento de nuevas especies, un proceso que se evidencia en las numerosas especies endémicas en islas de todo el mundo. En este capítulo se explora si las islas Malvinas (IM), un archipiélago poco estudiado cercano a la costa Patagónica en el Atlántico Sur, albergan linajes genéticos endémicos de passeriformes. Nueve especies de passeriformes anidan de manera regular en las IM (*Cinclodes antarcticus*, *Muscisaxicola maclovianus*, *Troglodytes cobbi*, *Cistothorus platensis*, *Turdus falcklandii*, *Anthus correndera*, *Melanodera melanodera*, *Sturnella loyca* y *Carduelis barbata*). Exceptuando *C. barbata*, todas poseen subespecies endémicas de las IM, siendo *T. cobbi* una subespecie de *T. aedon*. Utilizamos ADN mitocondrial (secuencias de COI) para cuantificar y comparar la divergencia entre poblaciones continentales e insulares, encontrando que los patrones genéticos varían en estas nueve especies. La mayoría de los passeriformes de las IM no difieren significativamente de las poblaciones continentales, mientras que *C. platensis*, *M. melanodera* y *T. falcklandii* muestran niveles bajos de divergencia. Finalmente, *T. aedon* y *T. cobbi* difieren de forma marcada, tanto en marcadores mitocondriales

como nucleares pero también con respecto a sus vocalizaciones. También identificamos linajes con marcada divergencia dentro de las poblaciones continentales de *C. platensis* y *T. aedon*. En su conjunto, los resultados sugieren que estos passeriformes se establecieron en las IM a diferentes tiempos. *Troglodytes cobbi* es el passeriforme más antiguo del archipiélago, producto de la colonización de las IM por parte de un linaje de *T. aedon* durante la Gran Glaciación Patagónica del Pleistoceno.

4.2 INTRODUCCIÓN

Las Islas Malvinas (IM) constituyen el mayor archipiélago del Atlántico Sur, localizado unos 450 kilómetros al Noreste de la costa de Tierra del Fuego, en el extremo sur de Sudamérica. El archipiélago de las IM consiste de dos islas principales y aproximadamente 750 islas pequeñas, totalizando unos 12000 km² de superficie dominados por pastizales y arbustos. Las fluctuaciones en el nivel del mar durante los ciclos glaciales del Pleistoceno causaron que la distancia entre el continente y las islas variara. Durante el Último Máximo Glacial (UMG: aproximadamente hace 24000 años), el nivel del mar era 120 a 140 m por debajo del actual, causando que las IM formasen una única isla aproximadamente a 220 km del continente (Ponce et al. 2011). Además, la conectividad con el continente pudo haber estado facilitada por la existencia de una isla hacia el sur (ahora sumergida), la cual pudo servir como un punto intermedio entre Tierra del Fuego y las IM (Ponce et al. 2011). También se ha propuesto que durante el Pleistoceno (pero antes del UMG) pudo existir una conexión directa con el continente (Ponce et al. 2011). Como consecuencia de la proximidad con el continente (o posible conexión con el mismo), la biota de las IM es derivada de la de Patagonia, y en particular la de Tierra del Fuego (McDowall 2005,

Morrone y Posadas 2005). Las IM poseen especies endémicas, incluyendo varias especies de plantas vasculares (Woods 2000, McDowall 2005), numerosos invertebrados (McDowall 2005, Papadopoulou et al. 2009), el Pato Vapor Malvinero (*Tachyeres brachypterus*) (Woods y Woods 1997, 2006), y el recientemente extinto Zorro Malvinero (*Dusicyon australis*), que atrajo la atención de Darwin durante su visita a las islas (Darwin 1838, Slater et al. 2009).

Varias islas remotas del Atlántico Sur albergan especies endémicas de passeriformes. *Anthus antarcticus* habita los $\approx 4000 \text{ km}^2$ de la isla de Georgia del Sur, *Rowettia goughensis* es endémica de los 65 km^2 de la Isla de Gough, y dos especies de *Neospiza* radiaron in situ en los $\approx 200 \text{ km}^2$ del archipiélago de Tristán de Acuña (Ryan et al. 2007). Las IM son el mayor archipiélago de la región, sin embargo no poseen especies endémicas reconocidas de passeriformes (Renssen et al. 2011), quizás debido a que su proximidad con el continente permite elevados niveles de flujo génico que impiden la divergencia. La avifauna de las IM consiste de más de 200 especies (Woods y Woods 1997, 2006), incluyendo varios passeriformes presentes en Patagonia, aunque la mayoría son visitantes ocasionales que no reproducen en las islas (Woods y Woods 1997; Renssen et al. 2011). Sólo nueve especies reproducen regularmente en las IM: *Cinclodes antarcticus antarcticus*, *Muscisaxicola maclovianus maclovianus*, *Troglodytes cobbi*, *Cistothorus platensis falklandicus*, *Turdus falcklandii falcklandii*, *Anthus correndera grayi*, *Melanodera melanodera melanodera*, *Sturnella loyca falklandica* y *Carduelis barbata* (Woods y Woods 1997, 2006). Todos excepto *Carduelis barbata* son subespecies que se encuentran exclusivamente en las IM, y salvo quizás por *Troglodytes cobbi* no muestran diferencias morfológicas marcadas con respecto a las respectivas poblaciones continentales (Woods y Woods 1997, 2006). Actualmente, *Troglodytes cobbi* es considerada conespecífica de *Troglodytes aedon* (Renssen et al. 2011), pero ha sido sugerido que merece estatus de especie en

base a diferencias morfológicas (tamaño y forma), plumaje, comportamiento y ecología (ver Woods 1993, Kroodsma y Brewer 2005).

Sólo un estudio ha comparado el patrón filogeográfico entre poblaciones continentales e insulares de especies de aves de las IM. McCracken y Wilson (2011) encontraron diferencias genéticas significativas entre poblaciones continentales e insulares de Pato Barcino (*Anas flavirostris*) a pesar de existir flujo génico del continente a las islas, sugiriendo que también podrían haber linajes divergentes de especies terrestres menos vágiles en las IM. Nuestro estudio es el primero en usar secuencias de ADN mitocondrial o nuclear o grabaciones de vocalizaciones para comparar las poblaciones de passeriformes de las IM con sus respectivas poblaciones continentales. Exploramos si la condición de islas oceánicas de las IM contribuyó al aislamiento de estas poblaciones de aves, poniendo a prueba si la posible especie endémica (*T. cobbi*) y las siete restantes subespecies de passeriformes (ver arriba) representan linajes genéticos independientes de aquellos continentales. Específicamente, usamos secuencias de ADN para: 1) cuantificar la divergencia entre poblaciones continentales e insulares de los passeriformes de las IM; 2) Comparar los patrones filogeográficos de estas especies para obtener conclusiones al respecto de la historia de colonización de las islas; y 3) Poner a prueba si *T. cobbi* constituye una especie endémica de las IM, combinando evidencia genética y derivada del análisis de vocalizaciones.

4.3 MÉTODOS

4.3.1 Muestreo para análisis genéticos

Las muestras usadas para los análisis genéticos fueron colectadas por JJH St Clair u obtenidas durante campañas de colecta organizadas por la División de Ornitología del MACN. Algunas muestras fueron obtenidas de pieles de estudio depositadas en la colección del MACN. Las nueve especies de passeriformes que reproducen regularmente en las IM (Woods y Woods 1997) fueron incluidas en nuestro estudio, representadas por una a 69 muestras continentales y de una a 11 insulares por especie. Para las poblaciones continentales, incluimos un promedio de siete localidades (rango = 1-30), mientras que la mayoría de las muestras insulares fueron obtenidas de la Isla de los Leones Marinos en las IM. Para la mayor parte de las muestras continentales un voucher consistiendo de una piel de estudio, esqueleto o espécimen en etanol fue depositado en el MACN o en otra institución. Aquellos individuos para los cuales se obtuvieron muestras de sangre fueron identificados de manera certera en el campo y por lo tanto también fueron utilizados. Detalles de las muestras usadas en este estudio pueden verse en el Apéndice 3.1. Las localidades de muestreo (ilustradas en la Figura 4.1) fueron agrupadas por proximidad geográfica o con respecto a barreras geográficas (ej. la cordillera de los Andes) para poder mostrar los resultados claramente. De norte a sur, las muestras fueron asignadas a ocho grupos: Bolivia (BOL); Jujuy, Argentina (JUU); Noreste de Argentina (NEA); Argentina Central (CEN); Chile (CHI); Patagonia Central, Argentina (CPA); Tierra del Fuego, Argentina (TDF); Islas Malvinas (IM). Dentro de las poblaciones continentales de *C. platensis* y *T. aedon* se observó estructura filogeográfica (ver Resultados), e incluso dentro de algunos de los grupos de

localidades. En estos casos, distintos linajes genéticos fueron observados coexistiendo dentro de la misma localidad o localidades vecinas, sugiriendo que al agrupar localidades para simplificar la forma en la que se presentan los resultados no se estaba perdiendo información de los límites entre linajes.

Se eligió el gen de la citocromo c oxidasa I (COI) para evaluar los niveles de divergencia intraespecífica debido a que este locus es usado exitosamente en estudios de códigos de barras genéticos para separar e identificar especies de aves hermanas o crípticas (Hebert et al. 2003, Kerr et al. 2009). Además, varios estudios han identificado estructura filogeográfica dentro de especies Neotropicales de aves usando este marcador (ver por ejemplo Kerr et al. 2009, Campagna et al. 2011b). Algunas secuencias de COI se encuentran depositadas en BOLD (www.boldsystems.org) como parte del proyecto de código de barras de las aves de Argentina (Kerr et al. 2009). No pudimos acceder a muestras continentales de *C. antarcticus*; sin embargo, una secuencia de COII de esta especie publicada previamente (Chesser 2004) estaba disponible en el repositorio Genbank (www.ncbi.nlm.nih.gov). Por lo tanto, para esta especie se utilizó COII para evaluar la divergencia intraespecífica.

Para aquellas especies que poseían linajes divergentes entre poblaciones continentales e insulares se seleccionó un subgrupo de muestras para verificar el patrón genético utilizando genes mitocondriales adicionales y marcadores nucleares. Para estas muestras se obtuvieron secuencias de citocromo b (Cyt b); un marcador ligado al cromosoma Z, Chromodomain-Helicase-DNA binding protein (CHD1Z); y un marcador autosómico, el intrón 5 del gen de β -fibrinógeno (Fib5).

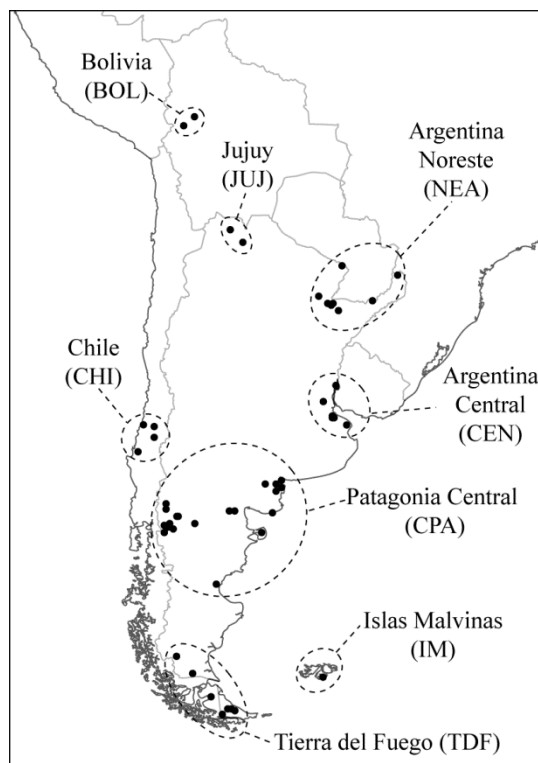


Figura 4.1: Localidades donde se tomaron muestras de al menos una de las nueve especies estudiadas. Para facilitar la presentación de los resultados las localidades fueron agrupadas por proximidad geográfica o con respecto a barreras geográficas.

4.3.2 Extracción de ADN, amplificación de marcadores moleculares y secuenciación

Las fuentes de ADN para este estudio incluyeron músculo pectoral congelado, sangre conservada en etanol o buffer de lisis y fragmentos de almohadilla plantar o plumas provenientes de pieles de estudio. La extracción de ADN siguió los procedimientos descritos en la sección 2.3.3 del capítulo II (o ver Campagna et al 2011a). Se amplificaron cinco genes utilizando PCR: 694 pares de bases (pb) de COI siguiendo protocolos descritos por Kerr et al (2009), 600 pb de COII siguiendo condiciones detalladas en (Chesser 1999, 2000), 920 pb de Cyt b siguiendo Sato

et al (2001), 560 pb de Fib5 siguiendo condiciones detalladas en Campagna et al (2011b), y 620 pb de CHD1Z siguiendo Campagna et al (2011a). Para más detalles ver la sección 2.3.3 y la Tabla 2.1 del capítulo II. Los productos de PCR fueron secuenciados en ambos sentidos usando los mismos primers utilizados para la amplificación. La secuenciación se llevó a cabo en el Canadian Centre for DNA Barcoding (Guelph, Ontario, Canadá) o el London Regional Genomics Centre (London, Ontario, Canadá). Las secuencias fueron depositadas en Genbank; ver números de acceso en Apéndice 3.1.

4.3.3 Análisis genéticos

Las secuencias fueron alineadas usando BioEdit 7.0.9.0 (Hall 1999), y aquellas codificantes para proteínas fueron inspeccionadas visualmente para verificar la ausencia de inserciones o deleciones y luego traducidas a secuencias de aminoácidos para confirmar la ausencia de codones de terminación. La estructura filogeográfica dentro de cada especie fue explorada inicialmente construyendo redes de parsimonia estadística (Templeton et al 1992) usando TCS 1.21 (Clement et al 2000) para representar la relación genealógica entre los haplotipos de COI encontrados (COII en el caso de *C. antarcticus*). Además, el grado de divergencia entre poblaciones continentales e insulares fue evaluado usando dos medidas de divergencia genética: distancias de 2 parámetros de Kimura (K2P) (Kimura 1980) y valores de Φ_{ST} . Las distancias K2P en COI fueron calculadas usando MEGA 4 (Tamura et al 2007) y los cálculos de Φ_{ST} se llevaron a cabo usando Arlequin v3.5.1.2 (Excoffier y Lischer 2010), evaluando la significancia estadística de estos últimos a través de 1000 permutaciones seguido de correcciones secuenciales de Bonferroni (Rice 1989).

Para *T. aedon* y *T. cobbi* el análisis de TCS no pudo conectar todos los haplotipos de COI de manera certera e identificó cinco redes independientes. Para explorar la relación entre los haplotipos de estas cinco redes se llevó a cabo un análisis filogenético Bayesiano usando MrBayes 3.1.2 (Huelsenbeck y Ronquist 2001, Ronquist y Huelsenbeck 2003). Como grupos externos se utilizaron secuencias disponibles en Genbank de especies cercanamente emparentadas (*T. solstitialis*, *T. troglodytes*, *C. platensis* y *C. palustris*). El modelo de evolución molecular para el conjunto de datos de COI fue elegido con el programa jModelTest 0.1.1 (Guindon y Gascuel 2003, Posada 2008) como se indica en la sección 2.3.5 del capítulo II. El modelo que mejor ajustó a los datos de acuerdo al criterio de información de Akaike fue el TrN (Tamura y Nei 1993) con variación en las tasas de sustitución aproximada por una distribución gamma (+G) y una proporción de sitios invariables (+I). El análisis Bayesiano se llevó a cabo como se indica en la sección 2.3.5 usando el modelo más cercano disponible en MrBayes.

El tiempo de divergencia entre poblaciones continentales e insulares fue estimado usando el tiempo al ancestro común más cercano (TMRCA) con la estrategia Bayesiana implementada en el paquete BEAUti/BEAST v1.4.8 (Drummond y Rambaut 2007) como se explica en la sección 2.3.5. Se utilizaron datos de secuencias de Cyt b y una calibración de 2.1% de divergencia por millón de años (Weir y Schluter 2008).

Las secuencias nucleares obtenidas (CHD1Z y Fib5) mostraron sitios diagnósticos de ciertas poblaciones en algunos casos y/o nucleótidos segregantes en otros. Por lo tanto, los cálculos de distancias K2P y F_{ST} se llevaron a cabo tanto con las secuencias obtenidas como con los haplotipos inferidos (como se detalla en la sección 2.3.7). Los haplotipos para cada locus fueron inferidos usando DnaSP 5.10 (Librado y Rozas 2009) y usados en los análisis subsiguientes sólo si todos los sitios habían sido inferidos con una probabilidad ≥ 0.95 . Cuando la combinación del

número de sitios segregantes y los tamaños muestrales causaba que la recuperación de haplotipos útiles fuese baja, cada marcador fue dividido al medio y los haplotipos fueron inferidos por separado para los fragmentos 5' y 3' de cada locus. En estos casos, los cálculos de Φ_{ST} y distancia genética se llevaron a cabo para los fragmentos 5' y 3' de cada locus por separado.

Para aquellas especies que mostraron divergencia entre poblaciones continentales e insulares, se estimaron los tamaños poblacionales efectivos, los tiempos de divergencia y la tasa de migración en ambos sentidos con el programa IMA2 (Hey y Nielsen 2007, Hey 2010) utilizando datos de COI y haplotipos inferidos de CHD1Z y Fib5. Las secuencias de ambos loci nucleares no mostraron evidencia de recombinación ($p > 0.05$) utilizando la prueba de Phi (Bruen et al. 2006) implementada en el programa SplitsTree4 (Huson y Bryant 2006). En aquellos casos en los que se infirieron los haplotipos para las porciones 5' y 3' de cada locus por separado, las corridas fueron llevadas a cabo independientemente usando datos de COI y de ambas combinaciones aleatorias posibles de fragmentos 5' o 3' de CHD1Z y Fib5. Debido a que se obtuvieron resultados similares para ambas combinaciones de fragmentos, se tomó una al azar para realizar las corridas restantes. En la sección 2.3.8 se brindan más detalles al respecto de cómo se realizaron las corridas de IMA2. La estimación del número efectivo de migrantes por generación ($2Nm$), fue obtenida de los parámetros de migración (m_{12}/μ o m_{21}/μ , donde μ es la tasa mutacional) y θ ($4N_1\mu$ o $4N_2\mu$) calculados con IMA2. Al calcular $2Nm = 4N\mu \times 1/2 \times m/\mu$ se pudo obtener una estimación de $2Nm$ sin tener que asumir una dada tasa mutacional (Hey y Nielsen 2004).

4.3.4 Análisis de las vocalizaciones de *Troglodytes aedon* y *Troglodytes cobbi*

El grado de aislamiento genético entre poblaciones de *T. aedon* y *T. cobbi* nos impulsó a buscar diferencias en las vocalizaciones, un componente clave del sistema de reconocimiento de pareja en aves (Price 2007), entre los machos de estas dos presuntas especies. Se obtuvieron grabaciones de cantos de colecciones privadas (R Woods y S Imberti) y disponibles comercialmente (ver detalles en el Apéndice 3.2). El conjunto de datos incluye vocalizaciones de 21 individuos de *T. aedon* y 16 de *T. cobbi*. Se encuentran representadas 16 localidades continentales para *T. aedon* y dos insulares para *T. cobbi*. Siete de las 16 localidades son Patagónicas, la porción del continente Sudamericano más cercana geográficamente a las IM.

Las grabaciones fueron analizadas con el programa Raven Pro 1.4 (www.birds.cornell.edu/raven) usando la configuración predeterminada (ver sección 2.3.1) y midiendo variables usadas previamente por Toews e Irwin (2008) en el reconocimiento de especies crípticas dentro de poblaciones de *Troglodytes troglodytes*. Brevemente, las siete variables que se midieron fueron: Largo, largo del canto (s); Min, frecuencia mínima del canto (kHz); Max, frecuencia máxima del canto (kHz); Promedio, frecuencia promedio del canto (kHz) obtenida muestreando el sonido con la máxima amplitud a intervalos de 0.25 s (se descartaron aquellos puntos que involucraban silencios entre notas); SD freq, el desvío estándar de la frecuencia (kHz) a lo largo de todos los puntos utilizados para determinar Promedio; Porcentaje en blanco, el número de puntos usados para calcular Promedio donde la ratona no se encontraba cantando dividido por el número total de puntos; Trans/seg, el número de veces por segundo en el que la frecuencia fundamental del sonido cruza de menor a mayor (o vice versa) el punto medio del rango de frecuencia del canto (3.5 kHz). Cuando se disponía de más de un canto para

un dado individuo (promedio = 6.4, rango = 2-19) se obtuvieron los valores promedio de las siete variables para todos los cantos de ese individuo. Exceptuando Procentaje en blanco, todas las variables fueron transformadas aplicándoles logaritmos antes del análisis.

Nuestros análisis genéticos mostraron que un linaje de *T. aedon* que incluía a todos los individuos Patagónicos (ver Resultados) era el filogenéticamente más cercano a *T. cobbi*. Por lo tanto, no sólo se compararon las vocalizaciones de *T. cobbi* con las del conjunto de todos los individuos continentales de *T. aedon*, sino también exclusivamente con aquellos individuos Patagónicos. Las diferencias en cada una de las siete variables se pusieron a prueba por separado mediante pruebas de *t*. También se utilizó un Análisis de Funciones Discriminantes por pasos (DFA) usando SPSS 15.0 para evaluar las diferencias entre estos dos grupos predefinidos. La capacidad del análisis de predecir la pertenencia a un dado grupo para cada canto fue evaluada a través de un procedimiento de clasificación basado en jackknifing (Tabachnick y Fidell 2001).

4.4 RESULTADOS

4.4.1 Divergencia genética entre poblaciones insulares y continentales

Las nueve especies de passeriformes estudiadas muestran patrones genéticos distintos al comparar poblaciones continentales con aquellas de las IM: Seis especies comparten haplotipos de COI entre las dos regiones (o COII en el caso de *C. antarcticus*) (Figura 4.2); las poblaciones insulares de *M. melanodera* y *T. falcklandii* tienen haplotipos privados que difieren por un paso mutacional de aquellas continentales (Figura 4.3); finalmente, *T. cobbi* tiene un único haplotipo privado separado por al menos 10 pasos mutacionales de aquellos de *T. aedon* (Figura 4.4). Los

valores de Φ_{ST} y de distancia genética K2P calculados para evaluar la divergencia en COI para aquellas especies en las que el tamaño muestral lo permitía varió entre cero (*C. barbata*) y 0.89 (*T. aedon*/*T. cobbi*) y de 0.15% (*M. melanodera*) a 2.17% (*T. aedon*/*T. cobbi*) respectivamente. Nuevamente, la divergencia más marcada se observó entre *T. aedon* y *T. cobbi*, con valores menores pero significativos entre poblaciones continentales e insulares de *C. platensis*, *M. melanodera* y *T. falcklandii* (Tabla 4.1). A partir de estos análisis se eligió al par que mostraba el mayor grado de divergencia, las ratonas *T. aedon* y *T. cobbi*, y una de las especies que mostró menor diferenciación genética (pero para la cual se disponía de mayor número de muestras), *T. falcklandii*, para llevar a cabo análisis más detallados.

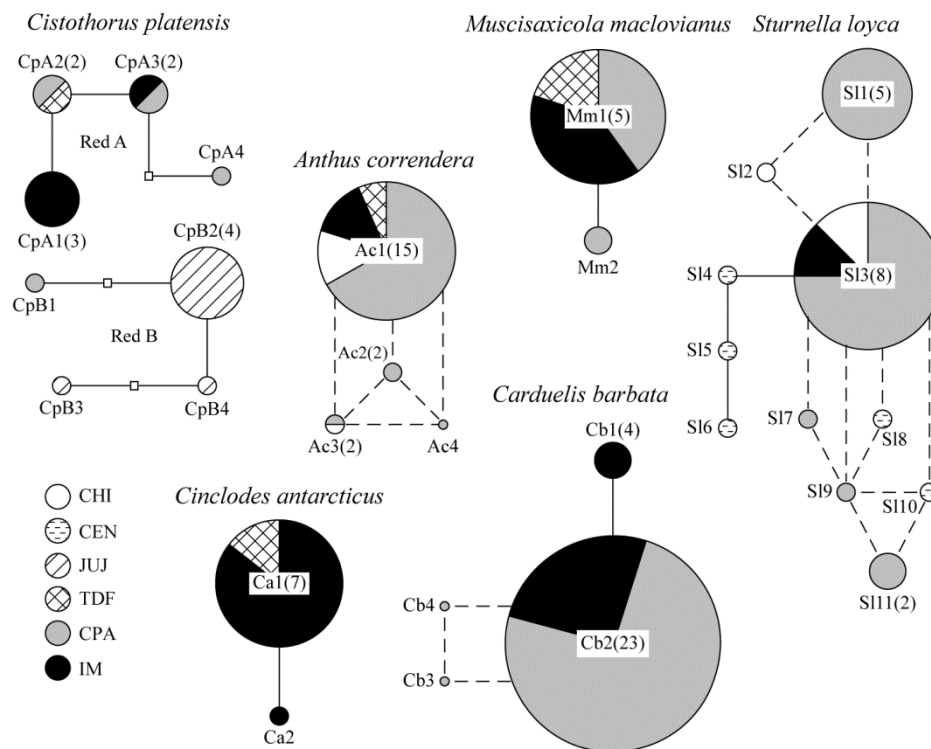


Figura 4.2: Red de haplotipos de parsimonia estadística mostrando conexiones entre haplotipos de COI con una probabilidad \geq al 95% obtenidos de *A. correndera*, *C. barbata*, *C. platensis*, *M. maclovianus*, *S. loyca*; y haplotipos de COII de *C. antarcticus*. Las líneas enteras representan un cambio mutacional y las líneas punteadas muestran

conexiones alternativas que no fueron resueltas de forma certera en el análisis. Los cuadrados vacíos representan haplotipos que no fueron muestreados o que se extinguieron. Los haplotipos se encuentran nombrados y numerados con las primeras letras de la especie en la que se encontraron y, cuando fueron encontrados en varios individuos, el número total que lo posee se indica entre paréntesis. Notar que el análisis de TCS no pudo conectar de forma certera a todos los haplotipos de *C. platensis* en una única red, asignándolos a dos redes diferentes (A y B). El área de los círculos es proporcional, dentro de cada red, al número de individuos que posee dicho haplotipo. La localidad donde cada haplotipo fue muestreado se encuentra abreviada siguiendo el código de la Figura 4.1, ver la sección 4.3.1 para más detalles.

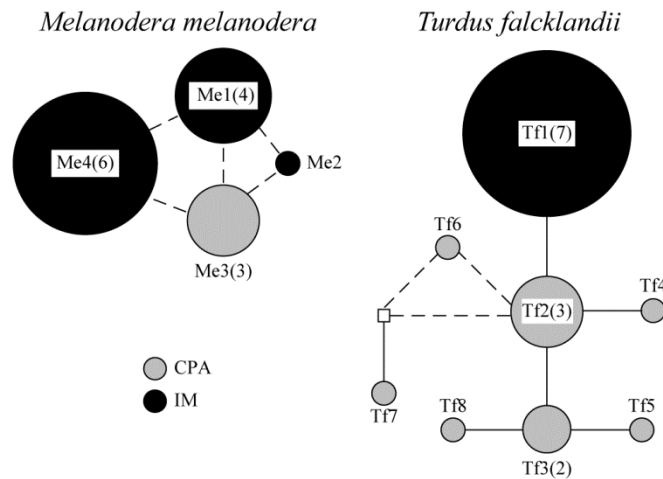


Figura 4.3: Red de haplotipos de parsimonia estadística mostrando conexiones entre haplotipos de COI con una probabilidad \geq al 95% obtenidos de *M. melanodera* y *T. falcklandii*. Demás detalles como en la Figura 4.2.

Tabla 4.1: Valores de Φ_{ST} y distancias K2P promedio calculados entre poblaciones continentales e insulares usando secuencias de COI o Cyt b. Sólo se incluyeron en el análisis aquellas especies para las cuales se disponía de más de dos muestras de cada población. El tamaño muestral (n) corresponde a las poblaciones continentales e insulares respectivamente. Los valores de Φ_{ST} están acompañados de sus respectivos valores de significancia estadística (p) y para las distancias K2P se informan los desvíos estándar (SD).

Especie	COI					cytb				
	Φ_{ST}	p valor	% K2P	SD	n	Φ_{ST}	p valor	% K2P	SD	n
Troglodytes aedon/cobbi ^a	0.89	<0.0001	2.17	0.13	18-11	0.67	0.022	2.86	0.36	5-3
Cistothorus platensis ^a	0.58	0.035	0.55	0.58	4-4	-	-	-	-	-
Turdus falcklandii	0.52	<0.0001	0.28	0.12	10-7	0.83	0.014	0.14	0.08	5-5
Melanodera melanodera	0.23	0.23	0.15	0.10	3-11	-	-	-	-	-
Carduelis barbata	-0.02 ^b	0.54	0.17	0.18	19-10	-	-	-	-	-

^aDentro de la Red A.

^bInterpretar como cero.

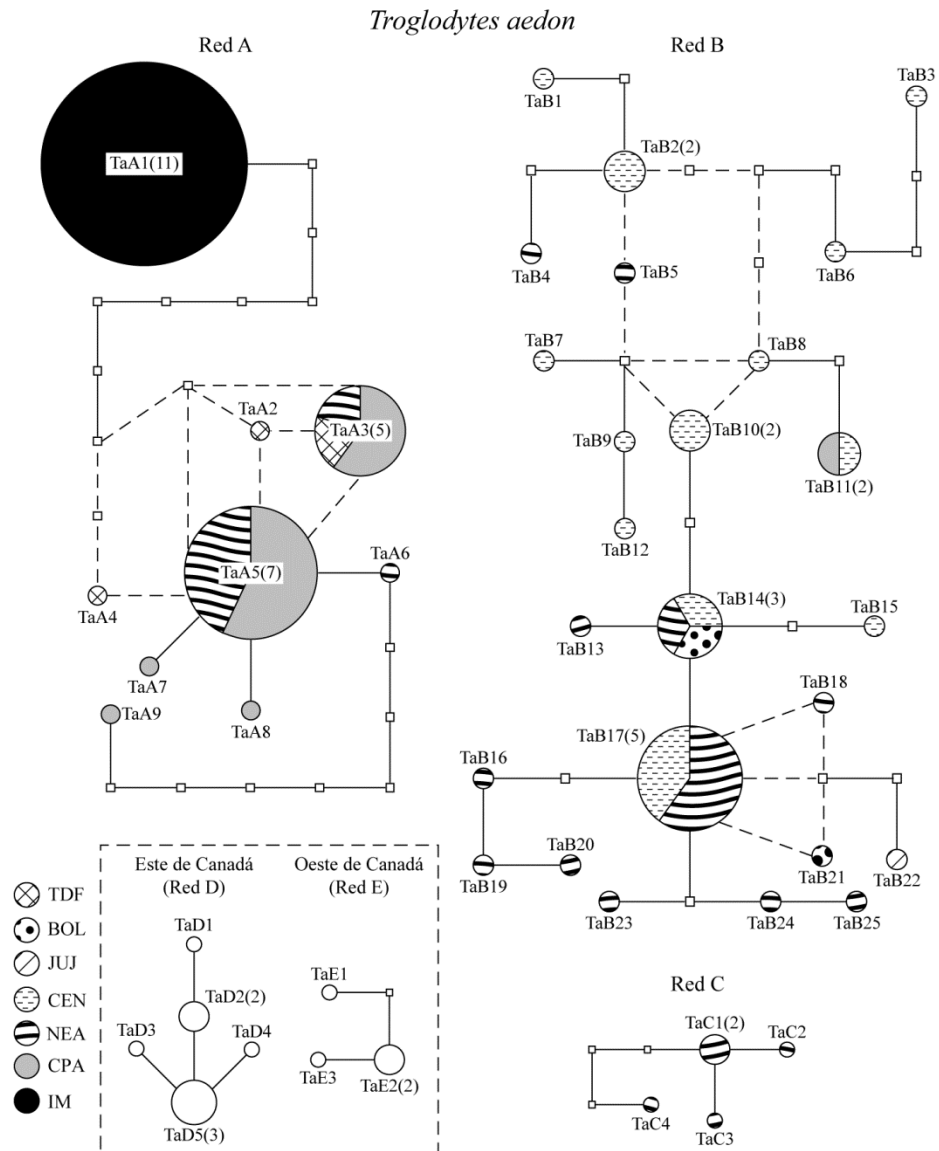


Figura 4.4: Red de haplotipos de parsimonia estadística mostrando conexiones entre haplotipos de COI con una probabilidad \geq al 95% obtenidos de *T. aedon* y *T. cobbi*. Notar que en el análisis de TCS se obtuvieron cinco redes diferentes (A - E), donde los haplotipos de *T. cobbi* se ubican dentro de la red A. Demás detalles como en la Figura 4.2.

El grado de divergencia observado en COI entre *T. aedon*/*T. cobbi* y dentro de *T. falcklandii* fue confirmado usando tres genes adicionales: *Cyt b*, *Fib5* y *CHD1Z* (siendo los dos últimos nucleares). Usando *Cyt b*, los haplotipos de *T. cobbi* no pudieron ser conectados con una probabilidad de al menos 95% con aquellos de los individuos de *T. aedon*, siendo asignados a redes separadas (ver Figura 1 del Apéndice 3.3). Las poblaciones insulares de *T. falcklandii* poseen haplotipos privados de *Cyt b*, difiriendo de los continentales por un paso mutacional (ver Figura 1 del Apéndice 3.3). Los valores de Φ_{ST} y distancia K2P para los datos de *Cyt b* son consistentes con el grado de divergencia observado para COI, tanto para *T. aedon*/*T. cobbi* como para *T. falcklandii* (Tabla 4.1). También se obtuvieron valores altos y significativos de F_{ST} utilizando secuencias y haplotipos inferidos de *CHD1Z*, y con los haplotipos inferidos para la región 3' de *Fib5* (Tabla 4.2), confirmando que el patrón genético observado entre *T. aedon* y *T. cobbi* no se encuentra limitado únicamente a genes mitocondriales. Las poblaciones continentales e insulares de *T. falcklandii* no mostraron diferencias estadísticamente significativas en los loci nucleares utilizados (Tabla 4.3), posiblemente como consecuencia del mayor tamaño efectivo, menor tasa de mutación y la retención de polimorfismos ancestrales en estos loci diploides de herencia biparental.

Tabla 4.2: Valores de F_{ST} y distancias K2P entre *T. cobbi* y *T. aedon* (muestras de la red A) obtenidos usando secuencias y haplotipos inferidos para CHD1Z y Fib5, y las porciones 5' y 3' de cada loci. Demás detalles como en la Tabla 4.1.

Marcador	F_{ST}	p valor	% K2P	SD	n
CHD1Z	1	<0.0001	0.42	0.10	7-9
haplotipos CHD1Z 5'	0.93	<0.0001	0.55	0.17	12-16
haplotipos CHD1Z 3'	0.65	<0.0001	0.85	0.36	10-18
Fib5	0.30	0.079	0.22	0.25	7-5
haplotipos Fib5 5'	0.26	0.089	0.67	0.35	6-6
haplotipos Fib5 3'	0.51	0.010	0.59	0.36	4-8

Tabla 4.3: Valores de F_{ST} y distancias K2P entre poblaciones insulares y continentales de *T. falcklandii* obtenidos usando secuencias y haplotipos inferidos para CHD1Z y Fib5. Demás detalles como en la Tabla 4.1.

Marcador	F_{ST}	p valor	% K2P	SD	n
CHD1Z	0.25	0.27	0.06	0.10	9-3
haplotipos CHD1Z	0.20	0.070	0.09	0.12	16-6
Fib5	0	1.00	0.00	0.00	7-6
haplotipos Fib5	0.088	0.20	0.30	0.33	14-12

El tiempo de divergencia entre poblaciones insulares y continentales se estimó utilizando datos de secuencias de Cyt b y una calibración de 2.1% de divergencia por millón de años (Weir y Schluter 2008). El tiempo al ancestro común más cercano (TMRCA) entre *T. aedon* (muestras de la red A, Figura 4.4) y *T. cobbi* es de aproximadamente un millón de años (intervalo de confianza del 95%: 415400 - 1858700 años antes del presente). El tiempo de divergencia entre las poblaciones de *T. falcklandii* es más reciente (44500 años antes del presente, IC 95%: 645 - 112000 años). Las simulaciones utilizando IMA2 no resolvieron todos los parámetros del modelo: para los dos conjuntos de datos (*T. aedon*/*T. cobbi* y *T. falcklandii*) no fue posible estimar de manera precisa el tamaño de la población efectiva ancestral y el tiempo de divergencia; y para el conjunto de datos de *T. falcklandii* tampoco fue posible resolver el tamaño

de la población efectiva continental. Sin embargo, se pudieron obtener estimaciones de la migración en ambas direcciones durante el proceso de divergencia entre poblaciones continentales y de las IM. El número efectivo de migrantes por generación (tasa de migración poblacional, $2N_1m_1$ y $2N_2m_2$) entre *T. aedon* y *T. cobbi* y vice versa fue bajo o insignificante, con un valor estimado de menos de un individuo por generación y un intervalo de alta densidad a posteriori (HPD) del 95% que incluye al cero. Para *T. falcklandii*, los valores promedio fueron de entre uno y dos individuos por generación, aunque nuevamente el intervalo HPD del 95% incluye al cero.

4.4.2 Estructura filogeográfica dentro de poblaciones continentales de *Troglodytes aedon* y *Cistothorus platensis*

El análisis de las secuencias de COI identificó linajes divergentes y potencialmente aislados reproductivamente dentro de las poblaciones continentales de *C. platensis* y *T. aedon*. Los haplotipos de COI de *Cistothorus platensis* fueron asignados a dos redes diferentes (Figura 4.2), una incluyendo individuos de Patagonia y las IM y el otro principalmente individuos de Jujuy, en el Noroeste Argentino (pero también un individuo Patagónico). Estos dos linajes difieren en 6.71 ± 1.49 % de distancia K2P ($\Phi_{ST} = 0.92$; $p < 0.001$) y es posible que sean simpátricos dado que diferentes individuos de la provincia de Río Negro (Argentina) fueron asignados a las dos redes. El análisis de TCS asignó los haplotipos continentales de *T. aedon* a tres redes de COI diferentes (Figura 4.4). Los haplotipos de las tres redes difieren de manera marcada (Tabla 4.4), con distancias K2P promedio comparables a la divergencia observada entre individuos de Sudamérica y aquellos de Canadá, en el extremo opuesto de la distribución de la especie. Estos

tres linajes son simpátricos en el Noreste Argentino, con localidades como el Parque Nacional Mburucuyá (en la provincia de Corrientes, Argentina) conteniendo representantes de los tres linajes. Todos los individuos Patagónicos (CPA y TDF) fueron asignados a la red A. Notar que si bien un individuo de la región CPA fue asignado a la red B (Figura 4.4), esta muestra provenía de una localidad desconocida dentro de Argentina y por lo tanto fue asignada para el análisis al centro geográfico del país (el cuál se encuentra en CPA). Este individuo fue incluido en el estudio porque era relevante para la comparación entre *T. aedon* y *T. cobbi*, pero fue excluido para el análisis de los linajes continentales de *T. aedon*. Finalmente, las cinco redes de haplotipos (incluyendo aquellas del este y oeste de Canadá) formaron grupos monofiléticos con alto grado de soporte en un consenso de mayoría Bayesiano del 50% (ver Apéndice 3.3, Figura 2); donde no fue posible resolver las relaciones entre dichos clados. El clado A está compuesto de clados hermanos recíprocamente monofiléticos, uno incluye a los representantes de *T. cobbi* y el otro a individuos continentales.

Tabla 4.4: Valores de Φ_{ST} y distancias K2P entre individuos de *T. aedon*/*T. cobbi* pertenecientes a las distintas redes de COI de la Figura 4.4. Los individuos de la red A fueron divididos para este análisis en aquellos pertenecientes a *Troglodytes cobbi* (Cobbi) y los restantes miembros (llamados A). Los cálculos de Φ_{ST} se presentan en el triángulo inferior izquierdo de la tabla, con sus valores correspondientes de *p* en el triángulo superior derecho. Los valores de K2P (% de diferencia) y su desvío estándar se presentan entre paréntesis en la parte inferior izquierda de la tabla.

	Cobbi	A	B	C	D	E
Cobbi		<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.003
A	0.89 (2.17 ± 0.13)		<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
B	0.82 (4.02 ± 0.36)	0.83 (3.63 ± 0.45)		<0.0001	<0.0001	<0.0001
C	0.97 (5.06 ± 0.22)	0.93 (4.59 ± 0.24)	0.82 (4.13 ± 0.26)		<0.0001	0.013
D	0.98 (4.28 ± 0.18)	0.94 (4.29 ± 0.23)	0.84 (4.01 ± 0.36)	0.94 (4.53 ± 0.24)		0.001
E	0.99 (6.04 ± 0.39)	0.95 (5.93 ± 0.46)	0.87 (5.44 ± 0.34)	0.95 (5.92 ± 0.23)	0.96 (5.75 ± 0.208)	

4.4.3 Diferencias en el canto de *Troglodytes aedon* y *Troglodytes cobbi*

Ambas ratonas, *T. aedon* y *T. cobbi*, poseen cantos complejos, alternando sílabas únicas con secuencias largas de sílabas repetidas (Figura 4.5). Se observó una gran variedad de vocalizaciones dentro de *T. aedon*; sin embargo, debido a que obtuvimos las muestras para los análisis genéticos y de vocalizaciones por separado, no fue posible determinar si las diferencias en el canto se correspondían con los distintos linajes genéticos que se identificaron. Por lo tanto, con el objetivo de ver si existen diferencias entre las vocalizaciones de *T. cobbi* y *T. aedon*, los cantos de *T. cobbi* fueron comparados con todos aquellos disponibles de *T. aedon* o exclusivamente con los de los individuos Patagónicos de esta especie, dado que es probable que estos pertenezcan al clado hermano de *T. cobbi* (Figura 4.4 y Figura 2 del Apéndice 3.3). Se encontraron diferencias significativas en las variables medidas entre los cantos de *T. cobbi* (N = 16) y los continentales de *T. aedon* (N = 21) o aquellos pertenecientes a poblaciones Patagónicas de esta especie (N = 10). La primera comparación difiere significativamente en las variables Min ($t = -2.55$, g.l. = 27.14, $p = 0.017$); SD freq ($t = 2.07$, g.l. = 23.42, $p = 0.050$); y Trans/seg ($t = -2.15$, g.l. = 34.73, $p = 0.039$). Cuando sólo se consideraron las poblaciones Patagónicas de *T. aedon*, los cantos de *T. cobbi* difirieron significativamente en Porcentaje en blanco ($t = -2.23$, g.l. = 15.29, $p = 0.041$); y Trans/seg ($t = 4.94$, g.l. = 22.91, $p < 0.0001$). El DFA por pasos identificó diferencias significativas entre *T. cobbi* y *T. aedon* (λ de Wilk = 0.730, $\chi^2 = 10.687$, g.l. = 2, $p = 0.005$), reteniendo sólo Min y Length y asignando 70.3% de los cantos al grupo correcto (cometiendo errores en la asignación de cinco cantos continentales y seis insulares). Cuando las vocalizaciones de *T. cobbi* fueron comparadas solamente contra las de individuos Patagónicos de *T. aedon*, el DFA por pasos retuvo las variables Max y Trans/seg, encontrando

diferencias significativas entre los dos grupos (λ de Wilk = 0.46, $\chi^2 = 17.68$, g.l. = 2, $p < 0.001$). En este caso el éxito de reclasificación fue de 88.5%, con un canto continental y dos insulares asignados al grupo incorrecto.

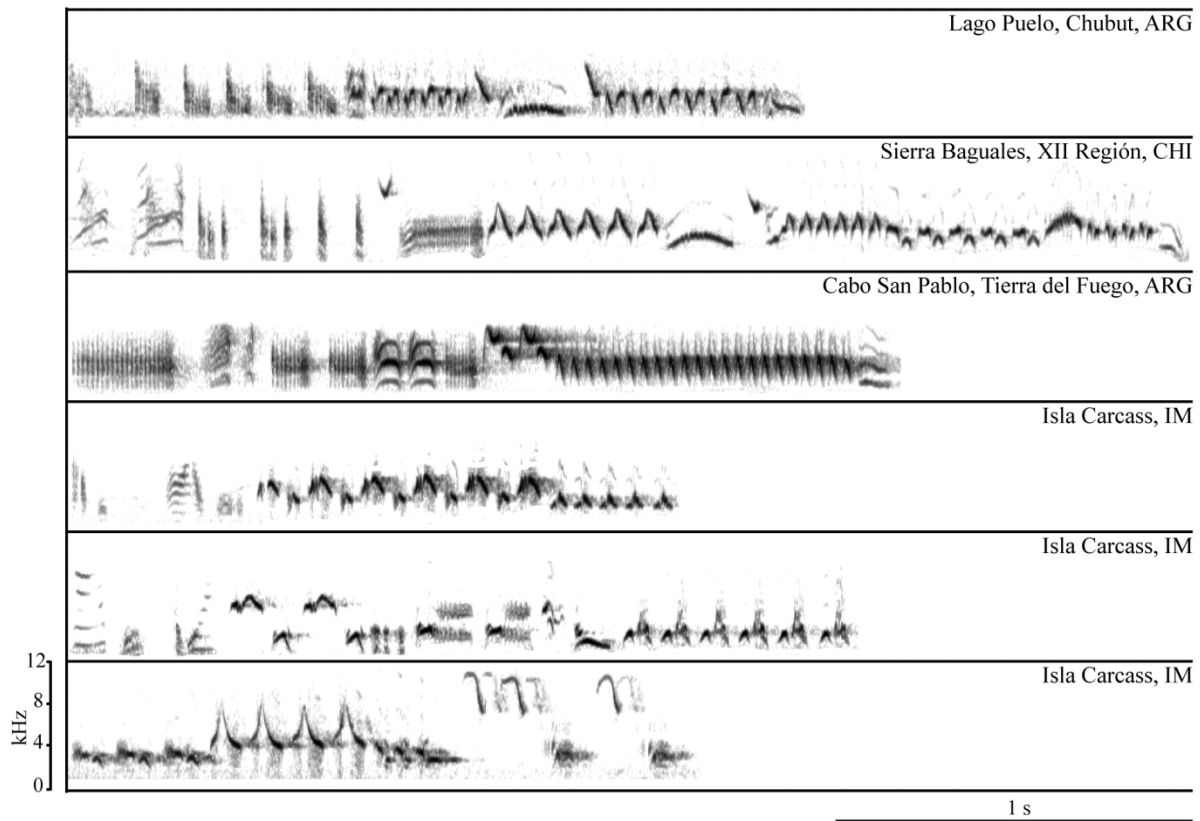


Figura 4.5: Ejemplos de sonogramas provenientes de vocalizaciones de tres machos de *T. aedon* y tres de *T. cobbi*.

4.5 DISCUSIÓN

4.5.1 Aislamiento de las poblaciones de passeriformes en las islas Malvinas

Se estudiaron las nueve especies de passeriformes que anidan de manera regular en las IM, observando patrones de ADN mitocondrial que coinciden con la subespecies morfológicas (o posibles especies) sólo en cuatro casos. La diferenciación genética entre poblaciones continentales e insulares varía entre nula (*A. correndera*, *C. barbata*, *C. antarcticus*, *M. maclovianus* y *S. loyca* comparten haplotipos de COI entre poblaciones), a leve (*C. platensis*, *M. melanodera* y *T. falcklandii*), y finalmente marcada divergencia genética entre *T. aedon* y *T. cobbi*. Si se asume que las nueve especies de passeriformes no difieren en su tiempo generacional y que la tasa de mutación de COI es relativamente constante para todas las especies (y similar entre COI y COII de manera de incluir a *C. antarcticus*), es posible que varios procesos sean responsables de producir estos patrones genéticos. Cada especie podría estar experimentando distintos niveles de migración, diferir en el tamaño poblacional efectivo, o haber colonizado las islas exitosamente a diferentes tiempos.

Quizás debido a los fuertes vientos predominantes del oeste en las latitudes de 50-60 grados sur, varias especies de passeriformes provenientes del continente visitan las islas ocasionalmente pero no reproducen en ellas (ej. *Mimus patagonicus*, *Phrygilus fruticeti*, *Sicalis lebruni*, *Zonotrichia capensis*) (Woods y Woods 1997, Remsen et al. 2011). Esto sugiere que no es poco común que exista movimiento (o deriva causada por el viento) desde el continente hacia las islas, y que no todos los individuos que arriban son capaces de encontrar parejas reproductivas, hábitat adecuado, o adaptarse a reproducir en las condiciones climáticas locales. Encontramos especies

en las cuales los individuos de las IM y los del continente no compartían haplotipos de marcadores de ADN mitocondrial (*M. melanodera*, *T. aedon*/*T. cobbi* y *T. falcklandii*), sugiriendo que estas poblaciones no intercambian migrantes. Como sólo podemos detectar migrantes que se reproducen con las poblaciones locales, no es posible determinar si las poblaciones insulares de estas especies reciben niveles menores de inmigración que las restantes (quizás debido a un tipo de vida más sedentario: ver Kroodsmá y Brewer 2005 para *T. aedon*). Alternativamente, los inmigrantes podrían llegar a las islas pero no lograr reproducirse al no estar adaptados al ambiente local o como consecuencia de la existencia de barreras precigóticas de aislamiento reproductivo. La estimación del número de migrantes efectivos por generación desde la separación entre poblaciones obtenida en el análisis de IMA2 no pudo distinguirse de cero para *T. falcklandii* y para *T. aedon*/*T. cobbi*. Esto sugiere que la migración durante el proceso de divergencia entre poblaciones continentales e insulares de estas dos especies ha sido extremadamente baja. Además, tanto en *T. falcklandii* como en *T. aedon*/*T. cobbi* se encontraron varios haplotipos de COI divergentes en el continente pero un único haplotipo insular. Esto es consistente con que las dos especies hayan atravesado un cuello de botella que redujo la diversidad genética en las IM, un efecto fundador que podría resultar de la colonización de las islas por un grupo pequeño de individuos continentales. Si bien los tamaños muestrales en las IM y el continente no son iguales (las muestras de las IM fueron colectadas casi por completo en una sola isla), también se encontraron comparativamente menos haplotipos en las poblaciones insulares de passeriformes de otras especies (entre uno y tres por especie difiriendo en un máximo de sólo dos pasos mutacionales). Un mejor muestreo de estas especies en las IM confirmará si el aparente efecto fundador se aplica a todos los passeriformes del archipiélago.

Las especies pueden diferir en el tiempo en el que lograron establecer poblaciones reproductoras en las islas, lo que parece haber ocurrido en el caso de *T. falcklandii* y el par *T. aedon*/*T. cobbi*. Nuestra estimación sugiere que la divergencia entre *T. cobbi* y *T. aedon* es un orden de magnitud más antigua (aproximadamente 20 veces mayor) que la de poblaciones continentales e insulares de *T. falcklandii*. Es importante notar que dentro de las especies que comparten haplotipos entre las IM y el continente, los representantes insulares de *A. correndera*, *C. barbata*, *M. maclovianus* y *S. loyca* poseen el haplotipo continental más abundante. Esto no pudo ser evaluado en *C. antarcticus* debido a que sólo se incluyó un individuo continental. Este patrón de haplotipos compartidos es consistente con una combinación de niveles altos de flujo génico y divergencia extremadamente reciente (y una retención del polimorfismo ancestral) entre poblaciones de estas especies.

En su conjunto, los datos sugieren que las IM no fueron colonizadas al mismo tiempo por las nueve especies de passeriformes que las habitan. Hemos mostrado que *T. cobbi* es el passeriforme más antiguo que reside en las IM, separándose de poblaciones continentales de *T. aedon* durante el Pleistoceno temprano. La colonización de las IM por *T. falcklandii* es más reciente, datando del Pleistoceno tardío. Es posible que las siete especies restantes también hayan colonizado las IM recientemente, sin embargo debido a que no se cuantificó la migración no es posible descartar que altos niveles de flujo génico hayan borrado información sobre la historia de colonización de las IM. Por lo tanto, eventos fundadores durante diferentes periodos en el tiempo podrían ser responsables de la variación en el patrón genético observada para las diferentes especies. La colonización de las IM que dio lugar al linaje de *T. cobbi* data de hace aproximadamente un millón de años, coincidiendo con la Gran Glaciación Patagónica en la cual la Patagonia se encontraba cubierta en su mayoría por hielo (Rabassa et al. 2011). Es posible que

la conectividad con el continente haya sido incrementada por el hielo oceánico y que el clima de las IM haya servido de refugio para los individuos que las colonizaron. Es difícil poder explicar por qué, bajo probables condiciones de alta conectividad, las IM sirvieron de refugio sólo para las poblaciones de ratonas, aunque también es posible que otras especies que habían colonizado las islas se hayan extinguido. Un régimen de muestreo intenso de las poblaciones insulares para varias especies (no sólo aves), junto con un enfoque filogeográfico multigénico que permita realizar inferencias al respecto de la historia demográfica de las poblaciones, ayudará a elucidar cómo y cuándo las IM fueron colonizadas.

4.5.2 Implicancias para la taxonomía y especiación de *Cistothorus platensis* y *Troglodytes aedon*

Las especies de roedores introducidas han tenido un efecto devastador sobre la fauna de las IM en general y particularmente sobre *T. cobbi* (Hall et al. 2002, Hilton y Cuthbert 2010, St Clair 2011). Esta especie es considerada vulnerable a la extinción (BirdLife International 2011), quedando alrededor de 4000-8000 parejas reproductivas restringidas a islas periféricas, donde no se han introducido mamíferos exóticos (*Felis silvestris catus*, *Rattus norvegicus*, *Rattus rattus*, y *Mus* sp.) y el hábitat se encuentra menos degradado por efecto del ganado (Woods 1993, Kroodsma y Brewer 2005, Birdlife International 2011). Por lo tanto, la resolución del estatus taxonómico de *T. cobbi* es de particular interés para guiar esfuerzos de conservación. Nuestros resultados muestran que *T. cobbi* es monofilética con respecto a su ADN mitocondrial (COI y Cyt b) en relación al clado hermano de *T. aedon* (ver la Figura 2 del Apéndice 3.3). Los valores de Φ_{ST} y F_{ST} calculados usando ADN mitocondrial y nuclear respectivamente (autosómico y

ligado al cromosoma Z) son consistentes con falta de flujo génico. Además, encontramos diferencias significativas entre las vocalizaciones de las poblaciones insulares y continentales de ratonas. Estudios previos han mostrado que estas dos presuntas especies también difieren en morfología, plumaje, comportamiento y ecología (ver Woods 1993, Kroodsmá y Brewer 2005). En su conjunto, la evidencia sugiere que *T. cobbi* constituye un linaje evolutivo independiente del de *T. aedon*, mereciendo estatus de especie y justificando tomar medidas para su conservación.

Un estudio de la diversidad genética mitocondrial llevado a cabo por Kerr et al. (2009) en el extremo sur de Sudamérica comparó secuencias de COI obtenidas de 500 especies de aves Argentinas, encontrando sólo seis especies con una divergencia “intraespecífica” máxima por arriba del 4% de distancia K2P (*Cinclodes fuscus*, *C. platensis*, *Myiophobus fasciatus*, *Thamnophilus ruficapillus*, *T. aedon*, y *Upucerthia dumetaria*). Luego de que se realizaron estudios más detallados, *Upucerthia dumetaria* y *C. fuscus* mostraron tener más de un linaje merecedor de estatus específico (Areta y Pearman 2009, Sanín et al. 2009). Kerr et al. (2009) encontró dos linajes continentales alopátricos de *C. platensis* y tres linajes continentales alopátricos/parapátricos de *T. aedon*. Nuestro estudio incrementó el esfuerzo de muestreo para estas dos especies e identificó tres linajes continentales divergentes y parcialmente simpátricos de COI en base a individuos de *T. aedon* provenientes principalmente de Argentina (también se incluyeron algunas muestras provenientes de Bolivia), y dos linajes altamente divergentes dentro de las poblaciones continentales de *C. platensis* que también podrían ser simpátricos. La distancia K2P promedio para COI entre los dos linajes de *C. platensis* es de 6.71%, mayor que cualquier distancia intraespecífica promedio o incluso máxima obtenida anteriormente para una especie en Argentina (Kerr et al. 2009, Campagna et al. 2010). Los valores de distancia

promedio para *T. aedon* fueron de aproximadamente 4%, en el mismo orden de aquellos reportados para esta especie por Kerr et al. (2009).

Cistothorus platensis se encuentra distribuida a lo largo de toda América y actualmente se reconocen 20 subespecies (Kroodsma y Brewer 2005). Nuestros resultados muestran evidencia de divergencia genética baja entre la subespecie de las IM (*C. p. falklandicus*) y los individuos continentales. También observamos una divergencia marcada dentro de esta especie que no se corresponde claramente con los límites de ninguna de las subespecies continentales descritas.

La taxonomía del complejo de especies de la Ratona Común (*T. aedon*) es increíblemente compleja, con tres formas continentales (*T. aedon* en América del Norte, *T. brunneicollis* en el sur de los Estados Unidos y México, y *T. musculus* en Sudamérica) y tres formas insulares (*T. tanneri* y *T. beani* en islas sobre la costa de México, y *T. cobbi* en las IM) que han sido separadas en especies diferentes o alternativamente consideradas conespecíficas por diferentes autores (ver Kroodsma y Brewer 2005). A su vez, cada forma continental incluye varias subespecies (dos en *T. aedon*, tres en *T. brunneicollis*, y 25 en *T. musculus*). Nuestros datos indican que *T. cobbi* es altamente divergente en COI con respecto a los individuos continentales, y que existen tres linajes de COI para *T. aedon* dentro de Argentina, divergiendo en la misma magnitud que cuando se comparan clados del norte con los del sur de América. *Troglodytes cobbi* puede ser diagnosticada usando marcadores mitocondriales y nucleares, sugiriendo que podría ser considerada una especie separada de *T. aedon* bajo el Concepto Filogenético de Especie (Cracraft 1983). Además, las diferencias observadas en las vocalizaciones podrían reflejar diferencias en los sistemas de reconocimiento de pareja. Resta por determinar (por ejemplo a través de experimentos de playback) si estas diferencias son suficientes para causar aislamiento reproductivo, por ende justificando el estatus específico de *T. cobbi* bajo el Concepto Biológico

de Especie (Mayr, 1982). La relación entre *T. cobbi* y los diferentes clados de *T. aedon* implica que esta última especie, de la forma en que se encuentra definida actualmente, es parafilética.

Nuestros resultados resaltan la necesidad de realizar futuros estudios en las IM; en particular, trabajos destinados a entender la divergencia (o falta de ella) en los sistemas de reconocimiento de pareja y la evolución de adaptaciones ecológicas entre aves de las islas y las poblaciones continentales de las cuales derivan. Además, estudios filogeográficos comparativos generales ayudarán a entender si las IM actuaron como un refugio de las glaciaciones del Pleistoceno y proveerán información sobre el papel de las glaciaciones en la facilitación de la colonización de las islas. Finalmente, se necesitan estudios filogeográficos de escala continental para *C. platensis* y *T. aedon* para poder entender los patrones genéticos complejos que hemos identificado, y para investigar la existencia de posibles especies crípticas dentro de estas especies.

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN GENERAL

5.1 LIMITACIONES DEL MODELO DE ESTUDIO ELEGIDO

Como se menciona en el capítulo I, las aves permiten integrar aspectos ecológicos, biogeográficos, comportamentales y genéticos en el estudio del proceso de especiación. La extensa tradición de trabajos biológicos en aves permitió que la información al respecto de la ecología, biogeografía (patrones de distribución) y, en menor medida, del comportamiento de las especies estudiadas en esta tesis se haya podido obtener de la literatura científica. Las diferencias en los patrones de coloración, uno de los principales factores que influyen sobre el sistema de reconocimiento de pareja en aves, ya han sido estudiadas para los grupos que son el foco de esta tesis (ver Benites et al. 2010, Benites 2012 y Campagna et al. 2011a para estudios de coloración en *Sporophila*; Ridgely y Tudor 1989 para la descripción de los grupos de plumaje de *Phrygilus*; Woods y Woods 1997 para los passeriformes de las Islas Malvinas o Woods 1993 y Kroodsma y Brewer 2005 para estudios de este tipo en *Troglodytes cobbi*). En esta tesis se analizaron las diferencias en las vocalizaciones de algunas de estas aves, e incluso para el caso de los capuchinos del sur, el valor de dichas diferencias en el reconocimiento de especie fueron puestas a prueba luego mediante experimentos de playback en el campo (ver Benites 2012). Las diferencias genéticas entre especies fueron estudiadas aprovechando las herramientas moleculares y bioinformáticas disponibles; permitiendo inferir relaciones de parentesco,

estructuración genética a nivel intraespecífico, tiempos de divergencia, tasas de migración o hibridación, etc.

A pesar de la riqueza de información disponible existen limitaciones a la hora de intentar contestar preguntas específicas al respecto del proceso de diversificación de las especies estudiadas, pudiéndose sólo correlacionar los eventos de divergencia con los procesos geológicos y ambientales que potencialmente influenciaron la especiación durante ese periodo. Dicho ejercicio no sólo está sujeto a las limitaciones de datar eventos utilizando herramientas moleculares (Lovette 2004), sino también a posibles cambios en las distribuciones geográficas actuales de las especies con respecto a las ancestrales (ver discusión en la sección 3.5.2). Además, a la hora de inferir la evolución de un carácter sobre un árbol, resulta imposible saber si dicha filogenia está completa; esto es, si se han extinguido especies durante la diversificación del grupo llevándonos a cometer errores al inferir transiciones en los estados de dicho carácter. Por lo tanto, la robustez de las conclusiones a las que se puede arribar en un estudio de este tipo está condicionada a la complejidad del contexto en el que un grupo se diversificó. Los detalles sobre la evolución de los capuchinos del sur o la de las especies en los diferentes grupos de plumaje de *Phrygilus* permanecen en el plano especulativo, en parte debido a los múltiples procesos geológicos y ecológicos que tuvieron lugar en los ambientes en los que estos grupos se diversificaron. Por ejemplo, resulta virtualmente imposible saber si los capuchinos del sur radiaron en simpatría o en alopatría, siendo la simpatría actual producto de un contacto secundario. Quizás el escenario más simple de interpretar dentro de los estudiados sea el caso de las islas Malvinas, debido a que el contexto geográfico condiciona el modo en el que ocurrió la especiación (a través de la colonización de un ambiente previamente desocupado). Si duda el estudio de la evolución en “islas” (islas oceánicas pero también lagos) simplifica la cantidad de

supuestos que deben hacerse a la hora de interpretar los datos. Es posible que en escenarios complejos el estudio de grupos de especies con menor capacidad de dispersión que las aves, así como también un enfoque comparativo utilizando varios grupos de especies, pueda ayudar a contestar preguntas más específicas al respecto del proceso de especiación.

5.2 APORTES AL ESTUDIO DE LA ESPECIACIÓN EN AVES

En el libro *Speciation in Birds*, Price (2007) resume la bibliografía existente al respecto de la especiación en aves, dedicando el capítulo 17 a inferir generalidades de los procesos que son importantes para la diversificación en este grupo de animales. A continuación se resumen dichas generalidades, discutiendo su relación con los resultados de esta tesis.

Preponderancia de la selección natural por sobre la deriva genética: Price (2007) sugiere que es poco probable que la deriva genética juegue un papel importante en la divergencia de aquellos caracteres que contribuyen al aislamiento reproductivo entre especies, favoreciendo en cambio el papel de la selección natural. Sin embargo, este punto de vista no es generalizado y fue disputado por Edwards (2008). No existe evidencia contundente de cual fue el papel de la selección natural en la evolución de los casos analizados en esta tesis.

Los capuchinos del sur difieren principalmente en relación a la coloración y el canto de los machos, sugiriendo un papel preponderante de la selección sexual sin que estos fenotipos tengan necesariamente valor adaptativo (y que por lo tanto hayan evolucionado como producto de la selección natural). En los capuchinos del sur la morfología del pico se encuentra conservada y las diferentes especies no se han especializado para explotar distintos recursos. Las principales

diferencias en las vocalizaciones de los machos de capuchinos del sur son fonológicas o de sintaxis (difieren en el uso de las distintas clases de notas), existiendo la posibilidad de que hayan evolucionado a través de un proceso de mutación y transmisión cultural (Price 2007, capítulo 10). La diferencia con respecto a un caso como el de los Pinzones de Darwin o posiblemente los piquituertos de Norteamérica, es que en estas especies la especialización ecológica impone fuertes presiones de selección sobre la morfología del pico, afectando indirectamente los caracteres del canto (Benkman 2003, Huber y Podos 2006), lo que luego tiene repercusiones sobre la elección de pareja y el aislamiento reproductivo precigótico.

Es posible que la diversificación de la mayoría de las especies dentro de los grupos de plumaje de *Phrygilus* haya sido impulsada por eventos de vicarianza relacionados con las glaciaciones del Pleistoceno, sin producirse una marcada diferenciación ecológica (excepto quizás por el caso de *P. patagonicus*). En este contexto, tanto la deriva como la selección natural pueden haber contribuido a generar diferencias que aislaron reproductivamente a las especies al entrar en contacto secundario.

Finalmente, la colonización de las Islas Malvinas por parte del linaje que dio lugar a *Troglodytes cobbi* es consistente con un efecto fundador. Obligadamente, un pequeño grupo de colonizadores está sujeto a procesos de deriva, además de experimentar quizás nuevas presiones de selección al ocupar nichos ecológicos vacantes.

Predominio de la especiación alopátrica: En aves son contados los casos claros de especiación simpátrica (ver por ejemplo Sorenson et al. 2003, Friesen et al. 2007 o Ryan et al. 2007), llevando a Price (2007) a concluir que casi todos los eventos de especiación involucran la separación de poblaciones en el espacio, al menos durante las etapas tempranas de la

divergencia. Esto es claramente lo ocurrido para los passeriformes de las Islas Malvinas (en especial *Troglodytes cobbi*) y es consistente con la evolución dentro de *Phrygilus*. La cantidad de especies endémicas de islas (no justamente aquellos casos de radiaciones in situ) es evidencia de la preponderancia de la especiación alopátrica. En el contexto de la diversificación de los capuchinos del sur, nuestros datos no permiten saber si algunas especies se han diversificado en simpatría o si esta condición resulta de un contacto secundario.

La divergencia puede ocurrir con cierto grado de flujo génico: Luego de un periodo inicial de divergencia en alopatría, dos especies incipientes pueden hibridar al volver a entrar en contacto y aún mantener su identidad genética. Esto lleva a la formación de zonas híbridas y el reforzamiento de los mecanismos de aislamiento reproductivo precigóticos, siempre y cuando existan aquellos postcigóticos que disminuyan la fertilidad de los híbridos. Los capuchinos del sur muestran evidencia de haber hibridado durante el proceso de divergencia y aún conservar fenotipos diagnósticos. Queda por determinar si los mecanismos de aislamiento reproductivo (pre y postcigóticos, la existencia de estos últimos aún no ha sido explorada y la de los primeros se infiere sobre la base del canto) son suficientes como para evitar que el grupo se convierta en un enjambre híbrido. Las barreras de aislamiento reproductivo, principalmente aquellas precigóticas, son dependientes del ambiente y susceptibles de ser vulneradas cuando las condiciones cambian (Hubbs 1955, Price 2007). Ciertamente, es posible que la degradación de los pastizales aumente las posibilidades de que los capuchinos del sur hibriden, amenazando la identidad genética de las especies a la vez que se reducen sus poblaciones a causa de la destrucción del hábitat. Además, es necesario determinar si la ausencia de flujo génico durante la

evolución de *Troglodytes cobbi* se debe a la falta de migración o a la presencia de mecanismos de aislamiento reproductivo que la separan de *T. aedon*.

La falta de diferenciación ecológica conlleva baja diferenciación morfológica: Cuando las especies divergen en alopatría sin explotar diferentes nichos ecológicos, la diferenciación morfológica suele ser baja (Price 2007). A lo largo de esta tesis se identificaron varios casos de linajes intraespecíficos altamente divergentes (por ejemplo en *Cistothorus platensis*, *Troglodytes aedon*, *Phrygilus unicolor*, y quizás *Sporophila bouvreuil*). Este es un punto común que tienen los tres estudios de caso realizados y un patrón observado en muchas otras aves Neotropicales (ver Kerr et al. 2009, Tavares et al. 2009). Desde el punto de vista del Concepto Filogenético de Especie, estos linajes diagnosticables a través de marcadores genéticos (principalmente mitocondriales) podrían considerarse especies crípticas, y es posible que presenten una morfología conservada al no haberse diferenciado ecológicamente. Muchos de estos linajes divergentes se encuentran en simpatría, posiblemente como producto del contacto secundario. Queda por determinar qué mecanismos los mantienen aislados reproductivamente, y el estudio de varios de estos casos sin duda revelará resultados interesantes.

Especiación ecológica rápida: El surgimiento de grandes grupos de especies recientes (como los Pinzones de Darwin) está asociado a fuertes presiones de selección causadas por la diferenciación ecológica (Price 2007). Como se mencionó anteriormente, los capuchinos del sur presentan una morfología y ecología conservada, pudiendo ser la selección sexual la responsable de crear las fuertes presiones de selección que impulsaron la rápida diversificación del grupo.

5.3 PERSPECTIVAS FUTURAS

Históricamente los avances en las técnicas de secuenciación han revolucionado el campo de la ecología molecular. La posibilidad de amplificar y secuenciar marcadores mitocondriales y nucleares incrementó el nivel de resolución genética al que se puede llegar con respecto a los estudios que utilizaban datos derivados de polimorfismos en el largo de fragmentos de restricción (RFLPs). Los avances recientes en las técnicas de secuenciación (tecnología de próxima generación) darán lugar a estudios evolutivos a nivel genómico, permitiendo comprender las diferentes perspectivas de la historia natural de un grupo que ofrecen el genoma nuclear y mitocondrial. Además, se podrán explorar los genomas de diferentes especies para entender la genética de aquellos caracteres que influyen la elección de pareja y eventualmente la especiación (por ejemplo genes que determinan los patrones de coloración). Indudablemente esta estrategia dará mejores resultados que la alternativa de buscar genes candidatos responsables de ciertos fenotipos, que ha sido poco exitosa hasta el momento (ver por ejemplo Mundy 2005 para un análisis del papel del gen MC1R en la melanización en aves). Debido a su origen reciente y baja diferenciación en marcadores neutrales, los capuchinos del sur representan un excelente modelo para un análisis de este tipo, destinado a revelar qué genes son responsables de las diferencias fenotípicas entre especies.

Finalmente, las diferencias de coloración y canto encontradas en *Troglodytes cobbi* y *T. aedon* y en los capuchinos del sur deberán ponerse a prueba en experimentos de campo, algo que ya se ha comenzado a hacer para el segundo grupo (Benites 2012). Un estudio de campo a largo plazo de los capuchinos del sur integrando análisis genéticos, comportamentales y ecológicos

(como aquellos realizados en los Pinzones de Darwin o *Ficedula albicollis* y *F. hipoleuca*) sin duda aportará significativamente al conocimiento al respecto de la especiación en aves.

BIBLIOGRAFÍA

- Areta, J. I. 2008 Entre Ríos Seed-eater (*Sporophila zelichi*): a species that never was. *J Field Ornithol* **79**, 352-363.
- Areta, J. I., Pearman, M. 2009 Natural history, morphology, evolution, and taxonomic status of the Earthcreeper *Upucerthia saturator* (Furnariidae) from the Patagonian forests of South America. *Condor* **111**, 135-149.
- Arnaiz-Villena, A., Álvarez-Tejado, M., Ruiz-del-Valle, V., García-de-la-Torre, C., Varela, P., Recio, M. J., Ferre, S., Martínez-Laso, J. 1998 Phylogeny and rapid northern and southern hemisphere speciation of goldfinches during the Miocene and Pliocene epochs. *Cell Mol Life Sci* **54**, 1031-1041.
- Avise, J. C., Robinson, T. J. 2008 Hemiplasy: A new term in the lexicon of phylogenetics. *Syst Biol* **57**, 503-507.
- Axelsson, E., Smith, N. G., Sundstrom, H., Berlin, S., Ellegren, H. 2004 Male-biased mutation rate and divergence in autosomal, Z-linked and W-linked introns of chicken and turkey. *Mol Biol Evol* **21**, 1538-1547.
- Backström, N., Lindell, J., Zhang, Y., Palkopoulou, E., Qvarnström, A., Saetre, G. -P., Ellegren, H. 2010 A high-density scan of the Z chromosome in *Ficedula* flycatchers reveals candidate loci for diversifying selection. *Evolution* **64**, 3461-3475.
- Bates, J. M., Zink, R. M. 1994 Evolution into the Andes: molecular evidence for species relationships in the genus *Leptopogon*. *Auk* **111**, 507-515.
- Benites, P., Eaton, M. D., Lijtmaer, D. A., Loughheed, S. C., Tubaro, P. L. 2010 Analysis from avian visual perspective reveals plumage colour differences among females of capuchino seed-eaters (*Sporophila*). *J Avian Biol* **41**, 597-602.
- Benites, P. 2012 Análisis de las diferencias de coloración y vocalizaciones en especies cercanamente emparentadas y simpátricas, y su importancia como mecanismo de aislamiento reproductivo. Tesis doctoral. Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.
- Benkman, C. W. 2003 Divergent selection drives the adaptive radiation of crossbills. *Evolution* **57**, 1176-1181.
- Bertonatti, C., López Guerra, A. 1997 Hibridación entre Cardenal Amarillo (*Gubernatrix cristata*) y Diuca Común (*Diuca diuca*) en estado silvestre, en Argentina. *El Hornero* **14**, 243-246.
- BirdLife International 2011 Species factsheets. IUCN Red List for birds. Downloaded from <http://www.birdlife.org>.
- Brelsford, A., Irwin, D. E. 2009 Incipient speciation despite little assortative mating: the Yellow-Rumped warbler hybrid zone. *Evolution* **63**, 3050-3060.
- Bruen, T. C., Philippe, H., Bryant, D. 2006 A simple and robust statistical test for detecting the presence of recombination. *Genetics* **172**, 2665-2681.
- Brumfield, R. T., Edwards, S. V. 2007 Evolution into and out of the Andes: A Bayesian analysis of historical diversification in *Thamnophilus antshrikes*. *Evolution* **61**, 346-367.
- Burns, K. J., Naoki, K. 2004 Molecular phylogenetics and biogeography of Neotropical tanagers in the genus *Tangara*. *Mol Phylogenet Evol* **32**, 838-854.
- Cabanis, J. L. 1844 *Archiv f Naturg* **10**, 289.

- Cabanne, G., Dhorta, F., Sari, E., Santos, F., Miyaki, C. 2008 Nuclear and mitochondrial phylogeography of the Atlantic forest endemic *Xiphorhynchus fuscus* (Aves: Dendrocolaptidae): Biogeography and systematics implications. *Mol Phylogenet Evol* **49**, 760-773.
- Cadena, C. D., Klicka, J., Ricklefs, R. E. 2007 Evolutionary differentiation in the Neotropical montane region: molecular phylogenetics and phylogeography of Buarremon brush-finches (Aves, Emberizidae). *Mol Phylogenet Evol* **44**, 993-1016.
- Campagna, L., Lijtmaer, D. A., Kerr, K. C. R., Barreira, A. S., Hebert, P. D. N., Loughheed, S. C., Tubaro, P. L. 2010 DNA barcodes provide new evidence of a recent radiation in the genus *Sporophila* (Aves: Passeriformes). *Mol Ecol Resour* **10**, 449-458.
- Campagna, L., Benites, P., Loughheed, S. C., Lijtmaer, D. A., Di Giacomo, A. S., Eaton, M. D., Tubaro, P. L. 2011a Rapid phenotypic evolution during incipient speciation in a continental avian radiation. *Proc R Soc Lond B*, **En prensa**.
- Campagna, L., Geale, K., Handford, P., Lijtmaer, D. A., Tubaro, P. L., Loughheed, S. C. 2011b A molecular phylogeny of the Sierra-Finches (*Phrygilus*, Passeriformes): extreme polyphyly in a group of Andean specialists. *Mol Phylogenet Evol* **61**, 521-533.
- Campagna, L., St Clair, J. J. H., Loughheed, S. C., Woods, R. W., Imberti, S., Tubaro, P. L. 2012 Divergence between passerine populations from the Malvinas - Falkland Islands and their continental counterparts: a comparative phylogeographic study. *Biol J Linn Soc*, **En prensa**.
- Chao, A., Chazdon, R. L., Colwell, R. K., Shen, T. -J. 2005 A new statistical approach for assessing compositional similarity based on incidence and abundance data. *Ecol Lett* **8**, 148-159.
- Chaves, A. V., Clozato, C. L., Lacerda, D. R., Sari, E. H. R., Santos, F. R. 2008 Molecular taxonomy of Brazilian tyrant-flycatchers (Passeriformes: Tyrannidae). *Mol Ecol Resour* **8**, 1169-1177.
- Chesser, R T. 1999 Molecular systematics of the rhinocryptid genus *Pteroptochos*. *Condor* **101**, 439-446.
- Chesser, R T. 2000 Evolution in the high Andes: the phylogenetics of *Muscisaxicola* ground-tyrants. *Mol Phylogenet Evol* **15**, 369-380.
- Chesser, R T. 2004 Systematics, evolution, and biogeography of the south american ovenbird genus *Cinclodes*. *Auk* **121**, 752-766.
- Cheviron, Z. A., Capparella, A. P., Vuilleumier, F. 2005 Molecular phylogenetic relationships among the Geositta miners (Furnariidae) and biogeographic implications for avian speciation in Fuego-Patagonia. *Auk* **122**, 158-174.
- Clapperton, C. M. 1993 Nature of environmental changes in South America at the Last Glacial Maximum. *Palaeogeogr Palaeoclimatol Palaeoecol* **101**, 189-208.
- Clement, M., Posada, D., Crandall, K. A. 2000 TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Mol Ecol* **9**, 1657-1659.
- Colwell, R. K. 2000 EstimateS: Statistical estimation of species richness and shared species from samples (Software and User's Guide), Version 6. <http://viceroy.eeb.uconn.edu/estimates>.
- Coyne, J. A., Orr, H. A. 2004 Speciation. Sunderland, Massachusetts: Sinauer.

- Cracraft, J. 1983 Species concepts and speciation analysis. En: Johnston, R. F., ed. Current Ornithology. New York: Plenum Press.
- Croteau, E. K., Lougheed, S. C., Krannitz, P. G., Mahony, N. A., Walker, B. L., Boag, P. T. 2007 Genetic population structure of the sagebrush Brewer's sparrow, *Spizella breweri breweri*, in a fragmented landscape at the northern range periphery. *Conserv Genet* **8**, 1453-1463.
- Darwin, C. R. 1838 The zoology of the voyage of H. M. S. Beagle, under the command of Captain Fitzroy, R. N., during the years 1832 to 1836. London: Smith, Elder and Co.
- Darwin, C. R. 1839 *Narrative of the surveying voyages of His Majesty's Ships Adventure and Beagle between the years 1826 and 1836, describing their examination of the southern shores of South America, and the Beagle's circumnavigation of the globe. Journal and remarks 1832-1836.* London: Henry Colburn.
- de Queiroz, K. 1998 The general lineage concept of species, species criteria, and the process of speciation. En: Howard, D. J., Berlocher, S. H., eds. Endless forms: Species and speciation. New York: Oxford University Press.
- de Queiroz, K. 2007 Species concepts and species delimitation. *Syst Biol* **56**, 879-886.
- de Vivo, M., Carmignotto, A. P. 2004 Holocene vegetation change and the mammal faunas of South America and Africa. *J Biogeogr* **31**, 943-957.
- Degnan, J. H., Rosenberg, N. A. 2009 Gene tree discordance, phylogenetic inference and the multispecies coalescent. *Trends Ecol Evol* **24**, 332-340.
- Diethard, T., Ellegren, H., Detlef, W. 2010 Next generation molecular ecology. *Mol Ecol* **19**, 1-3.
- Double, M. C., Dawson, D., Burke, T., Cockburn, A. 1997 Finding the fathers in the least faithful bird: A microsatellite-based genotyping system for the superb fairy-wren *Malurus cyaneus*. *Mol Ecol* **6**, 691-693.
- Dowling, T. E., Demarais, B. D. 1993 Evolutionary significance of introgressive hybridization in cyprinid fishes. *Nature* **362**, 444-446.
- Dowling, T. E., Secor, C. L. 1997 The role of hybridization and introgression in the diversification of animals. *Annu Rev Ecol Syst* **28**, 593-619.
- Drummond, A. J., Rambaut, A. 2007 BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evol Biol* **7**, 214.
- Edwards, S. V., Jennings, W. B., Shedlock, A. M. 2005 Phylogenetics of modern birds in the era of genomics. *Proc R Soc Lond B* **272**, 979-992.
- Edwards, S. V. 2008 Bird speciation: selection and the origin of species. *Evolution* **62**, 991-995.
- Endler, J. A. 1977 Geographic variation, speciation, and clines. Princeton, New Jersey: Princeton University Press.
- Eva, H. D., Belward, A. S., De Miranda, E. E., Di Bella, C. M., Gond, V., Huber, O., Jones, S., Sgrenzaroli, M., Fritz, S. 2004 A land cover map of South America. *Glob Change Biol* **10**, 731-744.
- Excoffier, L., Lischer, H. E. L. 2010 Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol Ecol Resour* **10**, 564-567.
- Falush, D., Stephens, M., Pritchard, J. K. 2003 Inference of population structure using multilocus genotype data: Linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics* **164**, 1567-1587.

- Felsenstein, J. 1984 Distance methods for inferring phylogenies: a justification. *Evolution* **38**, 16-24.
- Felsenstein, J. 1985 Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* **39**, 783-791.
- Felsenstein, J. 2005 PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.6. Distributed by the author. Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle.
- Filloy, J., Bellocq, M. I. 2006 Spatial variations in the abundance of *Sporophila* seedeaters in the southern Neotropics: Contrasting the effects of agricultural development and geographical position. *Biodivers Conserv* **15**, 3329-3340.
- Fjeldså, J. 1994 Geographical patterns for relict and young species of birds in Africa and South-America and implications for conservation priorities. *Biodivers Conserv* **3**, 207-226.
- Fjeldså, J., Krabbe, N. K. 1990 *The Birds of the High Andes*. Svendborg, Denmark: Apollo Books.
- Fjeldså, J., Rahbek, C. 2006 Diversification of tanagers, a species rich bird group, from lowlands to montane regions of South America. *Integr Comp Biol* **46**, 72-81.
- Freeland, J. R., Boag, P. T. 1999 The mitochondrial and nuclear genetic homogeneity of the phenotypically diverse Darwin's ground finches. *Evolution* **53**, 1553-1563.
- Fridolfsson A. K., Ellegren, H. 1999 A simple and universal method for molecular sexing of non-ratite birds. *J Avian Biol* **30**, 116-121.
- Friesen, V. L., Smith, A. L., Gomez-Diaz, E., Bolton, M., Furness, R. W., Gonzalez-Solis J., Monteiro, L. R. 2007 Sympatric speciation by allochrony in a seabird. *Proc Natl Acad Sci USA* **104**, 18589-18594.
- Fu, Y. X. 1997 Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics* **147**, 915-925.
- Funk, D. J., Omland, K. E. 2003 Species-level paraphyly and polyphyly: Frequency, causes, and consequences, with insights from animal mitochondrial DNA. *Annu Rev Ecol Evol Syst* **34**, 397-423.
- García-Moreno, J. 2001 MtDNA sequences support monophyly of Hemispingus Tanagers. *Mol Phylogenet Evol* **21**, 424-435.
- Garzione, C. N., Hoke, G. D., Libarkin, J. C., Withers, S., MacFadden, B., Eiler, J., Ghosh, P., Mulch, A. 2008. Rise of the Andes. *Science* **320**, 1304-1307.
- Gelman, A., Rubin, D. B. 1992. Inference form iterative simulation using multiple sequences. *Stat Sci* **7**, 457-472.
- Goldstein, D. B., Ru z-Linares, A., Feldman, M., Cavalli-Sforza, L. L. 1995 An evaluation of genetic distances for use with microsatellite loci. *Genetics* **139**, 463-471.
- Goloboff, P., Farris, S., Nixon, K. 2003 TNT: tree analysis using New Technology. Program and documentation, available from the authors, and at <http://www.zmuc.dk/public/phylogeny>.
- Grant, P. R. 1998. *Evolution on islands*. Oxford, UK: Oxford University Press.
- Grant, P. R. 1999 *The ecology and evolution of Darwin's Finches*. Princeton, New Jersey: Princeton University Press.
- Grant, B. R., Grant, P. R. 1992 Hybridization of bird species. *Science* **256**, 193-197.
- Grant, B. R., Grant, P. R. 1996 Cultural inheritance of song and its role in the evolution of Darwin's finches. *Evolution* **50**, 2471-2487.

- Grant, P. R., Grant, B. R. 1997 Hybridization, sexual imprinting, and mate choice. *Am Nat* **149**, 1-28.
- Gregory-Wodzicki, K. M. 2000 Uplift history of the Central and Northern Andes: A review. *Geol Soc Am Bull* **112**, 1091-1105.
- Guarnizo, C. E., Amezcuita, A., Bermingham, E. 2009 The relative roles of vicariance versus elevational gradients in the genetic differentiation of the high Andean tree frog, *Dendropsophus labialis*. *Mol Phylogenet Evol* **50**, 84-92.
- Guindon, S., Gascuel, O. 2003 A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Syst Biol* **52**, 696-704.
- Gunnarsson, U., Hellstrom, A. R., Tixier-Boichard, M., Minvielle, F., Bed'hom, B., Ito, S., Jensen, P., Rattink, A., Vereijken, A. y Andersson, L. 2007 Mutations in SLC45A2 cause plumage color variation in chicken and Japanese quail. *Genetics* **175**, 867-877.
- Haavie, J., Borge, T., Bures, S., Garamszegi, L. Z., Lampe, H. M., Moreno, J., Qvarnström, A., Torok, J., Saetre, G. P. 2004 Flycatcher song in allopatry and sympatry-convergence, divergence and reinforcement. *J Evol Biol* **17**, 227-237.
- Haffer, J. 1969 Speciation in Amazonian Forest Birds. *Science* **165**, 131-137.
- Hall, T. A. 1999 BIOEDIT: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl Acids Symp Ser* **41**, 95-98.
- Hall, J. R., Woods, R. W., Brooke, M. D., Hilton, G. M. 2002 Factors affecting the distribution of landbirds on the Falkland Islands. *Bird Conserv Int* **12**, 151-167.
- Hanotte, O., Zanon, C., Pugh, A., Greig, C., Dixon, A., Burke, T. 1994 Isolation and characterization of microsatellite loci in a passerine bird the Reed Bunting *Emberiza schoeniclus*. *Mol Ecol* **3**, 529-530.
- Hasegawa, M., Kishino, H., Yano, T. A. 1985 Dating of the human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. *J Mol Evol* **22**, 160-174.
- Heads, M. 2009 Inferring biogeographic history from molecular phylogenies. *Biol J Linn Soc* **98**, 757-774.
- Hebert, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L., deWaard, J. R. 2003 Biological identifications through DNA barcodes. *Proc R Soc Lond B* **270**, 313-321.
- Hellmayr, C. E. 1938 Catalogue of Birds of the Americas and the Adjacent Islands. Part 11. *Field Mus Nat Hist Publ Zool Ser* **13**.
- Hey, J. 2010 Isolation with migration models for more than two populations. *Mol Biol Evol* **27**, 905-920.
- Hey, J., Nielsen, R. 2004 Multilocus methods for estimating population sizes, migration rates and divergence time, with applications to the divergence of *Drosophila pseudoobscura* and *D. persimilis*. *Genetics* **167**, 747-760.
- Hey, J., Nielsen, R. 2007 Integration within the Felsenstein equation for improved Markov chain Monte Carlo methods in population genetics. *Proc Natl Acad Sci USA* **104**, 2785-2790.
- Hilton, G. M, Cuthbert, R. J. 2010 The catastrophic impact of invasive mammalian predators on birds of the UK Overseas Territories: a review and synthesis. *Ibis* **152**, 443-458.
- Howard, R., Moore, A. 1991 A complete checklist of the birds of the World, 2nd edn. London: Academic Press.
- Hubbs, C. L. 1955 Hybridization between fish species in nature. *Systematic Zoology* **4**, 1-20.

- Huber, S. K., Podos, J. 2006 Beak morphology and song features covary in a population of Darwin's finches (*Geospiza fortis*). *Biol J Linn Soc* **88**, 489-498.
- Huelsenbeck, J. P., Ronquist, F. 2001 MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* **17**, 754-755.
- Huson, D. H., Bryant, D. 2006 Application of phylogenetic networks in evolutionary studies. *Mol Biol Evol* **23**, 254-267.
- Irwin, D. E., Price, T. 1999 Sexual imprinting, learning and speciation. *Heredity* **82**, 347-354.
- Ivanova, N. V., Dewaard, J. R., Hebert, P. D. N. 2006 An inexpensive, automation-friendly protocol for recovering high-quality DNA. *Mol Ecol Notes* **6**, 998-1002.
- Ivanova, N. V., Clare, E. L., Borisenko, A. V. 2011 Mammalian DNA barcoding. En: Kress, W. J, Erickson, D. L, ed. *DNA Barcodes: Methods and protocols*. New York: Humana Press. **En prensa**.
- Johnson, T. H., Stattersfield, A. J. 1990 A global review of island endemic birds. *Ibis* **132**, 167-180.
- Jønsson, K. A., Fjeldså, J. 2006 A phylogenetic supertree of oscine passerine birds (Aves: Passeri). *Zool Scr* **35**, 149-186.
- Kerje, S., Sharma, P., Gunnarsson, U., Kim, H., Bagchi, S., Fredriksson, R., Schutz, K., Jensen, P., von Heijne, G., Okimoto, R., Andersson, L. 2004 The Dominant white, Dun and Smoky color variants in chicken are associated with insertion/deletion polymorphisms in the *PMEL17* gene. *Genetics* **168**, 1507-1518.
- Kerr K. C., Lijtmaer, D. A., Barreira, A. S., Hebert, P. D. N., Tubaro, P. L. 2009 Probing evolutionary patterns in Neotropical birds through DNA barcodes. *PloS One* **4**, e4379.
- Kimball, R. T., Braun, E. L., Barker, F. K., Bowie, R. C. K., Braun, M. J., Chojnowski, J. L., Hackett, S. J., Han, K. L., Harshman, J., Heimer-Torres, V., Holznagel, W., Huddleston, C. J., Marks, B. D., Miglia, K. J., Moore, W. S., Reddy, S., Sheldon, F. H., Smith, J. V., Witt, C. C., Yuri, T. 2009. A well-tested set of primers to amplify regions spread across the avian genome. *Mol Phylogenet Evol* **50**, 654-660.
- Kimura, M. 1969 The number of heterozygous nucleotide sites maintained in a finite population due to steady flux of mutations. *Genetics* **61**, 893-903.
- Kimura, M. 1980 A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J Mol Evol* **15**, 111-120.
- Klicka, J., Burns, K., Spellman, G. M. 2007 Defining a monophyletic Cardinalini: A molecular perspective. *Mol Phylogenet Evol* **45**, 1014-1032.
- Kroodsmas, D. E., Brewer, D. 2005 Family Troglodytidae (wrens). En: del Hoyo, J., Elliott, A., Christie, D. A., ed. *Handbook of the birds of the world. Volume 10. Cuckoo-Shrikes to Thrushes*. Barcelona: Lynx Editions.
- Kuhner, M. K. 2006 LAMARC 2.0: maximum likelihood and Bayesian estimation of population parameters. *Bioinformatics* **22**, 768-770.
- Langella, O. 1999 Populations 1.2.30: a population genetic software. CNRS UPR9034. <http://www.pge.cnrs-gif.fr/bioinfo/populations/>.

- Ledru, M. P., Rousseau, D. D., Cruz, F. W., Riccomini, C., Karmann, I., Martin, L. 2005 Paleoclimate changes during the last 100,000 yr from a record in the Brazilian Atlantic rainforest region and interhemispheric comparison. *Quaternary Res* **64**, 444-450.
- Librado, P., Rozas, J. 2009 DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* **25**, 1451-1452.
- Lijtmaer, D. A., Sharpe, N. M. M., Tubaro, P. L., Loughheed, S. C. 2004 Molecular phylogenetics and diversification of the genus *Sporophila* (Aves: Passeriformes). *Mol Phylogenet Evol* **33**, 562-579.
- Loughheed, S. C., Freeland, J. R., Handford, P., Boag, P. T. 2000 A molecular phylogeny of warbling-finches (*Pooipiza*): Paraphyly in a Neotropical emberizid genus. *Mol Phylogenet Evol* **17**, 367-378.
- Lovette, I. J. 2004 Mitochondrial dating and mixed-support for the "2% rule" in birds. *Auk* **121**, 1-6.
- Lovette, I. J., Bermingham, E. 1999 Explosive speciation in the New World *Dendroica* warblers. *Proc R Soc Lond B* **266**, 1629-1636.
- Lovette, I. J., Bermingham, E., Ricklefs, R. E. 2002 Clade-specific morphological diversification and adaptive radiation in Hawaiian songbirds. *Proc R Soc Lond B* **269**, 37-42.
- MacArthur, R. H., Wilson, E. O. 1967 *The theory of island speciation*. Princeton, New Jersey: Princeton University Press.
- Machado, E., Silveira, L. F. 2011 Plumage variability and taxonomy of the Capped Seedeater *Sporophila bouvreuil* (Aves: Passeriformes: Emberizidae). *Zootaxa* **2781**, 49-62.
- Mathys B. A., Lockwood, J. L. 2011 Contemporary morphological diversification of passerine birds introduced to the Hawaiian archipelago. *Proc R Soc Lond B* **278**, 2392-2400.
- Mauck, W. M., Burns, K. J. 2009 Phylogeny, biogeography, and recurrent evolution of divergent bill types in the nectar-stealing flowerpiercers (Thraupini: Diglossa and Diglossopsis). *Biol J Linn Soc Lond* **98**, 14-28.
- Mayr, E. 1940 Speciation phenomena in birds. *American Naturalist* **74**.
- Mayr, E. 1982 *The growth of biological thought: Diversity, evolution, and inheritance*. Cambridge, Massachusetts: Belknap Press of Harvard University Press.
- McCracken, K. G., Bulgarella, M., Johnson, K. P., Kuhner, M. K., Trucco, J., Valqui, T. H., Wilson, R. E., Peters, J. L. 2009 Gene flow in the face of countervailing selection: Adaptation to high-altitude hypoxia in the β A hemoglobin subunit of Yellow-billed Pintails in the Andes. *Mol Biol Evol* **26**, 815-827.
- McCracken K. G., Wilson, R. E. 2011 Gene flow and hybridization between numerically imbalanced populations of two duck species in the Falkland Islands. *PLoS One* **6**, e23173.
- McDowall, R. M. 2005 Falkland Islands biogeography: converging trajectories in the South Atlantic Ocean. *J Biogeogr* **32**, 49-62.
- McGuire, J. M., Witt, C. C., Altshuler, D. L., Remsen, J. V. Jr. 2007 Phylogenetic systematics and biogeography of hummingbirds: Bayesian and Maximum likelihood analyses of partitioned data and selection of an appropriate partitioning strategy. *Syst Biol* **56**, 837-856.
- McKay, B. D., Zink, R. M. 2010 The causes of mitochondrial DNA gene tree paraphyly in birds. *Mol Phylogenet Evol* **54**, 647-650.

- Meyer, A. 1993 Phylogenetic relationships and evolutionary processes in East African cichlid fishes. *Trends Ecol Evol* **8**, 279-284.
- Meyer de Schauensee, R. M. 1952 A review of the genus *Sporophila*. *Proc Acad Nat Sci Phil* **104**, 153-196.
- Miller, M. J., Bermingham, E., Ricklefs, R. E., 2007. Historical biogeography of the new world solitaires (*Myadestes* spp.). *Auk* **124**, 868-885.
- Morrone, J. J., Posadas, P. 2005 Falklands: facts and fiction. *J Biogeogr* **32**, 2183-2187.
- Mundy, N. I. 2005 A window on the genetics of evolution: MC1R and plumage colouration in birds. *Proc R Soc Lond B* **272**, 1633-1640.
- Mundy, N. I., Badcock, N. S., Hart, T., Scribner, K., Janssen, K., Nadeau, N. J. 2004 Conserved genetic basis of a quantitative plumage trait involved in mate choice. *Science* **303**, 1870-1873.
- Nei, M. 1972 Genetic distance between populations. *Am Nat* **106**, 283-292.
- Nei M., Kumar, S. 2000. *Molecular evolution and phylogenetics*. Oxford University Press: Oxford.
- Nelson, D. A. 1989 The importance of invariant and distinctive features in species recognition of bird song. *Condor* **91**, 120-130.
- Nelson, G., Platnick, N. I. 1980 A vicariance approach to historical biogeography. *Bioscience* **30**, 339-343.
- Neumann, K., Wetton, J. H. 1996 Highly polymorphic microsatellites in the house sparrow *Passer domesticus*. *Mol Ecol* **5**, 307-309.
- Nores, M. 1989 *Patrones de distribución y causas de especiación en aves Argentinas*. Tesis doctoral. Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.
- Ouellet, H. 1992 Speciation, zoogeography and taxonomic problems in the Neotropical genus *Sporophila* (Aves: Emberizinae). *Bull BOC* **112**, 125-135.
- Papadopoulou, A., Jones, A. G., Hammonda, P. M., Vogler, A. P. 2009 DNA taxonomy and phylogeography of beetles of the Falkland Islands (Islas Malvinas). *Mol Phylogenet Evol* **53**, 935-947.
- Peakall, R., Smouse, P. E. 2006 GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol Ecol Notes* **6**, 288-295.
- Pérez-Emán, J. L. 2005 Molecular phylogenetics and biogeography of the Neotropical redstarts (*Myioborus*; Aves, Parulinae). *Mol Phylogenet Evol* **37**, 511-528.
- Petren, K. 1998 Microsatellite primers from *Geospiza fortis* and cross-species amplification in Darwin's finches. *Mol Ecol* **7**, 1782-1784.
- Ponce, J. F., Rabassa, J., Coronato, A., Borromei, M. 2011 Palaeogeographical evolution of the Atlantic coast of Pampa and Patagonia from the last glacial maximum to the Middle Holocene. *Biol J Linn Soc* **103**, 363-379.
- Posada, D. 2008 jModelTest: Phylogenetic model averaging. *Mol Biol Evol* **25**, 1253-1256.
- Posada D., Crandall, K. A. 1998 Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* **14**, 817-818.
- Price, T. 2007 *Speciation in birds*. Greenwood Village, Colorado: Roberts and Company.
- Price, T., Lovette, I. J., Bermingham, E., Gibbs, H. L., Richman, A. D. 2000 The imprint of history on communities of North American and Asian warblers. *Am Nat* **156**, 354-367.

- Pritchard, J. K., Stephens, M., Donnelly, P. 2000 Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* **155**, 945-959.
- Puebla-Olivares, F., Bonaccorso, E., Espinosa de los Monteros, A., Omland, K. E., Llorente-Bousquets, J. E., Peterson, A. T., Navarro-Singüenza, A. G. 2008 Speciation in the Emerald Toucanet (*Aulacorhynchus prasinus*) complex. *Auk* **125**, 39-50.
- Qvarnström, A., Haavie, J., Saether, S. A., Eriksson, D., Part, T. 2006 Song similarity predicts hybridization in flycatchers. *J Evol Biol* **19**, 1202-1209.
- Rabassa, J., Coronato, A., Martínez, O. 2011 Late Cenozoic glaciations in Patagonia and Tierra del Fuego: an updated review. *Biol J Linn Soc* **103**, 316-335.
- Rambaut, A., Drummond, A. J. 2007 Tracer v1.4, Available from <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>.
- Randler, C. 2002 Avian hybridization, mixed pairing and female choice. *Anim Behav* **63**, 103-119.
- Ratnasingham, S., Hebert, P. D. N. 2007 BOLD: The Barcode of Life Data System (<http://www.barcodinglife.org>). *Mol Ecol Notes* **7**, 355-364.
- Remsen, J. V. Jr., Cadena, C. D., Jaramillo, A., Nores, M., Pacheco, J. F., Pérez-Emán, J., Robbins, M. B., Stiles, F. G., Stotz, D. F., Zimmer, K. J. 27/08/2011. A classification of the bird species of South America. <http://www.museum.lsu.edu/~Remsen/SACCBaseline.html>: American Ornithologists' Union.
- Rhymer, J. M., Simberloff, D. 1996 Extinction by hybridization and introgression. *Annu Rev Ecol Syst* **27**, 83-109.
- Ribas, C. C., Gaban-Lima, R., Miyaki, C. Y., Cracraft, J. 2005 Historical biogeography and diversification within the Neotropical parrot genus *Pionopsitta* (Aves: Psittacidae). *J Biogeogr* **32**, 1409-1427.
- Rice, W. R. 1989 Analyzing tables of statistical tests. *Evolution* **43**, 223-225.
- Ridgely, R. S., Tudor, G. 1989 *The Birds of South America. Vol I. The Oscine Passerines*. Austin, Texas: University of Texas Press.
- Ridgely, R. S., Tudor, G. 1994 *The Birds of South America. Vol II. The Suboscine Passerines*. Austin, Texas: University of Texas Press.
- Ronquist, F., Huelsenbeck, J. P. 2003 MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* **19**, 1572-1574.
- Roy, M. S., Silva, J. M. C. D., Arctander, P., Garcia-Moreno, J., Fjeldså, J. 1997 The speciation of South American and African birds in montane regions. En: Mindell, D. P., ed. *Avian molecular evolution and systematics*. New York: Academic Press.
- Ryan, P. G., Bloomer, P., Moloney, C. L., Grant, T. J., Delport, W. 2007 Ecological speciation in South Atlantic island finches. *Science* **315**, 1420-1423.
- Sanín, C., Cadena, C. D., Maley, J. M., Lijtmaer, D. A., Tubaro, P. L., Chesser, R. T. 2009 Paraphyly of *Cinclodes fuscus* (Aves: Passeriformes: Furnariidae): Implications for taxonomy and biogeography. *Mol Phylogenet Evol* **53**, 547-555.
- Sato, A., O'hUigin, C., Figueroa, F., Grant, P. R., Grant, B. R., Tichy, H., Klein, J. 1999 Phylogeny of Darwin's finches as revealed by mtDNA sequences. *Proc Natl Acad Sci USA* **96**, 5101-5106.

- Sato, A., Tichy, H., O'hUigin, C., Grant, P. R., Grant, B. R., Klein, J. 2001 On the origin of Darwin's finches. *Mol Biol Evol* **18**, 299-311.
- Schluter, D. 2000 *The ecology of adaptive radiation*. New York: Oxford University Press.
- Sedano, R. E., Burns, K. J. 2010 Are the Northern Andes a species pump for Neotropical birds? Phylogenetics and biogeography of a clade of Neotropical tanagers (Aves: Thraupini). *J Biogeogr* **37**, 325-343.
- Seehausen, O. 2004 Hybridization and adaptive radiation. *Trends Ecol Evol* **19**, 198-207.
- Servant, M., Maley, J., Turcq, B., Absy, M. -L., Brenac, P., Fournier, M., Ledru, M. P. 1993 Tropical forest changes during the Late Quaternary in African and South American lowlands. *Glob Planet Change* **7**, 25-40.
- Seutin, G., White, B. N., Boag, P. T. 1991 Preservation of avian blood and tissue samples for DNA analyses. *Can J Zoolog* **69**, 82-90.
- Shields, G. F., Wilson, A. C. 1987 Calibration of mitochondrial DNA evolution in Geese. *J Mol Evol* **24**, 212-217.
- Shriver, M. D., Jin, L., Boerwinkle, E., Deka, R., Ferrell, R. E., Chakraborty, R. 1995 A novel measure of genetic distance for highly polymorphic tandem repeat loci. *Mol Biol Evol* **12**, 914-920.
- Sibley, C. G., Monroe, B. L. Jr. 1990 *Distribution and Taxonomy of Birds of the World*. New Haven, Connecticut: Yale University Press.
- Silva, J. M. C. 1999 Seasonal movements and conservation of seedeaters of the genus *Sporophila* in South America. *Stud Avian Biol* **19**, 272-280.
- Slater, G.J., Thalmann, O., Leonard, J. A., Schweizer, R. M., Koepfli, K. P., Pollinger, J. P., Rawlence, N. J., Austin, J. J., Cooper, A., Wayne, R. K. 2009 Evolutionary history of the Falklands wolf. *Curr Biol* **19**, R937-R938.
- Sorenson, M. D., Sefc, K. M., Payne, R. B. 2003 Speciation by host switch in brood parasitic indigobirds. *Nature* **424**, 928-931.
- St Clair, J. J. H. 2011 The impacts of invasive rodents on island invertebrates. *Biol Conserv* **144**, 68-81.
- Tabachnick, B., Fidell, L. 2001 *Using multivariate statistics*. New York: Harper Collins College Publishers.
- Tamura, K., Dudley, J., Nei, M., Kumar, S. 2007 MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol Biol Evol* **24**, 1596-1599.
- Tamura, K., Nei, M. 1993 Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Mol Biol Evol* **10**, 512-526.
- Tavaré, S. 1986 Some probabilistic and statistical problems in the analysis of DNA sequences. En: Miura, R. M., ed. *Some mathematical questions in biology - DNA sequence analysis*. Providence, Rhode Island: American Mathematical Society.
- Tavares, E. S., Gonçalves, P., Miyaki, C. Y., Baker, A. J. 2011 DNA barcode detects high genetic structure within Neotropical bird species. *PLoS One* **6**, e28543.
- Tavares, E. S., Baker, A. J. 2008 Single mitochondrial gene barcodes reliably identify sister-species in diverse clades of birds. *BMC Evol Biol* **8**, 81.
- Templeton, A. R., Crandall, K. A., Sing, C. F. 1992 A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. III. Cladogram estimation. *Genetics* **132**, 619-633.

- Theron, E., Hawkins, K., Bermingham, E., Ricklefs, R. E., Mundy, N. I. 2001 The molecular basis of an avian plumage polymorphism in the wild: a melanocortin-1-receptor point mutation is perfectly associated with the melanic plumage morph of the bananaquit, *Coereba flaveola*. *Curr Biol* **11**, 550-557.
- Toews, D. P., Irwin, D. E. 2008 Cryptic speciation in a Holarctic passerine revealed by genetic and bioacoustic analyses. *Mol Ecol* **17**, 2691-2705.
- Vilaça, S. T., Lacerda, D. R., Sari, E. H. R., Santos, F. R. 2006. DNA-based identification applied to *Thamnophilidae* (Passeriformes) species: the first barcodes of Neotropical birds. *Rev Bras Orn* **14**, 7-13.
- Vincek, V., O'hUigin, C., Satta, Y., Takahata, N., Boag, P. T., Grant, P. R., Grant, B. R., Klein, J. 1997 How Large was the Founding Population of Darwin's Finches? *Proc R Soc Lond B* **264**, 111-118.
- Vuilleumier, F. 1991 A quantitative survey of speciation phenomena in Patagonian birds. *Ornitol Neotrop* **2**, 5-28.
- Weir, J. T. 2006 Divergent timing and patterns of species accumulation in lowland and highland Neotropical birds. *Evolution* **60**, 842-855.
- Weir, J. T., Bermingham, E., Miller, M. J., Klicka, J., González, M. A. 2008 Phylogeography of a morphologically diverse Neotropical montane species, the Common Bush-Tanager (*Chlorospingus ophthalmicus*). *Mol Phylogenet Evol* **47**, 650-664.
- Weir, J. T., Schluter, D. 2008 Calibrating the avian molecular clock. *Mol Ecol* **17**, 2321-2328.
- Wenink, P. W., Baker, A. J., Tilanus, M. G. J. 1994 Mitochondrial control-region sequences in two shorebird species, the Turnstone and the Dunlin, and their utility in population genetic studies. *Mol Biol Evol* **11**, 22-31.
- Wilgenbusch, J. C., Warren, D. L., Swofford, D. L. 2004 AWTY: A system for graphical exploration of MCMC convergence in Bayesian phylogenetic inference. <http://ceb.csit.fsu.edu/awty>.
- Wirtz, P. 1999 Mother species-father species: unidirectional hybridization in animals with female choice. *Anim Behav* **58**, 1-12.
- Woods, R. W. 1993 Cobb's Wren Troglodytes (aedon) cobbi of the Falkland Islands. *Bul BOC* **113**, 195-207.
- Woods, R. W. 2000. Flowering plants of the Falkland Islands: a guide to 46 of the flowering plants including 13 endemic to the Falklands. London: Falklands Conservation.
- Woods, R. W., Woods, A. 1997 Atlas of breeding birds of the Falkland Islands. Oswestry, UK: Anthony Nelson Ltd.
- Woods, R. W., Woods, A. 2006 Birds and mammals of the Falkland Islands. Old Basing, Hampshire, UK: WILDGuides Ltd.
- Wu, C. I. 2001 The genic view of the process of speciation. *J Evol Biol* **14**, 851-865.

APÉNDICES

Apéndice 1.1 (capítulo II): Grabaciones utilizadas para evaluar diferencias en las vocalizaciones de especies de *Sporophila* (N.D.: información no disponible).

Especie ^a	Número de cantos	Localidad	Latitud	Longitud	Año	Fuente ^b	Número de catálogo	Autor
<i>S. bouvreuil bouvreuil</i>	9	Curaçá, Bahía, Brasil	-9	-39.91	1997	CNSN	Cassette 6, lado B	J Mazar Barnett
<i>S. bouvreuil bouvreuil</i>	10	Curaçá, Bahía, Brasil	-9	-39.91	1997	CNSN	Cassette 6, lado B	J Mazar Barnett
<i>S. bouvreuil pileata</i>	5	Minas Gerais, Brasil	-17.97	-43.81	1999	MLNS	113420	CA Marantz
<i>S. bouvreuil</i>	5	Bahía, Brasil	-11.4	-41.27	1992	British Library	73603	M Pearman
<i>S. bouvreuil</i>	3	Distrito Federal, Brasil	-15.8	-47.94	1984	MLNS	34089	TA Parker III
<i>S. bouvreuil pileata</i>	2	Corrientes, Argentina	-28.77	-57.84	N.D.	López-Lanús 2008	<i>S. bouvreuil</i> 1	R Fraga
<i>S. bouvreuil pileata</i>	1	Estancia la Yegreña, Itapuá, Paraguay	-26.79	-55.67	2002	López-Lanús 2008	<i>S. bouvreuil</i> 2	R Fraga
<i>S. bouvreuil pileata</i>	1	Estancia la Yegreña, Itapuá, Paraguay	-26.79	-55.67	2002	López-Lanús 2008	<i>S. bouvreuil</i> 3	R Fraga
<i>S. bouvreuil pileata</i>	3	Candelaria, Misiones, Argentina	-27.46	-55.74	1995	López-Lanús 2008	<i>S. bouvreuil</i> 4	M Castelino
<i>S. bouvreuil pileata</i>	1	Candelaria, Misiones, Argentina	-27.46	-55.74	1999	López-Lanús 2008	<i>S. bouvreuil</i> 5	M Castelino
<i>S. caerulescens</i>	5	Parque Nacional El Palmar, Entre Ríos, Argentina	-31.91	-58.24	N.D.	Straneck y Carrizo 1990	Corte 52	R Straneck
<i>S. caerulescens</i>	3	Paso de las Tropas, Calamuchita, Córdoba, Argentina	-32.27	-64.62	2000	CNSN	Cassette 2, lado A, Corte 45	R Straneck
<i>S. caerulescens</i>	1	Sierra Chica, Quebrada de Ruiz, Calamuchita, Córdoba, Argentina	-32.27	-64.62	2000	CNSN	Cassette 2, lado B, Corte 77	R Straneck
<i>S. caerulescens</i>	5	Paso de las Tropas, Calamuchita, Córdoba, Argentina	-32.27	-64.62	2000	CNSN	Cassette 3, lado A, Corte 87	R Straneck
<i>S. caerulescens</i>	5	Paso de las Tropas, Calamuchita, Córdoba, Argentina	-32.27	-64.62	2000	CNSN	Cassette 3, lado A, Corte 95	R Straneck
<i>S. caerulescens</i>	6	Paso de las Tropas, Calamuchita, Córdoba, Argentina	-32.27	-64.62	2001	CNSN	Cassette 3, lado B, Corte 102	R Straneck
<i>S. caerulescens</i>	5	Sierra Chica, Quebrada de Ruiz, Calamuchita, Córdoba, Argentina	-32.27	-64.62	2001	CNSN	Cassette 3, lado B, Corte 109	R Straneck
<i>S. caerulescens</i>	10	Sierra Chica, Quebrada de Ruiz, Calamuchita, Córdoba, Argentina	-32.27	-64.62	2001	CNSN	Cassette 13, lado A, Corte 433	R Straneck
<i>S. caerulescens</i>	10	Sierra Chica, Quebrada de Ruiz, Calamuchita, Córdoba, Argentina	-32.27	-64.62	2001	CNSN	Cassette 13, lado A, Corte 433	R Straneck
<i>S. caerulescens</i>	4	Paso de las Tropas, Calamuchita, Córdoba, Argentina	-32.27	-64.62	2001	CNSN	Cassette 13, lado A, Corte 440	R Straneck
<i>S. caerulescens</i>	2	Arroyo Saladillo, 25 de Mayo, Buenos Aires, Argentina	-35.43	-60.17	2006	López-Lanús 2008	<i>S. caerulescens</i> 1	B López-Lanús
<i>S. caerulescens</i>	3	Los Picasos, Tres Marías, Formosa, Argentina	-26.33	-58.2	2005	López-Lanús 2008	<i>S. caerulescens</i> 7	F Gorleri
<i>S. caerulescens</i>	3	Reserva Costanera Sur, Buenos Aires, Argentina	-34.61	-58.34	2001	López-Lanús 2008	<i>S. caerulescens</i> 5	C Ferrari

<i>S. caeruleus</i>	5	Arroyo Yabotí, Misiones, Argentina	-27.02	-54.11	1992	López-Lanús 2008	<i>S. caeruleus</i> 6	M Castelino
<i>S. caeruleus</i>	3	Estancia Malabrigo, Entre Ríos, Argentina	-31.94	-59.21	2004	López-Lanús 2008	<i>S. caeruleus</i> 3	R Fraga
<i>S. castaneiventris</i>	8	Amazonas, Brasil	-3.41	-65.92	1998	MLNS	113196	MA Curtis
<i>S. castaneiventris</i>	2	Amazonas, Brasil	-3.41	-65.92	1998	MLNS	113197	MA Curtis
<i>S. castaneiventris</i>	18	Amazonas, Venezuela	2.84	-65.16	1972	MLNS	71533	PA Schwartz
<i>S. castaneiventris</i>	2	Loreto, Perú	-4.27	-74.18	1987	MLNS	45575	TA Parker III
<i>S. castaneiventris</i>	6	Demerara-Mahaica, Guyana	6.52	-58.13	1994	MLNS	68491	DW Finch
<i>S. castaneiventris</i>	3	Mitú, Vaupes, Colombia	1.2	-70.17	1993	British Library	72205	M Pearman
<i>S. castaneiventris</i>	6	Amazonas, Venezuela	2.84	-65.16	1972	MLNS	71535	PA Schwartz
<i>S. castaneiventris</i>	11	Amazonas, Venezuela	2.84	-65.16	1972	MLNS	71534	PA Schwartz
<i>S. castaneiventris</i>	2	Amazonas, Brasil	-3.41	-65.92	1993	MLNS	64719	KJ Zimmer
<i>S. castaneiventris</i>	10	Amazonas, Brasil	-3.41	-65.92	2000	MLNS	127641	CA Marantz
<i>S. castaneiventris</i>	5	San Pablo Road, Yarinacocha, Ucayali, Perú	-8.23	-74.53	1973	FMNH	CA1704-3	BB Coffet Jr.
<i>S. castaneiventris</i>	13	Sil Missionary base, Yarinacocha, Ucayali, Perú	-8.23	-74.53	1981	FMNH	CA607-8	JW Hardy
<i>S. castaneiventris</i>	10	Summer Institute of Linguistics, Yarinacocha, Ucayali, Perú	-8.23	-74.53	1975	FMNH	CA1704-2	BB Coffet Jr.
<i>S. castaneiventris</i>	8	Loreto, Perú	-4.27	-74.18	1987	MLNS	45582	TA Parker III
<i>S. castaneiventris</i>	2	Krall, Colombia	N.D.	N.D.	N.D.	FMNH	CA1860-15	BB Coffet Jr.
<i>S. cinnamomea</i>	21	Laguna Blanca, Paraguay	-23.81	-56.89	2002	CNSN	Cassette 5, lado B y Cassette 6, lado A	J Mazar Barnett
<i>S. cinnamomea</i>	22	Laguna Blanca, Paraguay	-23.81	-56.89	2002	CNSN	Cassette 5, lado B y Cassette 6, lado A	J Mazar Barnett
<i>S. cinnamomea</i>	3	Corrientes, Argentina	-28.77	-57.84	2006	MLNS	132410	MJ Andersen
<i>S. cinnamomea</i>	6	Corrientes, Argentina	-28.77	-57.84	2004	MLNS	139176	LR Macaulay
<i>S. cinnamomea</i>	2	San Javier, Río Negro, Uruguay	-32.66	-58.13	2003	López-Lanús 2008	<i>S. cinnamomea</i> 1	R Fraga
<i>S. cinnamomea</i>	1	San Javier, Río Negro, Uruguay	-32.66	-58.13	2003	López-Lanús 2008	<i>S. cinnamomea</i> 2	R Fraga
<i>S. cinnamomea</i>	3	Corrientes, Argentina	-28.77	-57.84	2006	MLNS	132859	PA Hosner
<i>S. cinnamomea</i>	1	El Palmar, Entre Ríos, Argentina	-31.91	-58.24	1992	British Library	73578	M Pearman
<i>S. cinnamomea</i>	19	Corrientes, Argentina	-28.77	-57.84	2006	MLNS	132397	MJ Andersen
<i>S. cinnamomea</i>	12	Corrientes, Argentina	-28.77	-57.84	2006	MLNS	132876	PA Hosner
<i>S. cinnamomea</i>	3	Las Cruces, Gualeguaychú, Entre Ríos, Argentina	-33.01	-58.52	2001	López-Lanús 2008	<i>S. cinnamomea</i> 8	B López-Lanús
<i>S. cinnamomea</i>	2	Las Cruces, Gualeguaychú, Entre Ríos, Argentina	-33.01	-58.52	2001	López-Lanús 2008	<i>S. cinnamomea</i> 9	B López-Lanús
<i>S. cinnamomea</i>	2	Villa Soriano, Soriano, Río Negro, Uruguay	-33.31	-58.02	2003	López-Lanús 2008	<i>S. cinnamomea</i> 4	R Fraga

<i>S. cinnamomea</i>	2	Villa Soriano, Soriano, Río Negro, Uruguay	-33.31	-58.02	2003	López-Lanús 2008	<i>S. cinnamomea</i> 5	R Fraga
<i>S. cinnamomea</i>	2	Villa Soriano, Soriano, Río Negro, Uruguay	-33.31	-58.02	2003	López-Lanús 2008	<i>S. cinnamomea</i> 3	R Fraga
<i>S. cinnamomea</i>	7	Corrientes, Argentina	-28.77	-57.84	2006	MLNS	132825	PA Hosner
<i>S. collaris</i>	3	Costanera Sur, Buenos Aires, Argentina	-34.61	-58.34	N.D.	Straneck y Carrizo 1990	Corte 49	R Straneck
<i>S. collaris</i>	4	Corrientes, Argentina	-28.77	-57.84	2006	MLNS	132835	PA Hosner
<i>S. collaris</i>	5	Corrientes, Argentina	-28.77	-57.84	2006	MLNS	132833	PA Hosner
<i>S. collaris</i>	3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	CNSN	915	N.D.
<i>S. collaris</i>	5	San Javier, Santa Fe, Argentina	-30.58	-59.95	2006	López-Lanús 2008	<i>collaris</i> BLL1	B López-Lanús
<i>S. hypochroma</i>	3	Corrientes, Argentina	-28.77	-57.84	2006	MLNS	132411	MJ Andersen
<i>S. hypochroma</i>	4	Corrientes, Argentina	-28.77	-57.84	2006	MLNS	132826	PA Hosner
<i>S. hypochroma</i>	5	Carlos Pellegrini, Corrientes, Argentina	-28.53	-57.12	2004	López-Lanús 2008	<i>S. hypochroma</i> 3	D Monteleone
<i>S. hypochroma</i>	1	Carlos Pellegrini, Corrientes, Argentina	-28.53	-57.12	2004	López-Lanús 2008	<i>S. hypochroma</i> 4	D Monteleone
<i>S. hypochroma</i>	4	Carlos Pellegrini, Corrientes, Argentina	-28.53	-57.12	2004	López-Lanús 2008	<i>S. hypochroma</i> 5	D Monteleone
<i>S. hypochroma</i>	3	Perdices, Gualaguaychú, Entre Ríos, Argentina	-33.01	-58.52	2004	López-Lanús 2008	<i>S. hypochroma</i> 6	S Wasyluk
<i>S. hypochroma</i>	2	Colonia San Joaquín, San Javier, Santa Fe, Argentina	-30.58	-59.95	2004	López-Lanús 2008	<i>S. hypochroma</i> 7	B López-Lanús
<i>S. hypochroma</i>	1	San Javier, Santa Fe, Argentina	-30.58	-59.95	2004	López-Lanús 2008	<i>S. hypochroma</i> 8	B López-Lanús
<i>S. hypochroma</i>	1	San Javier, Santa Fe, Argentina	-30.58	-59.95	2006	López-Lanús 2008	<i>S. hypochroma</i> 10	B López-Lanús
<i>S. hypochroma</i>	1	San Javier, Santa Fe, Argentina	-30.58	-59.95	2004	López-Lanús 2008	<i>S. hypochroma</i> 11	B López-Lanús
<i>S. hypochroma</i>	4	Arrocera Testa, San Javier, Santa Fe, Argentina	-30.58	-59.95	2004	López-Lanús 2008	<i>S. hypochroma</i> 12	B López-Lanús
<i>S. hypochroma</i>	1	San Javier, Santa Fe, Argentina	-30.58	-59.95	2004	López-Lanús 2008	<i>S. hypochroma</i> 1	B López-Lanús
<i>S. hypochroma</i>	6	San Javier, Santa Fe, Argentina	-30.58	-59.95	2004	López-Lanús 2008	<i>S. hypochroma</i> 2	B López-Lanús
<i>S. hypoxantha</i>	3	30 km O de Villa Trinidad, Santa Fe, Argentina	-30.13	-62.32	1978	CNSN	Cassette Sporophila, lado A	R Straneck
<i>S. hypoxantha</i>	12	Corrientes, Argentina	-28.77	-57.84	2006	MLNS	132432	MJ Andersen
<i>S. hypoxantha</i>	12	Corrientes, Argentina	-28.77	-57.84	2006	MLNS	132844	PA Hosner
<i>S. hypoxantha</i>	1	Corrientes, Argentina	-28.77	-57.84	2006	MLNS	132832	PA Hosner
<i>S. hypoxantha</i>	2	Argentina	N.D.	N.D.	2004	MLNS	139152	LR Macaulay
<i>S. hypoxantha</i>	10	Corrientes, Argentina	-28.77	-57.84	2006	MLNS	132843	PA Hosner
<i>S. hypoxantha</i>	14	Corrientes, Argentina	-28.77	-57.84	2006	MLNS	132877	PA Hosner
<i>S. hypoxantha</i>	18	Corrientes, Argentina	-28.77	-57.84	2006	MLNS	132431	MJ Andersen
<i>S. hypoxantha</i>	1	Río Grande do Sul, Brasil	-30.01	-51.23	1971	MLNS	67597	PA Schwartz
<i>S. hypoxantha</i>	8	Río Grande do Sul, Brasil	-30.01	-51.23	1971	MLNS	67598	PA Schwartz

<i>S. hypoxantha</i>	5	Puente Fray Bentos, Gualaguaychú, Entre Ríos, Argentina	-33.01	-58.52	2001	López-Lanús 2008	<i>S. hypoxantha</i> 1	B López-Lanús
<i>S. hypoxantha</i>	1	Arroyo Saladillo, 25 de Mayo, Buenos Aires, Argentina	-35.43	-60.17	2006	López-Lanús 2008	<i>S. hypoxantha</i> 3	B López-Lanús
<i>S. hypoxantha</i>	6	Estancia las Cruces, Gualaguaychú, Entre Ríos, Argentina	-33.01	-58.52	2001	López-Lanús 2008	<i>S. hypoxantha</i> 2	B López-Lanús
<i>S. leucoptera</i>	1	Una, Bahía, Brasil	-15.27	-39.07	1997	CNSN	Cassette 11, lado A	J Mazar Barnett
<i>S. leucoptera</i>	2	Una, Bahía, Brasil	-15.27	-39.07	1999	CNSN	Cassette 65, lado B	J Mazar Barnett
<i>S. leucoptera</i>	5	Una, Bahía, Brasil	-15.27	-39.07	2000	CNSN	Cassette 66	J Mazar Barnett
<i>S. leucoptera</i>	2	Alagoas, Alagoas, Brasil	-9.57	-36.78	2001	MLNS	127903	MA Curtis
<i>S. leucoptera</i>	3	Mato Grosso, Mato Grosso, Brasil	-15.58	-56.05	1998	MLNS	89186	MA Curtis
<i>S. leucoptera</i>	1	Esteros del Iberá, Corrientes, Argentina	-28.53	-57.12	2004	López-Lanús 2008	<i>S. leucoptera</i> 1	D Monteleone
<i>S. leucoptera</i>	4	Esteros del Iberá, Corrientes, Argentina	-28.53	-57.12	2004	López-Lanús 2008	<i>S. leucoptera</i> 2	D Monteleone
<i>S. leucoptera</i>	1	Laguna de Oca, Formosa, Argentina	-26.23	-58.2	2006	López-Lanús 2008	<i>S. leucoptera</i> 3	U Olstein
<i>S. leucoptera</i>	3	Laguna de Oca, Formosa, Argentina	-26.23	-58.2	2006	López-Lanús 2008	<i>S. leucoptera</i> 4	U Olstein
<i>S. leucoptera</i>	2	Los Picasos, Tres Marías, Formosa, Argentina	-26.33	-58.21	2005	López-Lanús 2008	<i>S. leucoptera</i> 5	F Gorleri
<i>S. melanogaster</i>	7	Río Lava Tudo, Lages, Santa Catarina, Brasil	-27.81	-50.32	2008	López-Lanús 2008	<i>S. melanogaster</i> 1	M Repenning
<i>S. melanogaster</i>	2	Arroio Agua Branca, Bom Jesus, Río Grande do Sul, Brasil	-28.66	-50.44	2007	López-Lanús 2008	<i>S. melanogaster</i> 2	M Repenning
<i>S. melanogaster</i>	3	Arroio Agua Branca, Bom Jesus, Río Grande do Sul, Brasil	-28.66	-50.44	2007	López-Lanús 2008	<i>S. melanogaster</i> 3	M Repenning
<i>S. melanogaster</i>	6	Río Grande do Sul, Brasil	-30.01	-51.23	1979	MLNS	melanogaster 25401	F Silva
<i>S. melanogaster</i>	1	Río Grande do Sul, Brasil	-30.01	-51.23	1982	MLNS	melanogaster 32161	TA Parker III
<i>S. melanogaster</i>	3	Río Grande do Sul, Brasil	-30.01	-51.23	1982	MLNS	melanogaster 32160	TA Parker III
<i>S. minuta</i>	3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	CNSN	<i>S. minuta</i> 1	N.D.
<i>S. minuta</i>	13	Napo, Ecuador	-0.73	-77.01	1978	FMNH	MI1743-12	BB Coffet Jr.
<i>S. minuta</i>	5	Parque Nacional Isla de Salamanca, Barranquilla, Magdalena, Colombia	10.8	-74.54	1972	FMNH	MI1818-2	BB Coffet Jr.
<i>S. minuta</i>	19	Acapulco, Guerrero, Méjico	16.86	-99.88	1977	FMNH	MI325-7	JW Hardy
<i>S. minuta</i>	14	Distrito Federal, Venezuela	10.5	-66.95	1955	MLNS	15470	PA Schwartz
<i>S. minuta</i>	2	Distrito Federal, Venezuela	10.5	-66.95	1955	MLNS	15471	PA Schwartz
<i>S. minuta</i>	7	Guyana	4.86	-58.93	2001	MLNS	134808	BJ O'Shea
<i>S. minuta</i>	3	Distrito Federal, Venezuela	10.5	-66.95	1955	MLNS	15472	PA Schwartz
<i>S. minuta</i>	7	Distrito Federal, Venezuela	10.5	-66.95	1955	MLNS	15473	PA Schwartz
<i>S. minuta</i>	10	Distrito Federal, Venezuela	10.5	-66.95	1955	MLNS	15475	PA Schwartz
<i>S. minuta</i>	14	Distrito Federal, Venezuela	10.5	-66.95	1956	MLNS	15476	PA Schwartz

S. minuta	15	Distrito Federal, Venezuela	10.5	-66.95	1956	MLNS	15478	PA Schwartz
S. minuta	1	Distrito Federal, Venezuela	10.5	-66.95	1956	MLNS	15479	PA Schwartz
S. minuta	7	Distrito Federal, Venezuela	10.5	-66.95	1956	MLNS	15480	PA Schwartz
S. minuta	14	Distrito Federal, Venezuela	10.5	-66.95	1956	MLNS	15481	PA Schwartz
S. palustris	4	Corrientes, Argentina	-28.77	-57.84	2006	MLNS	132875	PA Hosner
S. palustris	4	Corrientes, Argentina	-28.77	-57.84	2006	MLNS	132836	PA Hosner
S. palustris	1	Corrientes, Argentina	-28.77	-57.84	2006	MLNS	132846	PA Hosner
S. palustris	2	Corrientes, Argentina	-28.77	-57.84	2006	MLNS	132872	PA Hosner
S. palustris	9	Corrientes, Argentina	-28.77	-57.84	2006	MLNS	132845	PA Hosner
S. palustris	2	Bañado Santa Rosa, Corrientes, Argentina	-28.95	-56.6	2003	López-Lanús 2008	S. palustris 1	R Fraga
S. palustris	2	Bañado Santa Rosa, Corrientes, Argentina	-28.95	-56.6	2003	López-Lanús 2008	S. palustris 2	R Fraga
S. palustris	3	Bañado Santa Rosa, Corrientes, Argentina	-28.95	-56.6	2003	López-Lanús 2008	S. palustris 3	R Fraga
S. palustris	2	Estancia las Cruces, Gualaguaychú, Entre Ríos, Argentina	-33.01	-58.52	2001	López-Lanús 2008	S. palustris 4	B López-Lanús
S. palustris	1	Estancia las Cruces, Gualaguaychú, Entre Ríos, Argentina	-33.01	-58.52	2001	López-Lanús 2008	S. palustris 5	B López-Lanús
S. palustris	4	Bañado Santa Rosa, Corrientes, Argentina	-28.95	-56.6	2003	López-Lanús 2008	S. palustris 6	R Fraga
S. palustris	1	Estancia Santa Isabel, Alvear, Corrientes, Argentina	-29.1	-56.55	2003	López-Lanús 2008	S. palustris 7	R Fraga
S. palustris	6	Esteros del Iberá, Corrientes, Argentina	-28.53	-57.12	2004	López-Lanús 2008	S. palustris 12	D Monteleone
S. palustris	39	Corrientes, Argentina	-28.77	-57.84	2006	MLNS	palustris 132887	PA Hosner
S. palustris	8	Corrientes, Argentina	-28.77	-57.84	2006	MLNS	palustris 132838	PA Hosner
S. palustris	1	Estancia Santa Úrsula, Alvear, Corrientes, Argentina	-29.1	-56.55	2003	López-Lanús 2008	S. palustris 8	R Fraga
S. palustris	1	Esteros del Iberá, Corrientes, Argentina	-28.53	-57.12	2004	López-Lanús 2008	S. palustris 10	D Monteleone
S. palustris	4	Esteros del Iberá, Corrientes, Argentina	-28.53	-57.12	2009	CNSN	S. palustris L1	L Campagna
S. palustris	1	Esteros del Iberá, Corrientes, Argentina	-28.53	-57.12	2009	CNSN	S. palustris L4	L Campagna
S. palustris	3	Corrientes, Argentina	-28.77	-57.84	2006	MLNS	132825	PA Hosner
S. palustris	11	Corrientes, Argentina	-28.77	-57.84	2006	MLNS	132873	PA Hosner
S. palustris	4	Argentina	N.D.	N.D.	2004	MLNS	139151	LR Macaulay
S. palustris	21	Corrientes, Argentina	-28.77	-57.84	2006	MLNS	132839	PA Hosner
S. palustris	15	Corrientes, Argentina	-28.77	-57.84	2006	MLNS	132871	PA Hosner
S. palustris	27	Corrientes, Argentina	-28.77	-57.84	2006	MLNS	132424	MJ Andersen
S. ruficollis	3	Parque Nacional El Palmar, Entre Ríos, Argentina	-31.91	-58.24	N.D.	Straneck y Carrizo 1990	Corte 50	R Straneck

<i>S. ruficollis</i>	3	La Paz, Bolivia	-16.5	-68.15	N.D.	MLNS	120837	AB Hennessey
<i>S. ruficollis</i>	3	La Paz, Bolivia	-16.5	-68.15	N.D.	MLNS	120820	AB Hennessey
<i>S. ruficollis</i>	23	Corrientes, Argentina	-28.77	-57.84	2006	MLNS	132412	MJ Andersen
<i>S. ruficollis</i>	1	Puente Barral, 25 de Mayo, Buenos Aires, Argentina	-35.43	-60.17	2006	López-Lanús 2008	<i>S. ruficollis</i> 1	B López-Lanús
<i>S. ruficollis</i>	3	Puente Barral, 25 de Mayo, Buenos Aires, Argentina	-35.43	-60.17	2006	López-Lanús 2008	<i>S. ruficollis</i> 2	B López-Lanús
<i>S. ruficollis</i>	2	Puente Barral, 25 de Mayo, Buenos Aires, Argentina	-35.43	-60.17	2006	López-Lanús 2008	<i>S. ruficollis</i> 3	B López-Lanús
<i>S. ruficollis</i>	2	Puente Barral, 25 de Mayo, Buenos Aires, Argentina	-35.43	-60.17	2006	López-Lanús 2008	<i>S. ruficollis</i> 5	B López-Lanús
<i>S. ruficollis</i>	24	Corrientes, Argentina	-28.77	-57.84	2006	MLNS	132834	PA Hosner
<i>S. ruficollis</i>	2	Puente Barral, 25 de Mayo, Buenos Aires, Argentina	-35.43	-60.17	2006	López-Lanús 2008	<i>S. ruficollis</i> 4	B López-Lanús
<i>S. ruficollis</i>	1	Partido de Saladillo, Buenos Aires, Argentina	-35.64	-59.78	1989	López-Lanús 2008	<i>S. ruficollis</i> 6	MÁ Roda
<i>S. ruficollis</i>	2	Partido de Saladillo, Buenos Aires, Argentina	-35.64	-59.78	1989	López-Lanús 2008	<i>S. ruficollis</i> 7	MÁ Roda
<i>S. ruficollis</i>	1	El Queguay, Paysandú, Uruguay	-32.32	-58.08	2003	López-Lanús 2008	<i>S. ruficollis</i> 9	R Fraga
<i>S. ruficollis</i>	4	La Paz, Bolivia	-16.5	-68.15	2006	MLNS	120819	AB Hennessey
<i>S. ruficollis</i>	5	La Paz, Bolivia	-16.5	-68.15	2006	MLNS	120804	AB Hennessey
<i>S. zelichi</i>	55	Argentina	N.D.	N.D.	2002	CNSN	Cassette Sporophila zelichi, lado A	PL Tubaro
<i>S. zelichi</i>	11	Esteros del Iberá, Corrientes, Argentina	-28.53	-57.12	2009	CNSN	<i>S. zelichi</i> L1	L Campagna
<i>S. zelichi</i>	2	Santo Tomé, Corrientes, Argentina	-28.55	-56.04	2009	CNSN	<i>S. zelichi</i> L2	S Wasylyk

^aLa subespecie de *S. bouvreuil* se menciona sólo cuando esa información estaba disponible.

^bCNSN: Colección Nacional de Sonidos Naturales, MACN; MLNS: Macaulay Library of Natural Sounds; López-Lanús 2008: B López-Lanús (2008), Sonidos de Aves del cono sur, Audiornis Producciones, Buenos Aires; Stranek y Carrizo 1990: R Stranek y G Carrizo (1990), Canto de las aves de los Esteros y Palmares, Editorial L.O.L.A., Buenos Aires; FMNH: Florida Museum of Natural History.

Apéndice 1.2 (capítulo II): Muestras utilizadas para análisis genéticos. Se detallan los números de los registros para las secuencias depositadas en Genbank (N.D.: información no disponible).

Especie	Número de catálogo ^b	Año	Localidad	Lat	Long	Sexo	Muestra ^c	COI	Cyt b	CR	NUMT2	NUMT3	Fib5	CHD1Z	MUSK
<i>S. bouvreuil bouvreuil</i>	ZMUC 130533	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	♂	MLHS	GU070593	JN676994	JN677082	-	JN677255	-	-	-
<i>S. bouvreuil pileata</i>	KUNHM 3699	1996	PN San Rafael, Itapuá, Parag.	-26.52	-55.80	♂	MLHS	GU070599	JN676993	JN677088	JN677209	JN677261	JN677349	JN677054	JN677184
<i>S. bouvreuil pileata</i>	KUNHM 3691	1996	PN San Rafael, Itapuá, Parag.	-26.52	-55.80	♂	MLHS	GU070598	JN676997	JN677087	JN677208	JN677260	JN677348	-	-

S. bouvreuil pileata	KUNHM 408	1996	PN San Luis, Concepción, Parag.	-22.50	-57.50	♂	MLHS	GU070594	JN676995	JN677083	JN677204	JN677256	JN677345	JN677051	JN677181
S. bouvreuil pileata	KUNHM 3664	1996	PN San Rafael, Itapuá, Parag.	-26.52	-55.80	♂	MLHS	GU070596	JN676996	JN677084	JN677205	JN677257	JN677344	-	-
S. bouvreuil pileata	KUNHM 3688	1996	PN San Rafael, Itapuá, Parag.	-26.52	-55.80	♂	MLHS	GU070597	JN676992	JN677086	JN677207	JN677259	JN677347	JN677053	JN677183
S. bouvreuil pileata	KUNHM 3687	1996	PN San Rafael, Itapuá, Parag.	-26.52	-55.80	♂	MLHS	GU070595	JN676991	JN677085	JN677206	JN677258	JN677346	JN677052	JN677182
S. bouvreuil pileata	MACN-Or 48234	1962	Ituzaingó, Corrientes, Arg.	-27.58	-56.68	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. bouvreuil pileata	MACN-Or 48224	1962	Ituzaingó, Corrientes, Arg.	-27.58	-56.68	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. bouvreuil pileata	MACN-Or 48227	1962	Ituzaingó, Corrientes, Arg.	-27.58	-56.68	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. bouvreuil pileata	MACN-Or 48233	1962	Ituzaingó, Corrientes, Arg.	-27.58	-56.68	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. bouvreuil pileata	MACN-Or 58603	1987	San Miguel, Corrientes, Arg.	-28.00	-57.60	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. bouvreuil pileata	MACN-Or 60773	1990	Ituzaingó, Corrientes, Arg.	-27.58	-56.68	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. bouvreuil pileata	MACN-Or 48226	1962	Ituzaingó, Corrientes, Arg.	-27.58	-56.68	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. bouvreuil pileata	MACN-Or 48235	1962	Ituzaingó, Corrientes, Arg.	-27.58	-56.68	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. bouvreuil pileata	MACN-Or 48242	1962	Ituzaingó, Corrientes, Arg.	-27.58	-56.68	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. bouvreuil pileata	MACN-Or 60774	1990	Ituzaingó, Corrientes, Arg.	-27.58	-56.68	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. bouvreuil pileata	MACN-Or 48225	1962	Ituzaingó, Corrientes, Arg.	-27.58	-56.68	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. bouvreuil pileata	MACN-Or 48236	1962	Ituzaingó, Corrientes, Arg.	-27.58	-56.68	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. bouvreuil pileata	MACN-Or 58604	1987	Ituzaingó, Corrientes, Arg.	-27.58	-56.68	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. bouvreuil pileata	MACN-Or 58602	1987	San Miguel, Corrientes, Arg.	-28.00	-57.60	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. bouvreuil pileata	MACN-Or 54925	1978	Ituzaingó, Corrientes, Arg.	-27.58	-56.68	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. bouvreuil pileata	MACN-Or 48231	1962	Ituzaingó, Corrientes, Arg.	-27.58	-56.68	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. bouvreuil pileata	MACN-Or 39763	1959	Arroyo Urugua-í, Misiones, Arg.	-25.95	-54.12	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. bouvreuil pileata	MACN-Or 48223	1962	Ituzaingó, Corrientes, Arg.	-27.58	-56.68	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. bouvreuil pileata	MACN-Or 39764	1960	Posadas, Misiones, Arg.	-27.40	-55.93	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. bouvreuil pileata	MACN-Or 48243	1962	Ituzaingó, Corrientes, Arg.	-27.58	-56.68	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. bouvreuil pileata	MACN-Or 48222	1962	Ituzaingó, Corrientes, Arg.	-27.58	-56.68	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. bouvreuil pileata	MACN-Or 48219	1962	Ituzaingó, Corrientes, Arg.	-27.58	-56.68	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. bouvreuil pileata	MACN-Or 48232	1962	Ituzaingó, Corrientes, Arg.	-27.58	-56.68	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. bouvreuil pileata	MACN-Or 48220	1962	Ituzaingó, Corrientes, Arg.	-27.58	-56.68	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. bouvreuil pileata	MACN-Or 48237	1962	Ituzaingó, Corrientes, Arg.	-27.58	-56.68	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. bouvreuil pileata	MACN-Or 38164	1950	Isla Apipé Grande, Corr., Arg.	-27.50	-56.90	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. bouvreuil pileata	MACN-Or 9002	1916	Santa Ana, Misiones, Arg.	-27.37	-55.58	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-

<i>S. caeruleus</i>	MACN-Or-ct 3192	2007	Estero Poí, Formosa, Arg.	-25.12	-58.17	♂	MLHS	FJ028301	JN677001	JN677092	JN677213	JN677264	-	-	-
<i>S. caeruleus</i>	MACN-Or-ct 3211	2007	Estero Poí, Formosa, Arg.	-25.12	-58.17	♂	MLHS	FJ028302	JN677002	JN677093	-	JN677265	-	-	-
<i>S. caeruleus</i>	MACN-Or-ct 3232	2007	Estero Poí, Formosa, Arg.	-25.12	-58.17	♂	MLHS	FJ028303	JN677003	JN677094	JN677214	JN677266	-	-	-
<i>S. caeruleus</i>	MACN-Or-ct 1358	2006	San Cayetano, Corrientes, Arg.	-27.50	-58.50	♂	MLHS	FJ028298	JN676998	JN677089	JN677210	JN677262	JN677350	JN677055	JN677185
<i>S. caeruleus</i>	MACN-Or-ct 1462	2006	San Cayetano, Corrientes, Arg.	-27.50	-58.50	♂	MLHS	FJ028299	JN676999	JN677090	JN677211	-	JN677351	JN677056	JN677186
<i>S. caeruleus</i>	MACN-Or-ct 1535	2006	San Cayetano, Corrientes, Arg.	-27.50	-58.50	♂	MLHS	FJ028300	JN677000	JN677091	JN677212	JN677263	-	-	-
<i>S. caeruleus</i>	MACN-Or-ct 5176	2009	Iberá, Corrientes, Arg.	-27.86	-56.70	♂	BS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. caeruleus</i>	MACN-Or-ct 5188	2009	Iberá, Corrientes, Arg.	-27.86	-56.70	♂	BS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. caeruleus</i>	MACN-Or-ct 5189	2009	Iberá, Corrientes, Arg.	-27.86	-56.70	♂	BS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. caeruleus</i>	MACN-Or-ct 5191	2009	Iberá, Corrientes, Arg.	-27.86	-56.70	♂	BS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. caeruleus</i>	MACN-Or-ct 5194	2009	Iberá, Corrientes, Arg.	-27.86	-56.70	♂	BS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. caeruleus</i>	MACN-Or-ct 5195	2009	Iberá, Corrientes, Arg.	-27.86	-56.70	Juv/♀	BS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. caeruleus</i>	MACN-Or-ct 5198	2009	Iberá, Corrientes, Arg.	-27.86	-56.70	♂	BS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. caeruleus</i>	MACN-Or-ct 5207	2009	Iberá, Corrientes, Arg.	-27.86	-56.70	♂	BS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. caeruleus</i>	MACN-Or-ct 5209	2009	Iberá, Corrientes, Arg.	-27.86	-56.70	♂	BS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. caeruleus</i>	MACN-Or-ct 5210	2009	Iberá, Corrientes, Arg.	-27.86	-56.70	♂	BS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. caeruleus</i>	MACN-Or-ct 5237	2009	Iberá, Corrientes, Arg.	-27.86	-56.70	♂	BS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. castaneiventris</i>	ZMUC 123777	1996	Isla Sharamentsa, Pastaza, Ecuador	-2.48	-77.01	N.D.	MLHS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. castaneiventris</i>	ZMUC 123784	1996	Isla Sharamentsa, Pastaza, Ecuador	-2.48	-77.01	N.D.	MLHS	GU070583	JN677004	JN677095	-	JN677267	-	-	-
<i>S. castaneiventris</i>	ZMUC 130548	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	MLHS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. castaneiventris</i>	LSUMZ 120303	N.D.	Isla Pasto, Loreto, Perú	-3.48	-72.55	♀	MLHS	GU070585	JN677005	JN677096	-	JN677268	-	-	-
<i>S. castaneiventris</i>	LSUMZ 120308	N.D.	Isla Pasto, Loreto, Perú	-3.48	-72.55	♂	MLHS	GU070584	JN677006	JN677097	JN677215	JN677269	-	-	-
<i>S. cinnamomea</i>	MACN-Or-ct 3121	2006	Iberá, Corrientes, Arg.	-27.86	-56.70	♂	BS	FJ028305	JN677007	JN677098	JN677216	JN677270	JN677352	JN677057	JN677187
<i>S. cinnamomea</i>	MACN-Or-ct 3122	2007	Gualedguaychú, Entre Ríos, Arg.	-33.01	-58.52	♂	BS	FJ028304	JN677008	JN677099	JN677217	JN677271	JN677353	JN677058	JN677188
<i>S. cinnamomea</i>	MACN-Or-ct 3120	2006	Iberá, Corrientes, Arg.	-27.86	-56.70	♀	BS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. cinnamomea</i> ^a	MACN-Or-ct 5192	2009	Iberá, Corrientes, Arg.	-27.86	-56.70	♂	BS	-	-	-	-	-	JN677354	JN677059	JN677189
<i>S. cinnamomea</i>	MACN-Or 52375	1969	Colón, Entre Ríos, Arg.	-32.24	-58.14	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. cinnamomea</i>	MACN-Or 52376	1969	Colón, Entre Ríos, Arg.	-32.24	-58.14	♀	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. cinnamomea</i>	MACN-Or 52373	1970	Colón, Entre Ríos, Arg.	-32.24	-58.14	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. cinnamomea</i>	MACN-Or 52377	1969	Colón, Entre Ríos, Arg.	-32.24	-58.14	♀	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. cinnamomea</i>	MACN-Or 66172	1996	Capital, Corrientes, Arg.	-27.47	-58.84	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-

<i>S. cinnamomea</i>	MACN-Or 65994	1996	Capital, Corrientes, Arg.	-27.47	-58.84	♀	SS	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. cinnamomea</i>	MACN-Or 67202	1997	Capital, Corrientes, Arg.	-27.47	-58.84	♀	SS	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. cinnamomea</i>	MACN-Or 65993	1996	Capital, Corrientes, Arg.	-27.47	-58.84	♀	SS	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. cinnamomea</i>	MACN-Or 65985	1995	Capital, Corrientes, Arg.	-27.47	-58.84	♀	SS	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. cinnamomea</i>	MACN-Or 65953	1996	Capital, Corrientes, Arg.	-27.47	-58.84	♀	SS	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. collaris</i> ^a	MACN-Or-ct 3202	2007	Estero Poí, Formosa, Arg.	-25.12	-58.17	♂	MLHS	FJ028307	JN677013	JN677104	JN677222	JN677276	-	-	-	-
<i>S. collaris</i> ^a	MACN-Or-ct 3185	2007	Estero Poí, Formosa, Arg.	-25.12	-58.17	♂	MLHS	FJ028310	JN677012	JN677103	JN677221	JN677275	-	-	-	-
<i>S. collaris</i> ^a	MACN-Or-ct 1682	2006	Estero Valenzuela, Corr., Arg.	-27.58	-58.66	♂	MLHS	FJ028306	JN677009	JN677100	JN677218	JN677272	-	-	-	-
<i>S. collaris</i> ^a	MACN-Or-ct 1683	2006	Estero Valenzuela, Corr., Arg.	-27.58	-58.66	♂	MLHS	FJ028309	JN677010	JN677101	JN677219	JN677273	-	-	-	-
<i>S. collaris</i> ^a	MACN-Or-ct 1685	2006	Estero Valenzuela, Corr., Arg.	-27.58	-58.66	♂	MLHS	FJ028308	JN677011	JN677102	JN677220	JN677274	-	-	-	-
<i>S. hypochroma</i>	MACN-Or-ct 3131	2007	Gualeguaychú, Entre Ríos, Arg.	-33.01	-58.52	♂	BS	FJ028311	JN677014	JN677105	JN677223	JN677277	JN677355	JN677060	JN677190	-
<i>S. hypochroma</i> ^a	MACN-Or-ct 5229	2009	Iberá, Corrientes, Arg.	-27.86	-56.70	♂	BS	-	-	-	-	-	JN677356	JN677061	-	-
<i>S. hypochroma</i>	MACN-Or 45380	1961	Itaí, Corrientes, Arg.	-27.27	-58.25	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. hypochroma</i>	MACN-Or 45382	1961	Concepción, Corrientes, Arg.	-28.40	-57.88	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. hypochroma</i>	MACN-Or 40035	1960	Itaí baté, Corrientes, Arg.	-27.43	-57.34	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. hypochroma</i>	MACN-Or 40036	1960	Itaí baté, Corrientes, Arg.	-27.43	-57.34	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. hypochroma</i>	MACN-Or 40033	1960	Ituzaingó, Corrientes, Arg.	-27.58	-56.68	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. hypochroma</i>	MACN-Or 66186	1996	Estero Valenzuela, Corr., Arg.	-27.58	-58.66	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. hypochroma</i>	MACN-Or 66609	1996	Estero Valenzuela, Corr., Arg.	-27.58	-58.66	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. hypochroma</i>	MACN-Or 65955	1996	Estero Valenzuela, Corr., Arg.	-27.58	-58.66	♀	SS	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. hypochroma</i>	MACN-Or 65952	1996	Estero Valenzuela, Corr., Arg.	-27.58	-58.66	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. hypochroma</i>	MACN-Or 40031	1960	Ituzaingó, Corrientes, Arg.	-27.58	-56.68	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. hypochroma</i>	MACN-Or 63967	1992	Arroyo Montuoso y Ruta Nacional 4, Ñeembucú, Parag.	-26.80	-58.25	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. hypochroma</i>	MACN-Or 45379	1961	San Luis del Palmar, Corrientes, Arg.	-27.52	-58.57	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. hypochroma</i>	MACN-Or 66715	1997	Estero Valenzuela, Corr., Arg.	-27.58	-58.66	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. hypochroma</i>	MACN-Or 66132	1996	Estero Valenzuela, Corr., Arg.	-27.58	-58.66	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. hypochroma</i>	MACN-Or 43296	1960	Ituzaingó, Corrientes, Arg.	-27.58	-56.68	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. hypochroma</i>	MACN-Or 66125	1996	Estero Valenzuela, Corr., Arg.	-27.58	-58.66	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. hypochroma</i>	MACN-Or 66916	1997	Estero Valenzuela, Corr., Arg.	-27.58	-58.66	♀	SS	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. hypochroma</i>	MACN-Or 66894	1996	Estero Valenzuela, Corr., Arg.	-27.58	-58.66	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. hypochroma</i>	MACN-Or 60265	1989	Santiago, Misiones, Parag.	-27.14	-56.76	♀	SS	-	-	-	-	-	-	-	-	-

S. hypochroma	MACN-Or 66911	1996	Estero Valenzuela, Corr., Arg.	-27.58	-58.66	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S. hypochroma	MACN-Or 66909	1995	Estero Valenzuela, Corr., Arg.	-27.58	-58.66	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S. hypochroma	MACN-Or 43302	1960	Ituzaingó, Corrientes, Arg.	-27.58	-56.68	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S. hypochroma	MACN-Or 40030	1960	Ituzaingó, Corrientes, Arg.	-27.58	-56.68	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S. hypochroma	MACN-Or 40032	1960	Ituzaingó, Corrientes, Arg.	-27.58	-56.68	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or-ct 3073	2007	El Bagual, Formosa, Arg.	-26.17	-58.93	Juv/♀	MLHS	FJ028312	JN677015	JN677106	JN677224	JN677278	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or-ct 3253	2007	El Bagual, Formosa, Arg.	-26.17	-58.93	♂	MLHS	FJ028314	JN677019	JN677110	JN677228	JN677282	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or-ct 3257	2007	El Bagual, Formosa, Arg.	-26.17	-58.93	♂	MLHS	GU070600	JN677020	JN677111	JN677229	JN677283	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or-ct 3258	2007	El Bagual, Formosa, Arg.	-26.17	-58.93	♂	MLHS	GU070601	JN677021	JN677112	-	JN677284	JN677359	JN677062	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or-ct 3091	2004	El Bagual, Formosa, Arg.	-26.17	-58.93	♂	BS	-	-	JN677115	-	-	-	-	-	-
S. hypoxantha	LSUMZ 151408	N.D.	Santa Cruz, Bolivia	-16.38	-60.95	♂	MLHS	GU070604	JN677023	JN677114	JN677231	JN677286	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or-ct 3252	2007	El Bagual, Formosa, Arg.	-26.17	-58.93	♂	MLHS	FJ028313	JN677018	JN677109	JN677227	JN677281	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or-ct 3097	2005	El Bagual, Formosa, Arg.	-26.17	-58.93	♂	BS	GU070602	JN677016	JN677107	JN677225	JN677279	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or-ct 3105	2005	El Bagual, Formosa, Arg.	-26.17	-58.93	♂	BS	-	-	JN677127	-	-	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or-ct 3254	2007	El Bagual, Formosa, Arg.	-26.17	-58.93	♂	MLHS	-	-	JN677129	-	JN677317	JN677357	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or-ct 3256	2007	El Bagual, Formosa, Arg.	-26.17	-58.93	♂	MLHS	-	-	JN677130	-	JN677318	JN677358	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or-ct 3098	2005	El Bagual, Formosa, Arg.	-26.17	-58.93	♂	BS	GU070603	JN677017	JN677108	JN677226	JN677280	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or-ct 3272	2007	Estero Catalina, Formosa, Arg.	-25.11	-58.15	♂	MLHS	FJ028315	JN677022	JN677113	JN677230	JN677285	JN677360	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or-ct 3092	2004	El Bagual, Formosa, Arg.	-26.17	-58.93	♂	BS	-	-	JN677116	-	-	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or-ct 3093	2004	El Bagual, Formosa, Arg.	-26.17	-58.93	♂	BS	-	-	JN677117	-	-	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or-ct 3094	2005	El Bagual, Formosa, Arg.	-26.17	-58.93	♂	BS	-	-	JN677118	-	-	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or-ct 3095	2005	El Bagual, Formosa, Arg.	-26.17	-58.93	♂	BS	-	-	JN677119	-	JN677312	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or-ct 3096	2005	El Bagual, Formosa, Arg.	-26.17	-58.93	♂	BS	-	-	JN677120	-	JN677313	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or-ct 3099	2005	El Bagual, Formosa, Arg.	-26.17	-58.93	♂	BS	-	-	JN677121	-	-	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or-ct 3100	2005	El Bagual, Formosa, Arg.	-26.17	-58.93	♂	BS	-	-	JN677122	-	-	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or-ct 3101	2005	El Bagual, Formosa, Arg.	-26.17	-58.93	♂	BS	-	-	JN677123	-	-	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or-ct 3102	2005	El Bagual, Formosa, Arg.	-26.17	-58.93	♂	BS	-	-	JN677124	-	-	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or-ct 3103	2005	El Bagual, Formosa, Arg.	-26.17	-58.93	♂	BS	-	-	JN677125	-	JN677314	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or-ct 3104	2005	El Bagual, Formosa, Arg.	-26.17	-58.93	♂	BS	-	-	JN677126	-	JN677315	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or-ct 3106	2005	El Bagual, Formosa, Arg.	-26.17	-58.93	♂	BS	-	-	JN677128	-	JN677316	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or 45363	1961	Concepción, Corrientes, Arg.	-28.40	-57.88	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-	-

S. hypoxantha	MACN-Or 43916	1961	Yarruchos, Corrientes, Arg.	-28.17	-55.65	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or 43917	1961	Yarruchos, Corrientes, Arg.	-28.17	-55.65	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or 60348	1989	Sargento Cabral, Chaco, Arg.	-26.81	-59.52	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or 56166	1982	Ingenio Pampín, Corr., Arg.	-27.47	-58.84	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or 58610	1987	General Paz, Corrientes, Arg.	-27.75	-57.62	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or 64296	1993	Ñeembucú, Parag.	-27.03	-57.83	♀	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or 63062	1992	Ñeembucú, Parag.	-27.03	-57.83	♀	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or 63407	1992	Ñeembucú, Parag.	-27.03	-57.83	♀	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or 45381	1961	Itatí, Corrientes, Arg.	-27.27	-58.25	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or 58607	1987	San Roque, Corrientes, Arg.	-28.57	-58.70	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or 63061	1992	Ñeembucú, Parag.	-27.03	-57.83	♀	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or 57775	1986	Presidente Hayes, Parag.	-23.35	-58.74	♀	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or 64260	1993	Ñeembucú, Parag.	-27.03	-57.83	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or 56365	1986	San Pedro, Chaco, Arg.	-	-	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or 58606	1987	General Paz, Corrientes, Arg.	-27.75	-57.62	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or 29639	1944	Pto. Losada, Parag.	-	-	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or 45385	1961	Itatí, Corrientes, Arg.	-27.27	-58.25	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or 45370	1961	Itatí, Corrientes, Arg.	-27.27	-58.25	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or 29640	1944	Pto. Losada, Parag.	-	-	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or-ct 4194	2007	El Bagual, Formosa, Arg.	-26.17	-58.93	Juv/♀	BS	-	-	JN677131	-	JN677319	JN677361	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or-ct 4964	2009	El Bagual, Formosa, Arg.	-26.17	-58.93	♀	BS	-	-	JN677132	-	JN677320	JN677362	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or-ct 4965	2006	El Bagual, Formosa, Arg.	-26.17	-58.93	♂	BS	-	-	JN677133	-	JN677321	JN677363	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or-ct 4966	2009	El Bagual, Formosa, Arg.	-26.17	-58.93	♂	BS	-	-	JN677134	-	JN677322	JN677364	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or-ct 4970	2009	El Bagual, Formosa, Arg.	-26.17	-58.93	♂	BS	-	-	JN677135	-	JN677323	JN677365	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or-ct 4971	2008	El Bagual, Formosa, Arg.	-26.17	-58.93	♂	BS	-	-	JN677136	-	JN677324	JN677366	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or-ct 4972	2008	El Bagual, Formosa, Arg.	-26.17	-58.93	♂	BS	-	-	JN677137	-	JN677325	JN677367	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or-ct 4973	2009	El Bagual, Formosa, Arg.	-26.17	-58.93	♂	BS	-	-	JN677138	-	JN677326	JN677368	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or-ct 4974	2008	El Bagual, Formosa, Arg.	-26.17	-58.93	♂	BS	-	-	JN677139	-	JN677327	JN677369	-	-
S. hypoxantha	MACN-Or-ct 4975	2009	El Bagual, Formosa, Arg.	-26.17	-58.93	♂	BS	-	-	JN677140	-	JN677328	JN677370	JN677063	JN677191
S. hypoxantha	MACN-Or-ct 4976	2008	El Bagual, Formosa, Arg.	-26.17	-58.93	♂	BS	-	-	JN677141	-	JN677329	JN677371	JN677064	-
S. hypoxantha	MACN-Or-ct 5166	2009	Iberá, Corrientes, Arg.	-27.86	-56.70	♂	BS	-	-	JN677142	-	JN677330	JN677372	-	JN677192

<i>S. hypoxantha</i>	MACN-Or-ct 5170	2009	Iberá, Corrientes, Arg.	-27.86	-56.70	♂	BS	-	-	JN677143	-	JN677331	JN677373	-	-
<i>S. hypoxantha</i>	MACN-Or-ct 5177	2009	Iberá, Corrientes, Arg.	-27.86	-56.70	♂	BS	-	-	JN677144	-	JN677332	JN677374	-	JN677193
<i>S. hypoxantha</i>	MACN-Or-ct 5230	2009	Iberá, Corrientes, Arg.	-27.86	-56.70	♂	BS	-	-	JN677145	-	JN677333	JN677375	-	JN677194
<i>S. hypoxantha</i>	MACN-Or-ct 5231	2009	Iberá, Corrientes, Arg.	-27.86	-56.70	♂	BS	-	-	JN677146	-	JN677334	JN677376	-	-
<i>S. hypoxantha</i>	MACN-Or-ct 5234	2009	Iberá, Corrientes, Arg.	-27.86	-56.70	♂	BS	-	-	JN677147	-	JN677335	JN677377	JN677065	JN677195
<i>S. leucoptera</i> ^a	MACN-Or-ct 3212	2007	Estero Poí, Formosa, Arg.	-25.12	-58.17	♂	MLHS	FJ028316	JN677025	JN677149	JN677233	JN677287	-	-	-
<i>S. melanogaster</i>	MCP 2072	2007	Bom Jesús, RG do Sul, Brasil	-28.66	-50.44	♀	BS	GU070605	JN677026	JN677150	JN677234	JN677288	JN677378	JN677066	-
<i>S. melanogaster</i>	MCP 2073	2007	Bom Jesús, RG do Sul, Brasil	-28.66	-50.44	♀	BS	GU070606	JN677027	JN677151	-	JN677289	JN677379	JN677067	-
<i>S. melanogaster</i>	MCP 2074	2007	Bom Jesús, RG do Sul, Brasil	-28.66	-50.44	♂	BS	GU070607	JN677028	JN677152	JN677235	JN677290	JN677380	JN677068	-
<i>S. melanogaster</i>	MCP 2075	2007	Bom Jesús, RG do Sul, Brasil	-28.66	-50.44	♂	BS	GU070608	JN677029	JN677153	JN677236	JN677291	JN677381	JN677069	JN677196
<i>S. melanogaster</i>	MCP 2076	2007	Bom Jesús, RG do Sul, Brasil	-28.66	-50.44	♂	BS	GU070609	JN677030	JN677154	JN677237	JN677292	JN677382	JN677070	-
<i>S. melanogaster</i>	MCP 2077	2007	Bom Jesús, RG do Sul, Brasil	-28.66	-50.44	♀	BS	GU070610	JN677031	JN677155	-	JN677336	JN677383	JN677071	-
<i>S. melanogaster</i>	MCP 2078	2008	Bom Jesús, RG do Sul, Brasil	-28.66	-50.44	♂	BS	GU070611	JN677032	JN677156	-	JN677293	JN677384	JN677072	-
<i>S. minuta</i>	USNM 621081	N.D.	Berbice, Guyana	6.28	-57.50	♂	MLHS	GU070586	JN677033	JN677157	-	JN677294	-	-	-
<i>S. minuta</i>	USNM 622227	N.D.	Wiwitau Mountain, Guyana	2.83	-59.28	♂	MLHS	GU070587	JN677034	JN677158	JN677238	JN677295	-	-	-
<i>S. minuta</i>	STRI TR-SMI1	1992	Livestock Research Station, Trinidad	10.66	-61.29	N.D.	BS	GU070588	JN677035	JN677159	JN677239	JN677296	-	-	-
<i>S. minuta</i>	STRI VE-SMI18	1992	Guaraunos, Venezuela	10.55	-63.12	N.D.	BS	GU070589	JN677038	JN677162	JN677242	JN677299	-	-	-
<i>S. minuta</i>	STRI VE-SMI19	1992	Guaraunos, Venezuela	10.55	-63.12	N.D.	BS	GU070590	JN677039	JN677163	JN677243	JN677300	-	-	-
<i>S. minuta</i>	STRI VE-SMI8	1992	Guaraunos, Venezuela	10.55	-63.12	N.D.	BS	GU070591	JN677036	JN677160	JN677240	JN677297	-	-	-
<i>S. minuta</i>	STRI VE-SMI9	1992	Guaraunos, Venezuela	10.55	-63.12	N.D.	BS	GU070592	JN677037	JN677161	JN677241	JN677298	-	-	-
<i>S. nigrorufa</i>	BMNH 1885.2.10.119	1885	Mato Grosso, Brasil	-20.29	-54.88	♂	SS	GU070612	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. nigrorufa</i>	BMNH 1885.2.10.120	1885	Mato Grosso, Brasil	-20.29	-54.88	♀	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. palustris</i>	MACN-Or-ct 3117	2007	Guauguaychú, Entre Ríos, Arg.	-33.01	-58.52	♂	BS	FJ028317	JN677040	JN677164	JN677244	JN677301	JN677386	JN677073	-
<i>S. palustris</i>	MACN-Or-ct 3372	2007	Guauguaychú, Entre Ríos, Arg.	-33.01	-58.52	♂	BS	FJ028318	JN677042	JN677166	JN677246	JN677303	JN677388	JN677074	-
<i>S. palustris</i>	MACN-Or-ct 3118	2006	Iberá, Corrientes, Arg.	-27.86	-56.70	♂	BS	EU906931	JN677041	JN677165	JN677245	JN677302	JN677387	-	-
<i>S. palustris</i>	MACN-Or-ct 3116	2007	Iberá, Corrientes, Arg.	-27.86	-56.70	♀	BS	-	-	JN677167	-	JN677337	JN677385	-	-
<i>S. palustris</i>	MACN-Or 59947	1989	Santiago, Misiones, Parag.	-27.14	-56.76	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. palustris</i>	MACN-Or 48513	1968	Colón, Entre Ríos, Arg.	-32.24	-58.14	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. palustris</i>	MACN-Or-ct 5168	2009	Iberá, Corrientes, Arg.	-27.86	-56.70	♂	BS	-	-	JN677168	-	JN677338	JN677389	JN677075	JN677197
<i>S. palustris</i>	MACN-Or-ct 5173	2009	Iberá, Corrientes, Arg.	-27.86	-56.70	♂	BS	-	-	JN677169	-	JN677339	JN677390	-	-

S. palustris	MACN-Or-ct 5175	2009	Iberá, Corrientes, Arg.	-27.86	-56.70	♂	BS	-	-	JN677170	-	JN677340	JN677391	JN677076	JN677198
S. palustris	MACN-Or-ct 5178	2009	Iberá, Corrientes, Arg.	-27.86	-56.70	♂	BS	-	-	JN677171	-	JN677341	JN677392	-	-
S. palustris	MACN-Or-ct 5179	2009	Iberá, Corrientes, Arg.	-27.86	-56.70	♂	BS	-	-	JN677172	-	JN677342	JN677393	-	-
S. palustris	MACN-Or-ct 5240	2009	Iberá, Corrientes, Arg.	-27.86	-56.70	♂	BS	-	-	JN677173	-	JN677343	JN677394	-	-
S. ruficollis	KUNHM 129	1996	PN San Luis, Concepción, Parag.	-22.50	-57.50	♂	MLHS	GU070613	JN677049	JN677180	JN677253	JN677310	JN677401	JN677080	JN677202
S. ruficollis	ZMUC 123280	1995	Trapiche, Beni, Bolivia	-13.31	-65.23	N.D.	MLHS	GU070614	JN677048	JN677179	JN677252	JN677309	JN677400	-	-
S. ruficollis	MACN-Or-ct 3128	2007	Guauguaychú, Entre Ríos, Arg.	-33.01	-58.52	♂	BS	EU906932	JN677045	JN677176	JN677249	JN677306	JN677397	JN677077	JN677199
S. ruficollis	MACN-Or-ct 3129	2007	Guauguaychú, Entre Ríos, Arg.	-33.01	-58.52	♂	BS	EU906933	JN677046	JN677177	JN677250	JN677307	JN677398	JN677078	JN677200
S. ruficollis	MACN-Or-ct 3130	2007	Arg.	-	-	♂	BS	FJ028321	JN677047	JN677178	JN677251	JN677308	JN677399	JN677079	JN677201
S. ruficollis	MACN-Or-ct 2108	2006	San Cayetano, Corrientes, Arg.	-27.92	-59.11	♀	MLHS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. ruficollis	MACN-Or-ct 2109	2006	San Cayetano, Corrientes, Arg.	-27.92	-59.11	♀	MLHS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. ruficollis	ZMUC 130030	1994	Estación Biologica Beni, Bolivia	-14.38	-65.10	N.D.	MLHS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. ruficollis	MACN-Or-ct 2086	2006	San Cayetano, Corrientes, Arg.	-27.92	-59.11	♂	MLHS	FJ028320	JN677043	JN677174	JN677247	JN677304	JN677395	-	-
S. ruficollis	MACN-Or-ct 2088	2006	Estero Valenzuela, Corr., Arg.	-27.58	-58.66	N.D.	MLHS	FJ028319	JN677044	JN677175	JN677248	JN677305	JN677396	-	-
S. ruficollis	MACN-Or 3791a	1934	Buenos Aires, Arg.	-36.34	-60.34	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. ruficollis	MACN-Or 46176	1961	Leones, Córdoba, Arg.	-32.67	-62.30	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. ruficollis	MACN-Or 35183	1941	Clucellas, Santa Fe, Arg.	-31.45	-61.70	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. ruficollis	MACN-Or 40039	1960	Ituzaingó, Corrientes, Arg.	-27.58	-56.68	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. ruficollis	MACN-Or 29992	1945	Tostado, Santa Fe, Arg.	-29.23	-61.77	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. ruficollis	MACN-Or 4215	1935	Santa Fe, Arg.	-30.97	-61.05	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. ruficollis	MACN-Or 31392	1948	Leones, Córdoba, Arg.	-32.67	-62.30	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. ruficollis	MACN-Or 18566	1928	Concepción, Tucumán, Arg.	-27.35	-65.60	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. ruficollis	MACN-Or 22425	1928	Concepción, Tucumán, Arg.	-27.35	-65.60	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. ruficollis	MACN-Or 45376	1961	Concepción, Corrientes, Arg.	-28.40	-57.88	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. ruficollis	MACN-Or 45374	1961	San Luis del Palmar, Corrientes, Arg.	-27.52	-58.57	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. ruficollis	MACN-Or 45375	1961	Concepción, Corrientes, Arg.	-28.40	-57.88	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. ruficollis	MACN-Or 22423	1928	Concepción, Tucumán, Arg.	-27.35	-65.60	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. ruficollis	MACN-Or 22421	1928	Concepción, Tucumán, Arg.	-27.35	-65.60	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. ruficollis	MACN-Or 22428	1927	Concepción, Tucumán, Arg.	-27.35	-65.60	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
S. ruficollis	MACN-Or 67324	1998	Estero Valenzuela, Corr., Arg.	-27.58	-58.66	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-

<i>S. ruficollis</i>	MACN-Or 67504	1998	Estero Valenzuela, Corr., Arg.	-27.58	-58.66	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. ruficollis</i>	MACN-Or 18564	1928	Concepción, Tucumán, Arg.	-27.35	-65.60	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. ruficollis</i>	MACN-Or 66243	1996	Estero Valenzuela, Corr., Arg.	-27.58	-58.66	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. ruficollis</i>	MACN-Or 66130	1996	Estero Valenzuela, Corr., Arg.	-27.58	-58.66	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. ruficollis</i>	MACN-Or 56118	1984	Mburucuyá, Corrientes, Arg.	-28.05	-58.22	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. ruficollis</i>	MACN-Or 57955	1996	Mbariguí, Corrientes, Arg.	-27.55	-57.52	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. ruficollis</i>	MACN-Or 66076	1996	Estero Valenzuela, Corr., Arg.	-27.58	-58.66	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. ruficollis</i>	MACN-Or 67354	1998	Estero Valenzuela, Corr., Arg.	-27.58	-58.66	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. ruficollis</i>	MACN-Or 66012	1996	Estero Valenzuela, Corr., Arg.	-27.58	-58.66	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. ruficollis</i>	MACN-Or 66915	1997	Estero Valenzuela, Corr., Arg.	-27.58	-58.66	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. ruficollis</i>	MACN-Or 66131	1996	Estero Valenzuela, Corr., Arg.	-27.58	-58.66	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. ruficollis</i>	MACN-Or 66011	1996	Estero Valenzuela, Corr., Arg.	-27.58	-58.66	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. ruficollis</i>	MACN-Or 66054	1996	Capital, Corrientes, Arg.	-27.47	-58.84	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. ruficollis</i>	MACN-Or 66075	1996	Capital, Corrientes, Arg.	-27.47	-58.84	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. ruficollis</i>	MACN-Or 66053	1996	Estero Valenzuela, Corr., Arg.	-27.58	-58.66	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. ruficollis</i>	MACN-Or 67335	1998	Estero Valenzuela, Corr., Arg.	-27.58	-58.66	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. ruficollis</i>	MACN-Or 6292a	1942	Colonia Mascías, Santa Fe, Arg.	-30.78	-60.00	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. ruficollis</i>	MACN-Or 22427	1928	Concepción, Tucumán, Arg.	-27.35	-65.60	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. zelichi</i>	MACN-Or-ct 3132	2002	N.D.	-	-	♂	BS	FJ028322	JN677050	-	JN677254	JN677311	JN677402	JN677081	JN677203
<i>S. zelichi</i>	MACN-Or 52379	1975	Colón, Entre Ríos, Arg.	-32.24	-58.14	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. zelichi</i>	MACN-Or 52378	1969	Entre Ríos, Arg.	-32.29	-59.47	♂	SS	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Volatinia jacarina</i> ^a	MACN-Or-ct 1565	2006	San Cayetano, Corrientes, Arg.	-27.92	-59.11	♂	MLHS	FJ028565	JN677024	JN677148	JN677232	-	-	-	-

^aEstas muestras no fueron genotipificadas para los 6 loci de ADN microsatélite.

^bKUNHM, University of Kansas Museum of Natural History; LSUMZ, Louisiana State University Museum of Zoology; BMNH, The Natural History Museum; PUCRS, Coleção de Aves do Museu de Ciências e Tecnologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; STRI, Smithsonian Tropical Research Institute; USNM, Smithsonian National Museum of Natural History; ZMUC, Zoological Museum University of Copenhagen.

^cMLHS, muestra de músculo pectoral, hígado o corazón; BS, muestra de sangre; SS, muestra proveniente de piel de estudio.

Apéndice 2.1 (capítulo III): Muestras de *Phrygilus* y especies emparentadas (N.D.: información no disponible).

Especies	Museo y Número de Catálogo ^a	Localidad ^b	CO1	Cyt b	CR	FIB5	MUSK
<i>Phrygilus alaudinus</i>	MACN-Or-ct 823	Volcán, Jujuy, Argentina (2175)	FJ028033	JN417870	JN417822	JN417927	JN417983
<i>Phrygilus alaudinus</i>	MACN-Or-ct 1017	Volcán, Jujuy, Argentina (2175)	FJ028032	JN417871	-	JN417928	JN417984
<i>Phrygilus alaudinus</i>	QU SCL001	Tafí del Valle, Tucumán, Argentina (2000)	JN417768	JN417873	JN417821	JN417930	JN417986
<i>Phrygilus alaudinus</i>	LSUMZ 103849	Arequipa, Perú (425)	JN417769	JN417872	JN417820	JN417929	JN417985
<i>Phrygilus alaudinus</i>	QU SCL054	Yavi, Jujuy, Argentina (3515)	JN417770	-	-	-	-
<i>Phrygilus alaudinus</i>	QU SCL067	Yavi, Jujuy, Argentina (3515)	JN417771	-	-	-	-
<i>Phrygilus alaudinus</i>	MACN-Or-ct 1029	Volcán, Jujuy, Argentina (2175)	FJ028031	-	-	-	-
<i>Phrygilus atriceps</i>	MACN-Or-ct 881	Quebraleña, Jujuy, Argentina (3650)	JN417772	JN417874	JN417823	JN417931	JN417987
<i>Phrygilus atriceps</i>	MACN-Or-ct 1169	Río Punilla, 35 km N Antofagasta de la Sierra, Catamarca, Argentina (4140)	FJ028037	JN417875	JN417824	JN417932	JN417988
<i>Phrygilus atriceps</i>	LSUMZ 103864	Arequipa, Perú (3900)	JN417773	JN417876	JN417825	JN417934	-
<i>Phrygilus atriceps</i>	MACN-Or-ct 1173	Río Punilla, 35 km N Antofagasta de la Sierra, Catamarca, Argentina (4140)	FJ028038	-	-	JN417933	-
<i>Phrygilus atriceps</i>	MACN-Or-ct 868	Quebraleña, Jujuy, Argentina (3650)	JN417774	-	-	-	-
<i>Phrygilus atriceps</i>	MACN-Or-ct 878	Quebraleña, Jujuy, Argentina (3650)	FJ028036	-	-	-	-
<i>Phrygilus atriceps</i>	MACN-Or-ct 1064	Quebraleña, Jujuy, Argentina (3650)	FJ028035	-	-	-	-
<i>Phrygilus atriceps</i>	MACN-Or-ct 1074	Quebraleña, Jujuy, Argentina (3650)	FJ028034	-	-	-	-
<i>Phrygilus atriceps</i>	QU PH10	Tucumán, Argentina (N.D.)	JN417775	-	-	-	-
<i>Phrygilus atriceps</i>	QU PH9	Tucumán, Argentina (N.D.)	JN417776	-	-	-	-
<i>Phrygilus atriceps</i>	QU PH8	Tucumán, Argentina (N.D.)	JN417777	-	-	-	-
<i>Phrygilus carbonarius</i>	MACN-Or-ct 2738	San Antonio Oeste, Río Negro, Argentina (0)	FJ028039	JN417877	-	JN417935	-
<i>Phrygilus carbonarius</i>	MACN-Or-ct 2740	San Antonio Oeste, Río Negro, Argentina (0)	FJ028040	JN417878	-	-	JN417989
<i>Phrygilus carbonarius</i>	MACN-Or-ct 2830	Las Grutas, Río Negro, Argentina (0)	JN417778	JN417879	JN417826	JN417936	-
<i>Phrygilus carbonarius</i>	MACN-Or-ct 2732	San Antonio Oeste, Río Negro, Argentina (0)	FJ028041	-	-	-	-
<i>Phrygilus carbonarius</i>	MACN-Or-ct 2737	San Antonio Oeste, Río Negro, Argentina (0)	JN417779	-	-	-	-
<i>Phrygilus dorsalis</i>	LSUMZ 17176	Argentina (N.D.)	JN417780	JN417880	JN417827	JN417937	JN417990
<i>Phrygilus erythronotus</i>	LSUMZ 61440	Puno, Perú (4865)	JN417781	JN417881	JN417828	JN417938	-
<i>Phrygilus erythronotus</i>	LSUMZ 61441	Puno, Perú (4865)	JN417782	JN417882	JN417829	JN417939	JN417991
<i>Phrygilus erythronotus</i>	LSUMZ 61468	Tacna, Perú (4590)	JN417783	JN417883	JN417830	JN417940	JN417992
<i>Phrygilus fruticeti</i>	MACN-Or-ct 642	Estancia Neneo Ruca, Pilcaniyeu, Río Negro, Argentina (850)	JN417784	JN417884	JN417831	JN417941	JN417993
<i>Phrygilus fruticeti</i>	MACN-Or-ct 877	Quebraleña, Jujuy, Argentina (3650)	JN417785	JN417885	-	JN417942	-
<i>Phrygilus fruticeti</i>	MACN-Or-ct 2690	El Bolsón, Río Negro (700)	JN417786	JN417886	JN417832	JN417943	JN417995
<i>Phrygilus fruticeti</i>	LSUMZ 52450	Tacna, Perú (3724)	JN417787	JN417887	JN417833	JN417944	JN417997
<i>Phrygilus fruticeti</i>	LSUMZ 58326	Lima, Perú (3050)	JN417788	JN417888	JN417834	JN417945	JN417996
<i>Phrygilus fruticeti</i>	LSUMZ 58327	Lima, Perú (3050)	JN417789	JN417890	JN417835	JN417946	JN417994
<i>Phrygilus fruticeti</i>	MACN-Or-ct 574	Estancia Neneo Ruca, Pilcaniyeu, Río Negro, Argentina (850)	JN417790	-	-	-	-
<i>Phrygilus fruticeti</i>	MACN-Or-ct 640	Estancia Neneo Ruca, Pilcaniyeu, Río Negro, Argentina (850)	JN417791	-	-	-	-
<i>Phrygilus fruticeti</i>	MACN-Or-ct 651	Estancia Neneo Ruca, Pilcaniyeu, Río Negro, Argentina (850)	JN417792	-	-	-	-
<i>Phrygilus fruticeti</i>	MACN-Or-ct 662	Estancia Neneo Ruca, Pilcaniyeu, Río Negro, Argentina (850)	FJ028045	-	-	-	-
<i>Phrygilus fruticeti</i>	MACN-Or-ct 663	Estancia Neneo Ruca, Pilcaniyeu, Río Negro, Argentina (850)	JN417793	-	-	-	-

Phrygilus fruticeti	MACN-Or-ct 876	Quebraleña, Jujuy, Argentina (3650)	FJ028043	-	-	-	-
Phrygilus fruticeti	MACN-Or-ct 1031	7 Km NO Tumbaya, Jujuy, Argentina (2200)	FJ028042	-	-	-	-
Phrygilus fruticeti	MACN-Or-ct 1092	Quebraleña, Jujuy, Argentina (3650)	JN417794	-	-	-	-
Phrygilus fruticeti	MACN-Or-ct 1270	Pastos Largos, Catamarca, Argentina (3381)	JN417795	-	-	-	-
Phrygilus fruticeti	MACN-Or-ct 1273	Pastos Largos, Catamarca, Argentina (3381)	JN417796	-	-	-	-
Phrygilus fruticeti	MACN-Or-ct 1284	Pastos Largos, Catamarca, Argentina (3401)	JN417797	-	-	-	-
Phrygilus fruticeti	MACN-Or-ct 1286	Pastos Largos, Catamarca, Argentina (3401)	JN417798	-	-	-	-
Phrygilus fruticeti	MACN-Or-ct 1317	Pastos Largos, Catamarca, Argentina (3679)	FJ028046	-	-	-	-
Phrygilus fruticeti	MACN-Or-ct 2697	Comallo, Río Negro, Argentina (850)	JN417799	-	-	-	-
Phrygilus fruticeti	MACN-Or-ct 2708	Comallo, Río Negro, Argentina (850)	JN417800	-	-	-	-
Phrygilus fruticeti	MACN-Or-ct 2719	Comallo, Río Negro, Argentina (850)	JN417801	-	-	-	-
Phrygilus fruticeti	MACN-Or-ct 2723	Comallo, Río Negro, Argentina (850)	JN417802	-	-	-	-
Phrygilus fruticeti	MACN-Or-ct 4549	Collon Cura, Neuquén, Argentina (1200)	HM396104	-	-	-	-
Phrygilus fruticeti	QU SCL06005	Río Yavi, Jujuy, Argentina (3450)	JN417803	-	-	-	-
Phrygilus fruticeti	QU SCL06009	Río Yavi, Jujuy, Argentina (3450)	JN417804	-	-	-	-
Phrygilus fruticeti	QU SCL06011	Iruya, Jujuy, Argentina (2740)	JN417805	-	-	-	-
Phrygilus fruticeti	QU SCL58	Río Yavi, Jujuy, Argentina (3450)	JN417806	-	-	-	-
Phrygilus fruticeti	MACN-Or-ct 661	Estancia Neneo Ruca, Pilcaniyeu, Río Negro, Argentina (850)	FJ028044	-	-	-	-
Phrygilus gayi	MACN-Or-ct 820	7 Km NO Tumbaya, Jujuy, Argentina (2200)	JN417807	-	JN417836	JN417947	JN417998
Phrygilus gayi	MACN-Or-ct 1018	Volcán, Jujuy, Argentina (2250)	FJ028047	JN417890	JN417837	JN417948	JN417999
Phrygilus gayi	MACN-Or-ct 1325	Río Chaschuil, Pastos Largos, Catamarca, Argentina (3269)	FJ028049	JN417891	JN417838	JN417949	JN418999
Phrygilus gayi	MACN-Or-ct 1022	7 Km NO Tumbaya, Jujuy, Argentina (2200)	FJ028048	-	-	-	-
Phrygilus patagonicus	MACN-Or-ct 2585	Refugio Cerro Perito Moreno, Río Negro, Argentina (1130)	FJ028052	JN417892	JN417839	-	JN418001
Phrygilus patagonicus	MACN-Or-ct 2602	Refugio Cerro Perito Moreno, Río Negro, Argentina (1130)	JN417808	JN417893	-	JN417950	JN418002
Phrygilus patagonicus	MACN-Or-ct 2605	Refugio Cerro Perito Moreno, Río Negro, Argentina (1130)	JN417809	JN417894	JN417840	JN417951	JN417003
Phrygilus patagonicus	MACN-Or-ct 615	Refugio Cerro Perito Moreno, Río Negro, Argentina (1130)	FJ028050	-	-	-	-
Phrygilus patagonicus	MACN-Or-ct 617	Refugio Cerro Perito Moreno, Río Negro, Argentina (1130)	FJ028051	-	-	-	-
Phrygilus plebejus	MACN-Or-ct 1069	Quebraleña, Jujuy, Argentina (3650)	FJ028053	JN417895	JN417841	JN417952	JN418004
Phrygilus plebejus	MACN-Or-ct 1315	Pastos Largos, Catamarca, Argentina (4033)	FJ028056	JN417896	JN417842	JN417953	JN418005
Phrygilus plebejus	QU SCL06018	8 km E Susques, Jujuy, Argentina (3755)	JN417810	JN417898	JN417844	-	-
Phrygilus plebejus	MACN-Or-ct 869	Quebraleña, Jujuy, Argentina (3650)	FJ028054	-	-	-	-
Phrygilus plebejus	MACN-Or-ct 1089	Quebraleña, Jujuy, Argentina (3650)	FJ028055	-	-	-	-
Phrygilus plebejus	LSUMZ 61485	Arequipa, Perú (3222)	JN417811	JN417897	JN417843	-	-
Phrygilus punensis	LSUMZ 61412	Cusco, Perú (3630)	JN417812	JN417899	-	JN417954	JN418006
Phrygilus punensis	LSUMZ 61454	Puno, Perú (4394)	JN417813	JN417900	JN417845	JN417955	-
Phrygilus punensis	LSUMZ 61455	Puno, Perú (4394)	JN417814	JN417901	JN417846	JN417956	-
Phrygilus unicolor	MACN-Or-ct 1302	Río Punilla, 35 km N de Antofagasta de la Sierra, Catamarca, Argentina (4140)	FJ028057	JN417926	JN417847	JN417957	JN418007
Phrygilus unicolor	LSUMZ 7709	Huánuco, Perú (3450)	JN417815	JN417902	JN417848	JN417958	JN418008
Phrygilus unicolor	LSUMZ 32262	Cajamarca, Perú (3150)	JN417816	JN417903	JN417849	JN417959	JN418009
Phrygilus unicolor	LSUMZ 61420	Cusco, Perú (4428)	JN417817	JN417904	JN417850	JN417960	JN418010
Phrygilus unicolor	LSUMZ 61444	Puno, Perú (4865)	JN417818	JN417905	JN417851	JN417961	JN418011

Catamenia analis	MACN-Or-ct 5118	8 km O Villa Ventana, Buenos Aires, Argentina (590)	HM396263	JN417908	JN417854	JN417964	-
Catamenia analis	MACN-Or-ct 825	Volcán, Jujuy, Argentina (2175)	FJ027317	JN417906	JN417852	JN417962	-
Catamenia analis	MACN-Or-ct 1035	Volcán, Jujuy, Argentina (2175)	FJ027315	JN417907	JN417853	JN417963	-
Catamenia inornata	MACN-Or-ct 832	Volcán, Jujuy, Argentina (2175)	FJ027320	-	JN417855	JN417965	-
Catamenia inornata	MACN-Or-ct 880	Quebraleña, Jujuy, Argentina (3650)	FJ027318	JN417909	JN417856	JN417966	-
Catamenia inornata	MACN-Or-ct 1049	Volcán, Jujuy, Argentina (2175)	FJ027319	JN417910	JN417857	JN417967	-
Diglossa cyanea	MACN-Or-ct 3820	Camino Chuspipata, Nor Yungas, La Paz, Bolivia (2757)	JN419244	JN417911	JN417858	JN417968	-
Diglossa cyanea	MACN-Or-ct 3829	Camino Chuspipata, Nor Yungas, La Paz, Bolivia (2757)	JN419243	JN417912	JN417859	JN417969	-
Diglossa sittoides	MACN-Or-ct 1012	Volcán, Jujuy, Argentina (2250)	FJ027505	JN417914	JN417860	JN417971	-
Diglossa sittoides	MACN-Or-ct 3857	Camino Chuspipata, Nor Yungas, La Paz, Bolivia (2757)	JN419245	JN417915	JN417861	JN417972	-
Diglossa sittoides	MACN-Or-ct 979	Sierra Santa Bárbara, Jujuy, Argentina (1975)	FJ027506	JN417913	JN417862	JN417970	-
Diuca diuca	MACN-Or-ct 647	Estancia Neneo Ruca, Pilcaniyeu, Río Negro, Argentina (850)	FJ027508	JN417916	JN417863	JN417973	-
Diuca diuca	MACN-Or-ct 693	Estancia Neneo Ruca, Pilcaniyeu, Río Negro, Argentina (850)	FJ027509	JN417917	JN417864	JN417974	-
Diuca diuca	MACN-Or-ct 2682	El Bolsón, Río Negro, Argentina (700)	FJ027510	JN417918	JN417865	JN417975	JN418012
Haplospiza unicolor	MACN-Or-ct 2969	Parque Nacional Iguazú, Iguazú, Misiones, Argentina (80)	FJ027642	JN417920	-	JN417976	-
Haplospiza unicolor	MACN-Or-ct 3578	Arroyo Yacuí, Parque Nacional Iguazú, Misiones, Argentina (241)	JN419247	JN417921	JN417866	JN417977	-
Haplospiza unicolor	MACN-Or-ct 2008	Parque Uruguái, paraje María Soledad, General Belgrano, Misiones, Argentina (304)	JN419246	JN417919	-	JN417978	-
Melanodera melanodera	MACN-Or-ct 208	Argentina (N.D.)	FJ027797	JN417922	JN417867	JN417979	-
Melanodera melanodera	MACN-Or-ct 209	Argentina (N.D.)	FJ027796	JN417923	-	JN417980	-
Saltatricula multicolor	QU SCL041	Quimili, Santiago del Estero, Argentina (141)	JN417819	JN417924	JN417868	JN417981	JN418013
Sturnella loyca	MACN-Or-ct 678	Estancia Neneo Ruca, Pilcaniyeu, Río Negro, Argentina (850)	FJ028336	JN417925	JN417869	JN417982	JN418014

^aMACN: Museo Argentina de Ciencias Naturales; QU: Queen's University; LSUMZ: Louisiana State University Museum of Zoology.

^bAltura a la que fue obtenida la muestra en metros sobre el nivel del mar entre paréntesis.

Apéndice 2.2 (capítulo III): Especies utilizadas para poner a prueba la monofilia de *Phrygilus*, detallando el número de acceso de Genbank para cada secuencia de COI o Cyt b. Se mencionan las localidades de colecta cuando esta información estaba disponible (N.D.: información no disponible).

Especie	Localidad	COI	Cyt b
<i>Acanthidops bairdii</i>	Cerro de la Muerte, Ruta Panamericana Km 113, San José, Costa Rica		AF489878
<i>Catamenia analis</i>	Jujuy, Argentina	FJ027316	
<i>Catamenia analis</i>	Villa Ventana, Buenos Aires, Argentina	HM396263	
<i>Catamenia inornata</i>	Alto Perú, Ecuador		AF310049
<i>Catamenia inornata</i>	Tucumán, Argentina		EF529989
<i>Chrysothlypis chrysomelas</i>	Cocle, Panamá		EF529957
<i>Cnemoscopus rubrirostris</i>	30 km al E de Florida en la ruta a Rioja, dpto. de Amazonas, Perú		AF006222
<i>Conirostrum albifrons</i>	Perú		AF447365
<i>Conirostrum bicolor</i>	St. George County, Trinidad y Tobago		AF383025
<i>Conirostrum margaritae</i>	Isla Pasto 80 km NE Iquitos, Amazonas, Loreto, Perú		EU647892
<i>Conirostrum sitticolor</i>	Carchi, Ecuador		AF383000

Conirostrum speciosum	Chiquitos, Santa Cruz, Bolivia		AY190168
Coryohospingus cucullatus	Entre Ríos, Argentina	FJ027446	
Coryphospingus cucullatus	Tucumán, Argentina		EF529990
Coryphospingus cucullatus	Misiones, Argentina	FJ027443	
Coryphospingus cucullatus	Misiones, Argentina	FJ027444	
Coryphospingus cucullatus	Formosa, Argentina	FJ027445	
Coryphospingus cucullatus	Jujuy, Argentina	FJ027447	
Coryphospingus pileatus	Sergipe, Caninde do Sao Francisco, Curitiba, Brasil		FJ799870
Cypsnagra hirundinacea	30 km E Aserradero Moira, Parque Noel Kempff Mercado, Santa Cruz, Velasco, Bolivia		AF006226
Diglossa albilatera	40 km sobre ruta a El Junquito/Col. Tovar, Aragua, Venezuela		EU647893
Diglossa baritula	Guerrero, Méjico		EF529960
Diglossa baritula	Sierra de Manantlan, Las Joyas, Jalisco, Méjico		EU647894
Diglossa brunneiventris	Parque Nacional Apolobamba, Franz Tamayo, La Paz, Bolivia		EU647896
Diglossa carbonaria	Cochabamba, Bolivia		EU647897
Diglossa cyanea	Pillahuata, Paucartambo, Cuzco, Perú		EU647909
Diglossa duidae	Cerro Yutaje, Amazonas, Venezuela		EU647898
Diglossa gloriosa	Laguna Negra, Mérida, Venezuela		EU647899
Diglossa gloriosissima	Farallones del Citara, Ciudad Bolivar, Antioquia, Colombia		EU647900
Diglossa humeralis	Alto Perú, Ecuador		AF310050
Diglossa lafresnayii	5 km NE Sapalache, Cerro Chinguela, Cajamarca, Perú		AF006229
Diglossa major	Bolivar, Venezuela		AF290155
Diglossa mystacalis	Unchog Pass, Huánuco, Perú		EU647903
Diglossa plumbea	Cerro de la Muerte, San Jose, Costa Rica		EU647904
Diglossa sittoides	Cerro Asunta Pata, 83 km E sobre ruta Charazani, B. Saavedra, La Paz, Bolivia		EU647905
Diglossa sittoides	Jujuy, Argentina	FJ027504	
Diglossa venezuelensis	Cerro La Launa (El Guamal), Serranía del Turimiquire, Anzoategui, Venezuela		EU647907
Diglossopsis caerulescens	40 km sobre ruta a El Junquito/Col. Tovar road, Aragua, Venezuela		EU647908
Diglossopsis glauca	San Pedro, Paucartambo, Cuzco, Perú		EU647910
Diglossopsis indigotica	Finca Villa Nueva, Vereda El Rosario-Corcovado, Alto de Ventanas, Yarumal, Antioquia, Colombia		EU647911
Diuca diuca	Río Negro, Argentina	FJ027507	
Emberizoides herbicola	Paraguay		EU325778
Emberizoides herbicola	Corrientes, Argentina	FJ027547	
Emberizoides herbicola	Corrientes, Argentina	FJ027548	
Emberizoides ypiranganus	Corrientes, Argentina		GU215310
Emberizoides ypiranganus	Corrientes, Argentina	FJ027549	
Emberizoides ypiranganus	Corrientes, Argentina	FJ027550	
Embernagra platensis	Salta, Argentina		EF529975
Embernagra platensis	Corrientes, Argentina	FJ027551	
Embernagra platensis	Corrientes, Argentina	FJ027552	
Embernagra platensis	Corrientes, Argentina	FJ027553	
Embernagra platensis	Buenos Aires, Argentina	FJ027554	
Embernagra platensis	Buenos Aires, Argentina	FJ027555	

<i>Eucomitis penicillata</i>	Colón, Panama		EF529961
<i>Gubernatrix cristata</i>	Buenos Aires, Argentina	FJ027636	
<i>Haplospiza rustica</i>	39 km NE Paucartambo, La Esperanza, Paucartambo, Cuzco, Perú		EU647913
<i>Haplospiza unicolor</i>	Sao Paulo, Brasil		AF290156
<i>Haplospiza unicolor</i>	Misiones, Argentina	FJ027642	
<i>Hemispingus atropileus</i>	Pasco, Perú		AF383019
<i>Hemispingus frontalis</i>	N.D.		EU372679
<i>Hemispingus melanotis</i>	N.D.		AF100537
<i>Hemispingus verticalis</i>	N.D.		AF100538
<i>Hemithraupis flavicollis</i>	Quebrada Vainilla, ca. 10 km SSO boca del Río Napo sobre margen E, S Río Amazonas, Loreto, Perú		AF006235
<i>Heterospingus rubrifrons</i>	Bocas del Toro, Panama		EF202820
<i>Heterospingus xanthopygius</i>	Cana, sobre ladera E Cerro Pirre, Darien, Panama		AF006236
<i>Idiopsar brachyurus</i>	7 km sobre ruta al N de la cumbre, Valle de Zongo, La Paz, Bolivia		EU647916
<i>Lanio aurantius</i>	Atlántida, Honduras		EF529962
<i>Lanio fulvus</i>	157 km NNE de Iquitos, 1 km N Río Napo, Loreto, Perú		EU647917
<i>Lanio leucothorax</i>	Parque Nacional El Cope, Cocle, Panama		GU215314
<i>Lanio versicolor</i>	ca. 20 km por el Río al N Puerto Linares, Río Beni, La Paz, Bolivia		AF006239
<i>Melanodera xanthogramma</i>	Bariloche, Río Negro, Argentina		EU647918
<i>Nephelornis oneilli</i>	E Tambo de Vacas sobre sendero Pozuzo-Chaglla, Millpo, Pasco, Perú		AF006243
<i>Oreomanes fraseri</i>	ca. 13 km O Milloc, Lima, Perú		AF006244
<i>Phrygilus alaudinus</i>	Tucumán, Argentina		EF529981
<i>Phrygilus atriceps</i>	Jujuy, Argentina		EF529982
<i>Phrygilus dorsalis</i>	Tucumán, Argentina		EF529983
<i>Phrygilus plebejus</i>	Jujuy, Argentina		EF529979
<i>Phrygilus unicolor</i>	Tucumán, Argentina		EF529980
<i>Pospiza alticola</i>	Ancash, Perú		AY005198
<i>Pospiza baeri</i>	Tucumán, Argentina		EF529986
<i>Pospiza baeri</i>	Jujuy, Argentina	FJ028136	
<i>Pospiza baeri</i>	Jujuy, Argentina	FJ028137	
<i>Pospiza baeri</i>	Jujuy, Argentina	FJ028138	
<i>Pospiza boliviana</i>	La Paz, Bolivia		AY005201
<i>Pospiza caesar</i>	Adamarca, Ayacucho, Perú		AY005202
<i>Pospiza cinerea</i>	Argentina		FJ799880
<i>Pospiza erythrophrys</i>	Finca El Rey, Salta, Argentina		AY005203
<i>Pospiza erythrophrys</i>	Jujuy, Argentina	FJ028139	
<i>Pospiza erythrophrys</i>	Jujuy, Argentina	FJ028140	
<i>Pospiza erythrophrys</i>	Jujuy, Argentina	FJ028141	
<i>Pospiza garleppi</i>	Cochabamba, Bolivia		AY005204
<i>Pospiza hispaneolensis</i>	Dealer/Züpkke, Perú		AF310052
<i>Pospiza hypochondria</i>	Salta, Argentina		EF529985
<i>Pospiza hypochondria</i>	Jujuy, Argentina	FJ028142	
<i>Pospiza hypochondria</i>	Jujuy, Argentina	FJ028143	
<i>Pospiza hypochondria</i>	Jujuy, Argentina	FJ028144	

Poospiza lateralis	Arroyo Mandiyú, Artigas, Uruguay		EU647920
Poospiza melanoleuca	Quimili, Santiago del Estero, Argentina		AY005208
Poospiza melanoleuca	Monteagudo, Tucumán, Argentina		AY005209
Poospiza melanoleuca	Corrientes, Argentina	FJ028145	
Poospiza melanoleuca	Corrientes, Argentina	FJ028146	
Poospiza melanoleuca	Formosa, Argentina	FJ028147	
Poospiza melanoleuca	Formosa, Argentina	FJ028148	
Poospiza ornata	Amanao, Catamarca, Argentina		AY005213
Poospiza ornata	Mendoza, Argentina	FJ028152	
Poospiza ornata	Río Negro, Argentina	FJ028153	
Poospiza ornata	Río Negro, Argentina	FJ028154	
Poospiza torquata	Luján, Santiago del Estero, Argentina		AY005214
Poospiza torquata	Río Negro, Argentina	FJ028155	
Poospiza torquata	Río Negro, Argentina	FJ028156	
Poospiza torquata	Río Negro, Argentina	FJ028157	
Poospiza whittii	Santa Cruz, Bolivia		AY005211
Poospiza whittii	Buenos Aires, Argentina	FJ028149	
Poospiza whittii	Buenos Aires, Argentina	FJ028150	
Poospiza whittii	Buenos Aires, Argentina	FJ028151	
Pyrrhocomma ruficeps	19.5 km sobre ruta NNE Encarnación, El Tirol, Itapú, Paraguay		AF006249
Pyrrhocomma ruficeps	Misiones, Argentina	FJ028195	
Pyrrhocomma ruficeps	Misiones, Argentina	FJ028196	
Rowettia goughensis	Islas Gough, Atlántico Sur		DQ886493
Rowettia goughensis	Islas Gough, Atlántico Sur		DQ886494
Saltatricula multicolor	Corrientes, Argentina	N419248	
Saltatricula multicolor	Ñacuán, Santa Rosa, Provincia de Mendoza	JN419249	
Sicalis flaveola	Formosa, Argentina	FJ028267	
Sicalis flaveola	N.D.		AY491528
Sicalis luteocephala	Jujuy, Argentina	FJ028272	
Sicalis luteola	Río Negro, Argentina	FJ028276	
Sicalis luteola	Margen E Río Branco, al otro lado de Boa Vista, Fazenda Santa Cecilia, Roraima, Brasil		AF489893
Sicalis olivascens	Jujuy, Argentina	FJ028283	
Sicalis olivascens	Jujuy, Argentina		EF529988
Tachyphonus coronatus	Corrientes, Argentina		GU215341
Tachyphonus coronatus	Misiones, Argentina	FJ028383	
Tachyphonus coronatus	Misiones, Argentina	FJ028384	
Tachyphonus cristatus	40 km E Tumaremo sobre ruta a Bochínche, Bolívar, Venezuela		GU215342
Tachyphonus delatrii	Cocle, Panamá		EF529966
Tachyphonus luctuosus	Atlántida, Honduras		EF529967
Tachyphonus phoenicius	Cerro Guanay, Bolivia		FJ799893
Tachyphonus rufiventer	Base Tacsha Cocha, Est. Biol. Pithecia, sobre Río Samiria, margen S Río Marañón, Loreto, Perú		FJ799895
Tachyphonus rufus	Isla Chacachacare, Trinidad y Tobago		GU215350
Tachyphonus rufus	Corrientes, Argentina	FJ028385	

Tachyphonus rufus	Formosa, Argentina	FJ028386	
Tachyphonus rufus	Corrientes, Argentina	FJ028387	
Tachyphonus rufus	Corrientes, Argentina	FJ028388	
Tachyphonus rufus	Formosa, Argentina	FJ028389	
Tachyphonus surinamus	10 km SSO Río Napo, S Río Amazonas, Loreto, Perú		AF006253
Thlypopsis ruficeps	Tucumán, Argentina		EF529968
Thlypopsis ruficeps	Jujuy, Argentina	FJ028424	
Thlypopsis ruficeps	Jujuy, Argentina	FJ028425	
Thlypopsis ruficeps	Jujuy, Argentina	FJ028426	
Thlypopsis sordida	I. Pasto, 80 km NE Iquito, Amazonas, Loreto, Perú		AF006256
Thlypopsis sordida	Corrientes, Argentina	FJ028427	
Thlypopsis sordida	Corrientes, Argentina	FJ028428	
Thlypopsis sordida	Corrientes, Argentina	FJ028429	
Xenodacnis parina	Azuay, Ecuador		AF006257

Apéndice 2.3 (capítulo III):

Figura 1: Árboles Bayesianos y de Máxima Parsimonia (MP) obtenidos con los marcadores RC (1050 pb), MUSK (678 pb) o Fib5 (581 pb). Las topologías Bayesianas son consensos de mayoría del 50% con probabilidades a posteriori indicando el soporte de los nodos. Los árboles de MP son consensos de mayoría de árboles con el mismo número de pasos (126 árboles para RC y 6 para MUSK y Fib5) donde se evaluó el soporte de los nodos a través de 1000 pseudoréplicas de bootstrap estándar. Cuando los individuos de la misma especie forman un clado, el nombre se indica una sola vez para simplificar la figura. Por lo tanto, las terminales sin nombre representan casos en los que había más de un individuo por especie disponible e ilustran el nivel de divergencia intraespecífico. También se omitieron los valores de soporte de algunos clados intraespecíficos para simplificar la figura.

Figura 2: Árbol de MP construido con 3925 pb del conjunto de datos concatenado multigénico (COI, Cyt b, CR, MUSK y Fib5). La topología representa el único árbol más parsimonioso con la robustez de los nodos evaluada mediante 1000 pseudoréplicas de bootstrap estándar. Los nodos con soporte menor a 50 fueron colapsados. Los demás detalles como en la Figura 1 de este Apéndice.

Figura 3: Árboles Bayesianos y de MP construidos utilizando marcadores de ADN mitocondrial (ADNmt: 2666 pb) o nuclear (ADNnu: 1259 pb). Las topologías Bayesianas provienen de consensos de mayoría al 50% con probabilidades a posteriori indicando el soporte de los nodos. Los árboles de MP representan consensos estrictos de topologías con el mismo número de pasos (2 árboles para ADNmt y 47815 para ADNnu) donde la robustez de los nodos se evaluó a través de 1000 pseudoréplicas de bootstrap estándar. Los árboles de ADNmt y ADNnu representan topologías más probables, de acuerdo a una prueba de razón de verosimilitudes, que aquellas obtenidas cuando se forzó la monofilia de *Phrygilus* [$2(\ln L1 - \ln L0) = 950.72$, g.l. = 1, $p < 0.001$; ADNnu: $2(\ln L1 - \ln L0) = 75.4$, g.l. = 1, $p < 0.001$]. Los demás detalles como en la Figura 1 de este Apéndice.

Figura 1

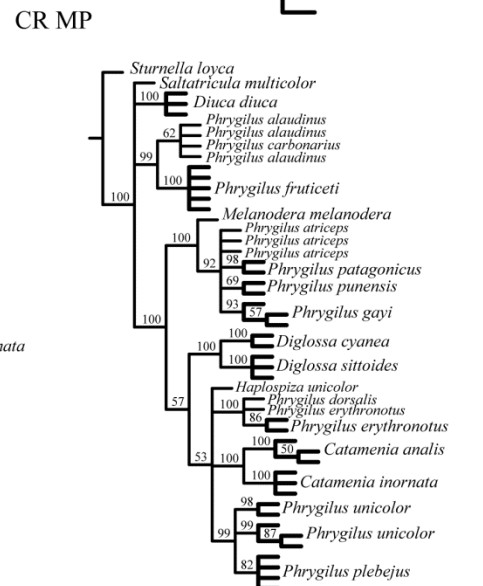
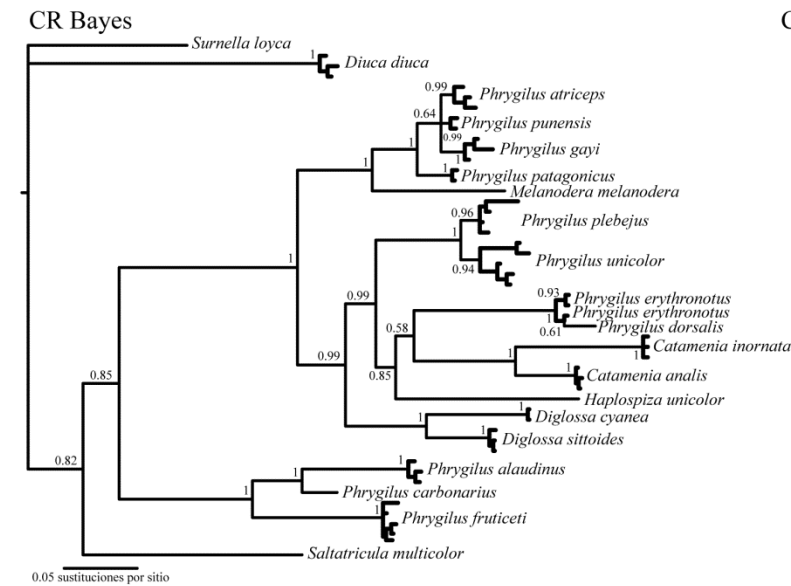
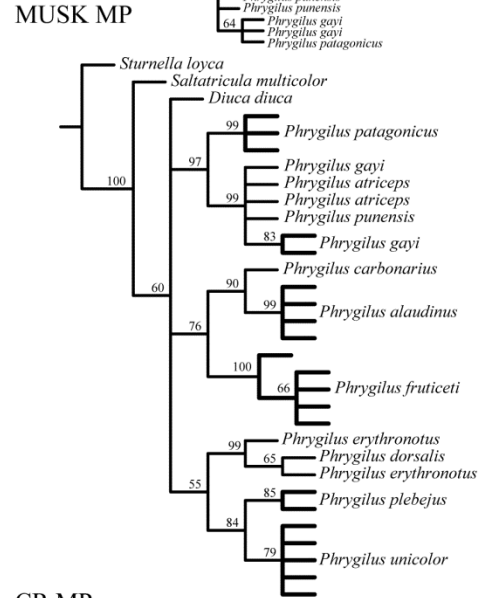
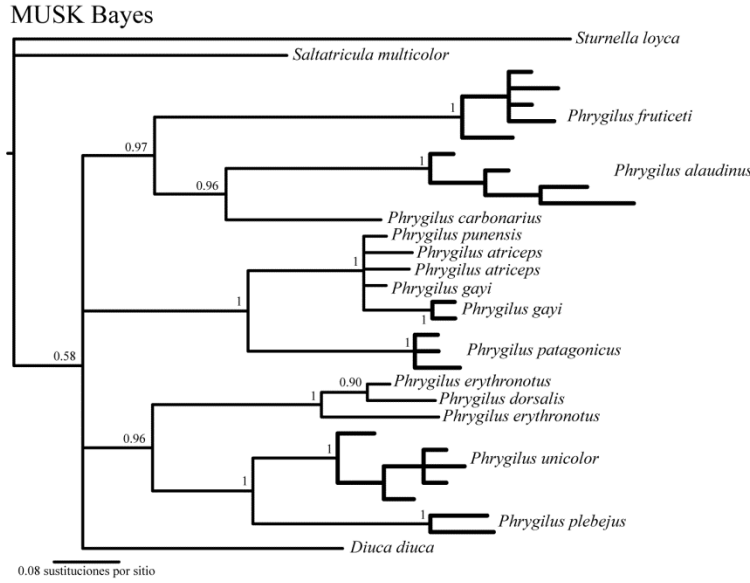
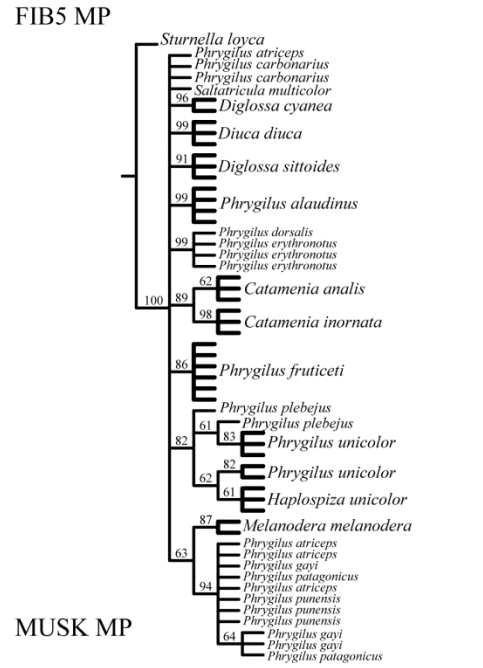
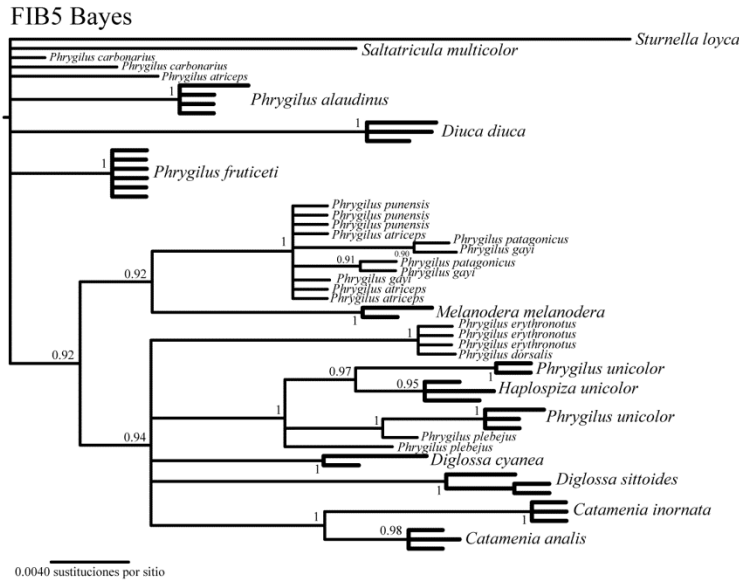


Figura 2

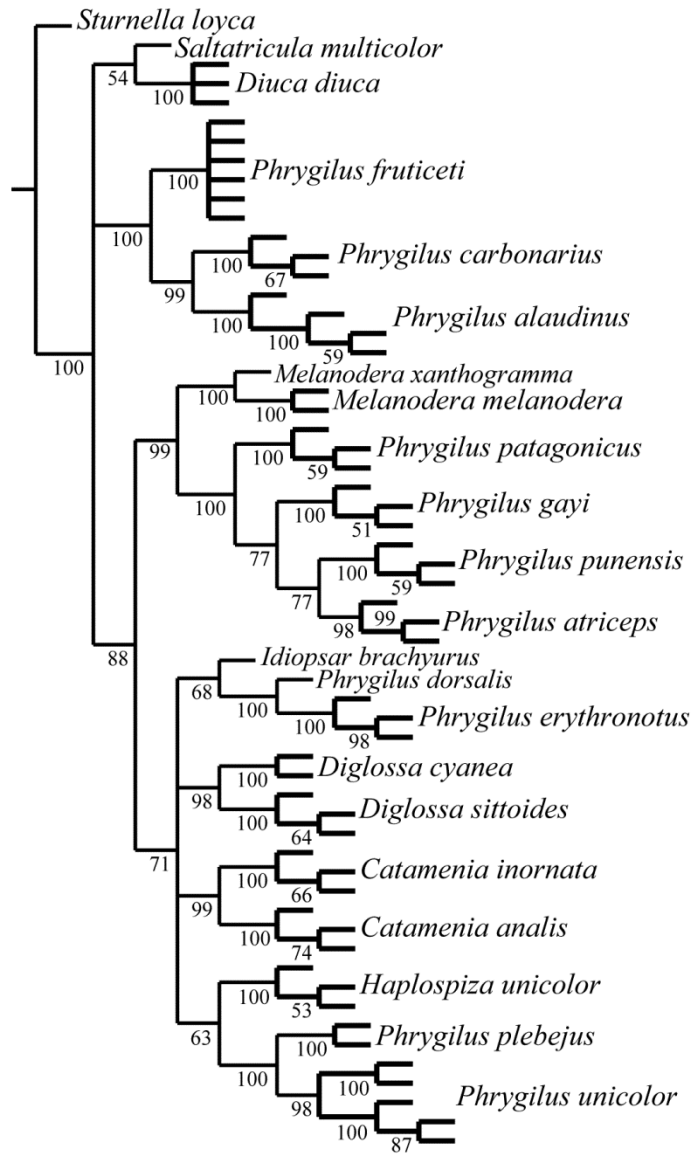


Figura 3

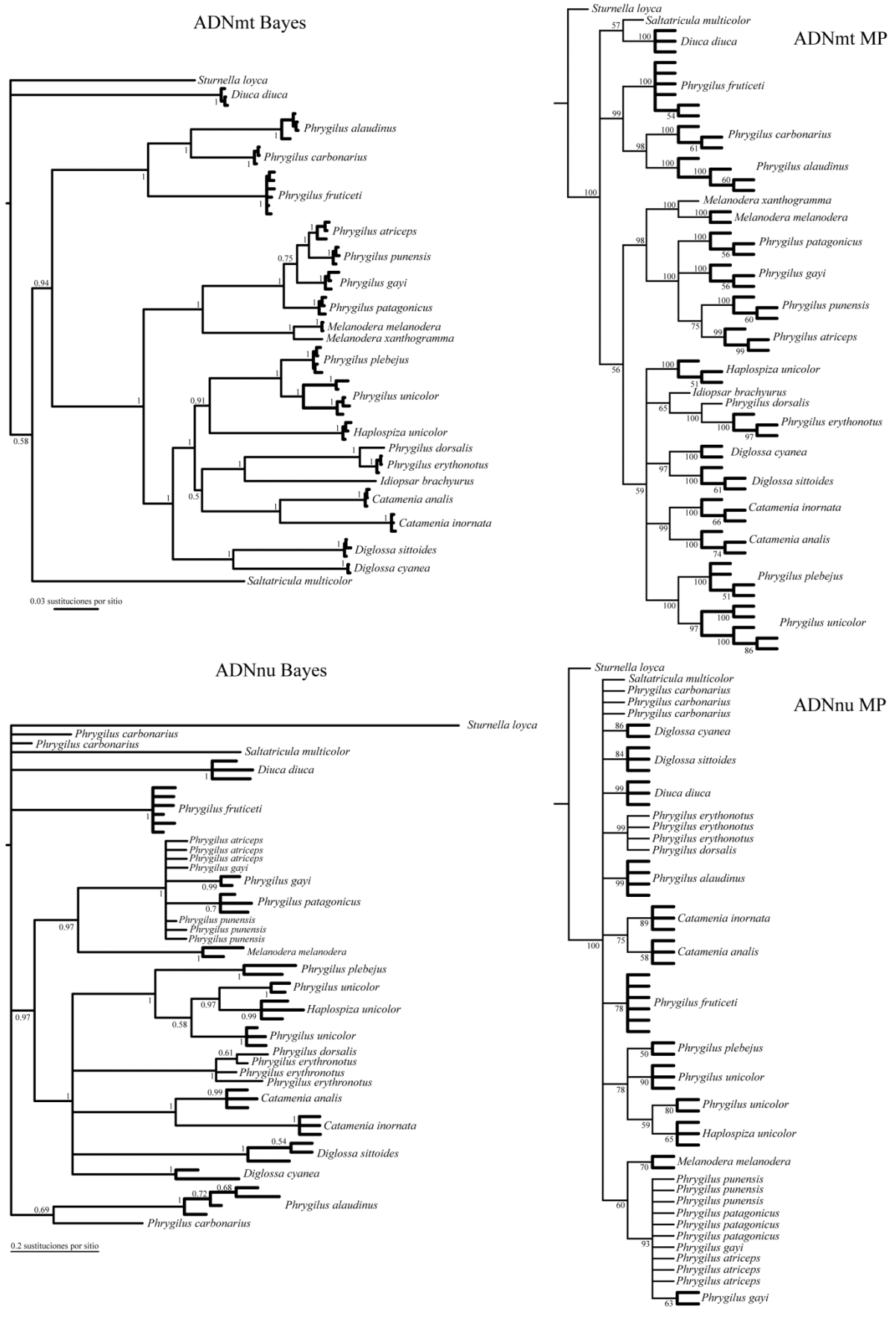


Tabla 1: Distancia K2P inter e intraespecífica promedio para las especies de *Phrygilus* basadas en datos de secuencias de COI. Los números debajo de la diagonal representan comparaciones interespecíficas promedio y aquellas en la diagonal (en negrita) corresponden a valores intraespecíficos promedio. Los valores mínimos y máximos se encuentran entre paréntesis. Los tamaños muestrales se indican entre paréntesis luego del nombre de la especie en cada columna.

	P. alaudinus (7)	P. atriceps (11)	P. carbonarius (5)	P. fruticeti (29)	P. gayi (4)	P. patagonicus (5)	P. plebejus (6)	P. unicolor (5)	P. dorsalis (1)	P. erythronotus (3)	P. punensis (3)
P. alaudinus	0.5 (0-1.5)										
P. atriceps	13.9 (13.4-14.2)	0.3 (0-0.9)									
P. carbonarius	7.2 (6.3-7.7)	13.0 (11.2-13.7)	0.2 (0-0.5)								
P. fruticeti	10.0 (8.5-10.9)	13.2 (12.5-14.5)	9.1 (7.5-10.3)	0.4 (0-1.4)							
P. gayi	14.7 (14.2-15.1)	3.3 (2.8-3.7)	12.0 (10.5-12.7)	13.6 (12.6-14.8)	0.4 (0-0.5)						
P. patagonicus	14.4 (13.8-15.1)	3.9 (3.3-4.2)	12.7 (10.3-13.4)	12.0 (11.4-12.8)	4.7 (4.50-5.10)	0.2 (0-0.3)					
P. plebejus	12.2 (11.7-12.5)	12.3 (11.9-12.6)	11.4 (10.5-11.9)	12.0 (11.3-12.7)	12.1 (11.8-12.3)	12.6 (12.3-13.0)	0.03 (0-0.1)				
P. unicolor	14.3 (13.0-15.0)	12.8 (12.1-13.6)	12.6 (11.1-13.3)	12.3 (11.7-13.4)	12.1 (11.8-12.7)	13.4 (13.0-13.9)	4.8 (4.1-5.6)	3.0 (0.3-5)			
P. dorsalis	14.5 (14.0-14.8)	13.8 (13.6-14.1)	13.5 (12.7-13.7)	12.1 (11.7-12.7)	14.1 (13.8-14.3)	13.7 (13.6-13.9)	12.7 (12.7-12.9)	12.1 (11.3-12.7)	-		
P. erythronotus	13.3 (12.4-13.7)	13.3 (13.0-13.6)	13.6 (12.6-13.9)	11.3 (10.7-12.2)	13.6 (13.2-13.8)	13.1 (13.0-13.4)	12.3 (12.2-12.6)	12.0 (11.1-12.8)	2.6 (2.5-2.7)	0.07 (0-0.1)	
P. punensis	13.1 (12.7-13.4)	2.5 (2.1-2.8)	12.3 (10.7-12.9)	12.3 (11.6-16.6)	4.1 (4.0-4.2)	4.7 (4.5-4.9)	11.3 (11.1-11.6)	11.5 (10.9-12.3)	12.5 (12.3-12.9)	12.0 (11.8-12.3)	0.4 (0.3-0.6)

Apéndice 3.1 (capítulo IV): Individuos utilizados en los análisis genéticos. Se detallan los haplotipos de COI, COII y Cyt b así como los números de acceso de Genbank para todos los genes (N.D.: información no disponible).

Especies	Número de colección ^a	Año	Localidad	Lat.	Long.	Tipo de muestra ^c	COI	COII	Cyt b	Fib5	CHD1Z
<i>Anthus correndera</i>	MACN-Or 580	2005	Pilcaniyeu, Río Negro, Argentina	-41.16	-70.41	MLHS	Ac1 - HM905967	-	-	-	-
<i>Anthus correndera</i>	MACN-Or 581	2005	Pilcaniyeu, Río Negro, Argentina	-41.16	-70.41	MLHS	Ac1 - FJ027123	-	-	-	-
<i>Anthus correndera</i>	MACN-Or 582	2005	Pilcaniyeu, Río Negro, Argentina	-41.16	-70.41	MLHS	Ac3 - HM905968	-	-	-	-
<i>Anthus correndera</i>	MACN-Or 583	2005	Pilcaniyeu, Río Negro, Argentina	-41.16	-70.41	MLHS	Ac1 - HM905969	-	-	-	-
<i>Anthus correndera</i>	MACN-Or 584	2005	Pilcaniyeu, Río Negro, Argentina	-41.16	-70.41	MLHS	Ac2 - HM905970	-	-	-	-
<i>Anthus correndera</i>	MACN-Or 588	2005	Pilcaniyeu, Río Negro, Argentina	-41.16	-70.41	MLHS	Ac1 - FJ027124	-	-	-	-
<i>Anthus correndera</i>	MACN-Or 631	2005	Pilcaniyeu, Río Negro, Argentina	-41.16	-70.41	MLHS	Ac4 - FJ027125	-	-	-	-
<i>Anthus correndera</i>	MACN-Or-cp 40882	1961	El Bolsón, Río Negro, Argentina	-41.97	-71.51	SS	Ac1 ^d	-	-	-	-

Anthus correndera	MACN-Or-cp 42838	1965	Cholila, Chubut, Argentina	-42.51	-71.45	SS	Ac1 ^d	-	-	-	-
Anthus correndera	MACN-Or-cp 52237	1971	Cholila, Chubut, Argentina	-42.51	-71.45	SS	Ac1 ^d	-	-	-	-
Anthus correndera	MACN-Or-cp 42837	1965	Cholila, Chubut, Argentina	-42.51	-71.45	SS	Ac1 ^d	-	-	-	-
Anthus correndera	MACN-Or-cp 48604	1968	Cushamen, Chubut, Argentina	-42.28	-70.62	SS	Ac1 ^d	-	-	-	-
Anthus correndera	MACN-Or-cp 42839	1965	Ñorquinco, Río Negro, Argentina	-41.84	-70.91	SS	Ac2 ^d	-	-	-	-
Anthus correndera	MACN-Or-cp 68040	2002	Península Valdés, Chubut, Argentina	-42.50	-64.00	SS	Ac1 ^d	-	-	-	-
Anthus correndera	MACN-Or-cp 42983	1953	Puerto Argentino, Islas Malvinas	-51.69	-57.86	SS	Ac1 ^d	-	-	-	-
Anthus correndera	MACN-Or-cp 53249	1986	Estancia Violeta, Tierra del Fuego, Argentina	-54.36	-67.47	SS	Ac1 ^d	-	-	-	-
Anthus correndera	MACN-Or-cp 5063a	1937	Valparaíso, Valparaíso, Chile	-33.05	-71.62	SS	Ac1 ^d	-	-	-	-
Anthus correndera	MACN-Or-cp 295a	1924	Batuco, Santiago, Chile	-35.32	-71.98	SS	Ac3 ^d	-	-	-	-
Anthus correndera	MACN-Or-cp 5064a	1937	Valparaíso, Valparaíso, Chile	-33.05	-71.62	SS	Ac1 ^d	-	-	-	-
Anthus correndera	QUMEL FP1	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	Ac1 - HM905971	-	-	-	-
Carduelis barbata	QUMEL BS1	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	Cb2 - HM905983	-	-	-	-
Carduelis barbata	QUMEL BS2	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	Cb2 ^d	-	-	-	-
Carduelis barbata	QUMEL BS3	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	Cb1 ^d	-	-	-	-
Carduelis barbata	QUMEL BS4	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	Cb1 ^d	-	-	-	-
Carduelis barbata	QUMEL BS5	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	Cb1 ^d	-	-	-	-
Carduelis barbata	QUMEL BS6	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	Cb1 - HM905984	-	-	-	-
Carduelis barbata	QUMEL BS7	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	Cb2 ^d	-	-	-	-
Carduelis barbata	QUMEL BS8	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	Cb2 ^d	-	-	-	-
Carduelis barbata	QUMEL BS9	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	Cb2 ^d	-	-	-	-
Carduelis barbata	QUMEL BS10	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	Cb2 ^d	-	-	-	-
Carduelis barbata	MACN-Or 537	2005	Pilcaniyeu, Río Negro, Argentina	-41.16	-70.41	MLHS	Cb2 - FJ027303	-	-	-	-
Carduelis barbata	MACN-Or 600	2005	Pilcaniyeu, Río Negro, Argentina	-41.16	-70.41	MLHS	Cb2 - HM905972	-	-	-	-
Carduelis barbata	MACN-Or 632	2005	Pilcaniyeu, Río Negro, Argentina	-41.16	-70.41	MLHS	Cb2 - HM905973	-	-	-	-
Carduelis barbata	MACN-Or 633	2005	Pilcaniyeu, Río Negro, Argentina	-41.16	-70.41	MLHS	Cb2 - HM905974	-	-	-	-
Carduelis barbata	MACN-Or 687	2005	Pilcaniyeu, Río Negro, Argentina	-41.16	-70.41	MLHS	Cb2 ^d	-	-	-	-
Carduelis barbata	MACN-Or 688	2005	Pilcaniyeu, Río Negro, Argentina	-41.16	-70.41	MLHS	Cb2 - HM905975	-	-	-	-
Carduelis barbata	MACN-Or 691	2005	Pilcaniyeu, Río Negro, Argentina	-41.16	-70.41	MLHS	Cb2 - FJ027304	-	-	-	-
Carduelis barbata	MACN-Or 2595	2006	El Bolsón, Río Negro, Argentina	-41.97	-71.51	MLHS	Cb2 - HM905976	-	-	-	-

Carduelis barbata	MACN-Or 2622	2006	El Bolsón, Río Negro, Argentina	-41.97	-71.51	MLHS	Cb2 - HM905977	-	-	-	-
Carduelis barbata	MACN-Or 2642	2006	El Bolsón, Río Negro, Argentina	-41.97	-71.51	MLHS	Cb2 - HM905978	-	-	-	-
Carduelis barbata	MACN-Or 2655	2006	El Bolsón, Río Negro, Argentina	-41.97	-71.51	MLHS	Cb2 - HM905979	-	-	-	-
Carduelis barbata	MACN-Or 2656	2006	El Bolsón, Río Negro, Argentina	-41.97	-71.51	MLHS	Cb2 - HM905980	-	-	-	-
Carduelis barbata	MACN-Or 3749	2007	Bariloche, Río Negro, Argentina	-40.57	-71.30	MLHS	Cb4 ^d	-	-	-	-
Carduelis barbata	MACN-Or 3751	2008	Río Negro, Argentina	-40.73	-66.62	MLHS	Cb2 - HM905981	-	-	-	-
Carduelis barbata	MACN-Or 3752	2008	Río Negro, Argentina	-40.73	-66.62	MLHS	Cb3 - HM905982	-	-	-	-
Carduelis barbata	MACN-Or 3758	2007	Bariloche, Río Negro, Argentina	-40.57	-71.30	MLHS	Cb2 ^d	-	-	-	-
Carduelis barbata	MACN-Or 4551	2009	San Martín de los Andes, Neuquén, Argentina	-40.15	-71.35	MLHS	Cb2 - HM396105	-	-	-	-
Carduelis barbata	MACN-Or 4554	2009	San Martín de los Andes, Neuquén, Argentina	-40.15	-71.35	MLHS	Cb2 - HM396108	-	-	-	-
Carduelis barbata	MACN-Or 4557	2009	San Martín de los Andes, Neuquén, Argentina	-40.15	-71.35	MLHS	Cb2 - HM396110	-	-	-	-
Cinclodes antarcticus	AMNH 817070	1985	Bahía Inútil, Tierra del Fuego, Chile	-53.43	-69.24	SS	-	Ca1 - AY613373	-	-	-
Cinclodes antarcticus	QUMEL TB1	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	-	Ca1 - JN677469	-	-	-
Cinclodes antarcticus	QUMEL TB3	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	-	Ca1 - JN677470	-	-	-
Cinclodes antarcticus	QUMEL TB4	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	-	Ca1 - JN677471	-	-	-
Cinclodes antarcticus	QUMEL TB5	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	-	Ca1 - JN677472	-	-	-
Cinclodes antarcticus	QUMEL TB7	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	-	Ca1 - JN677473	-	-	-
Cinclodes antarcticus	QUMEL TB8	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	-	Ca2 - JN677474	-	-	-
Cinclodes antarcticus	QUMEL TB9	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	-	Ca1 - JN677475	-	-	-
Cistothorus platensis	MACN-Or 585	2005	Pilcaniyeu, Río Negro, Argentina	-41.16	-70.41	MLHS	CpA3 - FJ027397	-	-	-	-
Cistothorus platensis	MACN-Or 753	2005	Sierra Santa Bárbara, Jujuy, Argentina	-24.12	-64.46	MLHS	CpB2 - FJ027395	-	-	-	-
Cistothorus platensis	MACN-Or 754	2005	Sierra Santa Bárbara, Jujuy, Argentina	-24.12	-64.46	MLHS	CpB2 - HM905985	-	-	-	-
Cistothorus platensis	MACN-Or 755	2005	Sierra Santa Bárbara, Jujuy, Argentina	-24.12	-64.46	MLHS	CpB4 - HM905986	-	-	-	-
Cistothorus platensis	MACN-Or 756	2005	Sierra Santa Bárbara, Jujuy, Argentina	-24.12	-64.46	MLHS	CpB2 ^d	-	-	-	-
Cistothorus platensis	MACN-Or 772	2005	Sierra Santa Bárbara, Jujuy, Argentina	-24.12	-64.46	MLHS	CpB3 ^d	-	-	-	-
Cistothorus platensis	MACN-Or 955	2005	Sierra Santa Bárbara, Jujuy, Argentina	-24.12	-64.46	MLHS	CpB2 - FJ027396	-	-	-	-
Cistothorus platensis	MACN-Or-cp 49559	1963	Valcheta, Río Negro, Argentina	-40.68	-66.16	SS	CpB1 ^d	-	-	-	-
Cistothorus platensis	MACN-Or-cp 40864	1960	El Bolsón, Río Negro, Argentina	-41.97	-71.51	SS	CpA2 ^d	-	-	-	-
Cistothorus platensis	MACN-Or-cp 53613	1991	El Maitén, Chubut, Argentina	-42.05	-71.17	SS	CpA4 ^d	-	-	-	-
Cistothorus platensis	MACN-Or-cp 53250	1986	Tierra del Fuego, Argentina	-54.31	-67.75	SS	CpA2 ^d	-	-	-	-

Cistothorus platensis	QUMEL GW1	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	CpA3 ^d	-	-	-	-
Cistothorus platensis	QUMEL GW2	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	CpA1 - HM905987	-	-	-	-
Cistothorus platensis	QUMEL GW3	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	CpA1 - HM905988	-	-	-	-
Cistothorus platensis	QUMEL GW4	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	CpA1 - HM905989	-	-	-	-
Melanodera melanodera	MACN-Or 207	2004	Patagonia, Argentina	-41.81	-68.91	MLHS	Me3 - HM905963	-	-	-	-
Melanodera melanodera	MACN-Or 208	2004	Patagonia, Argentina	-41.81	-68.91	MLHS	Me3 - FJ027797	-	-	-	-
Melanodera melanodera	MACN-Or 209	2004	Patagonia, Argentina	-41.81	-68.91	MLHS	Me3 - FJ027796	-	-	-	-
Melanodera melanodera	QUMEL FI1	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	Me1 - HM905964	-	-	-	-
Melanodera melanodera	QUMEL FI2	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	Me4 - HM905965	-	-	-	-
Melanodera melanodera	QUMEL FI3	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	Me4 ^d	-	-	-	-
Melanodera melanodera	QUMEL FI4	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	Me4 ^d	-	-	-	-
Melanodera melanodera	QUMEL FI5	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	Me2 - HM905966	-	-	-	-
Melanodera melanodera	QUMEL FI6	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	Me4 ^d	-	-	-	-
Melanodera melanodera	QUMEL FI7	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	Me1 ^d	-	-	-	-
Melanodera melanodera	QUMEL FI8	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	Me1 ^d	-	-	-	-
Melanodera melanodera	QUMEL FI9	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	Me4 ^d	-	-	-	-
Melanodera melanodera	QUMEL FI10	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	Me1 ^d	-	-	-	-
Melanodera melanodera	QUMEL FI11	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	Me4 ^d	-	-	-	-
Muscisaxicola macloviana	MACN-Or 2562	2006	El Bolsón, Río Negro, Argentina	-41.97	-71.51	MLHS	Mm1 - FJ027857	-	-	-	-
Muscisaxicola macloviana	MACN-Or 2645	2006	El Bolsón, Río Negro, Argentina	-41.97	-71.51	MLHS	Mm2 - FJ027856	-	-	-	-
Muscisaxicola macloviana	MACN-Or-cp 52319	1974	Caleta Olivia, Santa Cruz, Argentina	-46.44	-67.52	SS	Mm1 ^d	-	-	-	-
Muscisaxicola macloviana	MACN-Or-cp 42365	1959	Lago Argentino, Santa Cruz, Argentina	-50.23	-71.89	SS	Mm1 ^d	-	-	-	-
Muscisaxicola macloviana	QUMEL GT1	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	Mm1 - HM905962	-	-	-	-
Muscisaxicola macloviana	QUMEL GT2	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	Mm1 ^d	-	-	-	-
Sturnella loyca	MACN-Or 29	2003	Villarino, Buenos Aires, Argentina	-39.03	-62.64	MLHS	SI5 - HM905929	-	-	-	-
Sturnella loyca	MACN-Or 56	2003	Patagones, Buenos Aires, Argentina	-40.80	-62.97	MLHS	SI10 - FJ028333	-	-	-	-
Sturnella loyca	MACN-Or 308	2004	Argentina	-38.42	-63.62	MLHS	SI3 - HM905930	-	-	-	-
Sturnella loyca	MACN-Or 310	2004	Argentina	-38.42	-63.62	MLHS	SI3 - HM905931	-	-	-	-
Sturnella loyca	MACN-Or 549	2005	Pilcaniyeu, Río Negro, Argentina	-41.16	-70.41	MLHS	SI3 - FJ028335	-	-	-	-

Sturnella loyca	MACN-Or 558	2005	Pilcaniyeu, Río Negro, Argentina	-41.16	-70.41	MLHS	SI9 - HM905932	-	-	-	-
Sturnella loyca	MACN-Or 579	2005	Pilcaniyeu, Río Negro, Argentina	-41.16	-70.41	MLHS	SI1 - HM905933	-	-	-	-
Sturnella loyca	MACN-Or 597	2005	Pilcaniyeu, Río Negro, Argentina	-41.16	-70.41	MLHS	SI1 - FJ028337	-	-	-	-
Sturnella loyca	MACN-Or 678	2005	Pilcaniyeu, Río Negro, Argentina	-41.16	-70.41	MLHS	SI3 - FJ028336	-	-	-	-
Sturnella loyca	MACN-Or 665	2005	Pilcaniyeu, Río Negro, Argentina	-41.16	-70.41	MLHS	SI1 - HM905934	-	-	-	-
Sturnella loyca	MACN-Or 681	2005	Pilcaniyeu, Río Negro, Argentina	-41.16	-70.41	MLHS	SI11 - HM905935	-	-	-	-
Sturnella loyca	MACN-Or 2691	2006	Comallo, Río Negro, Argentina	-41.11	-70.38	MLHS	SI1 - HM905936	-	-	-	-
Sturnella loyca	MACN-Or 2692	2006	Comallo, Río Negro, Argentina	-41.11	-70.38	MLHS	SI7 - HM905937	-	-	-	-
Sturnella loyca	MACN-Or 2696	2006	Comallo, Río Negro, Argentina	-41.11	-70.38	MLHS	SI11 - HM905938	-	-	-	-
Sturnella loyca	MACN-Or 2698	2006	Comallo, Río Negro, Argentina	-41.11	-70.38	MLHS	SI3 - HM905939	-	-	-	-
Sturnella loyca	MACN-Or 2699	2006	Comallo, Río Negro, Argentina	-41.11	-70.38	MLHS	SI3 - HM905940	-	-	-	-
Sturnella loyca	MACN-Or 3063	2006	Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina	-38.71	-62.27	MLHS	SI8 - FJ028334	-	-	-	-
Sturnella loyca	MACN-Or 3604	2005	Río Negro, Argentina	-40.73	-66.62	MLHS	SI1 - HM905941	-	-	-	-
Sturnella loyca	MACN-Or 5102	2009	Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina	-38.71	-62.27	MLHS	SI6 - HM396348	-	-	-	-
Sturnella loyca	MACN-Or 5130	2009	Camino a Chasicó, Buenos Aires, Argentina	-38.38	-62.68	MLHS	SI4 - HM396267	-	-	-	-
Sturnella loyca	MACN-Or-cp 4963a'	1934	Colina, Chacabuco, Chile	-33.19	-70.67	SS	SI2 ^d	-	-	-	-
Sturnella loyca	MACN-Or-cp 4959a	1935	Rancagua, Cachapoal, Chile	-34.16	-70.74	SS	SI3 ^d	-	-	-	-
Sturnella loyca	QUMEL SL1	2009	Isla Celebroña (Kidney Island), Islas Malvinas	-51.62	-57.75	FS	SI3 ^d	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 55	2003	Patagones, Buenos Aires, Argentina	-40.80	-62.97	MLHS	TaB15 - FJ028461	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 286	2005	Estancia Los Buitres, Santa Cruz, Argentina	-51.95	-70.97	MLHS	TaA4 - FJ028463	-	TaA3 - JN677451	JN677431	JN677403
Troglodytes aedon	MACN-Or 599	2005	Pilcaniyeu, Río Negro, Argentina	-41.16	-70.41	MLHS	TaA5 - FJ028460	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 695	2005	Pilcaniyeu, Río Negro, Argentina	-41.16	-70.41	MLHS	TaA5 - FJ028459	-	TaA4 - JN677452	JN677432	JN677404
Troglodytes aedon	MACN-Or 1016	2005	Volcán, Jujuy, Argentina	-23.09	-65.48	MLHS	TaB22 - FJ028458	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 1460	2006	San Cayetano, Corrientes, Argentina	-27.34	-58.41	MLHS	TaB18 ^d	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 1475	2006	San Cayetano, Corrientes, Argentina	-27.34	-58.41	MLHS	TaB14 - FJ028462	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 1631	2006	San Cayetano, Corrientes, Argentina	-27.34	-58.41	MLHS	TaB20 ^d	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 1710	2006	Estero Valenzuela, Corrientes, Argentina	-27.60	-58.65	MLHS	TaA5 ^d	-	-	JN677433	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 1860	2006	San Cayetano, Corrientes, Argentina	-27.34	-58.41	MLHS	TaB25 - FJ028471	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 1895	2007	Vicente López, Buenos Aires, Argentina	-34.55	-58.50	MLHS	TaB9 - FJ028473	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 1902	2006	Gualeguay, Entre Ríos, Argentina	-33.15	-59.33	MLHS	TaB14 - FJ028469	-	-	-	-

Troglodytes aedon	MACN-Or 1903	2006	Gualeguay, Entre Ríos, Argentina	-33.15	-59.33	MLHS	TaB2 - FJ028474	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 2333	2006	Tolhuin, Tierra del Fuego, Argentina	-54.51	-67.19	MLHS	TaA2 - FJ028470	-	TaA1 - JN677453	JN677434	JN677405
Troglodytes aedon	MACN-Or 2412	2007	San Cayetano, Corrientes, Argentina	-27.34	-58.41	MLHS	TaB13 ^d	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 2599	2006	El Bolsón, Río Negro, Argentina	-41.97	-71.51	MLHS	TaA5 - FJ028475	-	-	JN677435	JN677406
Troglodytes aedon	MACN-Or 2624	2006	El Bolsón, Río Negro, Argentina	-41.97	-71.51	MLHS	TaA7 ^d	-	TaA2 - JN677454	JN677436	JN677407
Troglodytes aedon	MACN-Or 2666	2006	El Bolsón, Río Negro, Argentina	-41.97	-71.51	MLHS	TaA5 - FJ028466	-	-	-	JN677408
Troglodytes aedon	MACN-Or 2679	2006	El Bolsón, Río Negro, Argentina	-41.97	-71.51	MLHS	TaA8 - FJ028464	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 2680	2006	El Bolsón, Río Negro, Argentina	-41.97	-71.51	MLHS	TaA3 - FJ028465	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 2846	2006	Parque Nacional Iguazú, Misiones, Argentina	-25.57	-54.34	MLHS	TaC4 - FJ028468	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 2893	2006	Parque Nacional Iguazú, Misiones, Argentina	-25.57	-54.34	MLHS	TaC1 - FJ028467	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 3168	2007	Parque Nacional Pilcomayo, Formosa, Argentina	-25.12	-58.18	MLHS	TaB19 - FJ028476	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 3196	2007	Parque Nacional Pilcomayo, Formosa, Argentina	-25.12	-58.18	MLHS	TaC2 - FJ028472	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 3335	2005	Victoria, Buenos Aires, Argentina	-34.46	-58.55	MLHS	TaB17 ^d	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 3546	2007	Parque Nacional Iguazú, Misiones, Argentina	-25.57	-54.34	MLHS	TaB5 ^d	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 3636	2007	Ciudad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina	-34.64	-58.41	MLHS	TaB12 ^d	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 3759	2007	Bariloche, Río Negro, Argentina	-40.57	-71.30	MLHS	TaA9 ^d	-	TaA5 - JN677455	JN677437	JN677409
Troglodytes aedon	MACN-Or 3884	2008	Camino a Alto Beni, La Paz, Bolivia	-15.80	-67.20	MLHS	TaB14 ^d	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 4162	2008	Reserva Colonia Benítez, Chaco, Argentina	-27.31	-58.93	MLHS	TaB17 - HQ569914	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 4179	2008	Reserva Colonia Benítez, Chaco, Argentina	-27.31	-58.93	MLHS	TaB24 - HQ569923	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 4204	2008	Reserva Colonia Benítez, Chaco, Argentina	-27.31	-58.93	MLHS	TaB17 - HM396287	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 4248	2008	Magdalena, Buenos Aires, Argentina	-35.13	-57.38	MLHS	TaB10 - HM396072	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 4271	2008	Magdalena, Buenos Aires, Argentina	-35.13	-57.38	MLHS	TaB10 - HM396082	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 4344	2008	El Palmar, Entre Ríos, Argentina	-31.85	-58.32	MLHS	TaB3 ^d	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 4345	2008	El Palmar, Entre Ríos, Argentina	-31.85	-58.32	MLHS	TaB11 ^d	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 4355	2008	El Palmar, Entre Ríos, Argentina	-31.85	-58.32	MLHS	TaB1 ^d	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 4516	2009	Parque Nacional Chaco, Chaco, Argentina	-26.80	-59.60	MLHS	TaB16 - HQ569978	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 4560	2008	San Martín de los Andes, Neuquén, Argentina	-40.15	-71.35	MLHS	TaA3 ^d	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 4561	2008	San Martín de los Andes, Neuquén, Argentina	-40.15	-71.35	MLHS	TaA3 ^d	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 4563	2009	Magdalena, Buenos Aires, Argentina	-35.13	-57.38	MLHS	TaB6 - HM396111	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 4567	2009	Magdalena, Buenos Aires, Argentina	-35.13	-57.38	MLHS	TaB2 - HM396114	-	-	-	-

Troglodytes aedon	MACN-Or 4579	2009	Magdalena, Buenos Aires, Argentina	-35.13	-57.38	MLHS	TaB8 - HM905953	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 4663	2009	La Paz, La Paz, Bolivia	-16.50	-68.15	MLHS	TaB21 ^d	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 4785	2009	Parque Nacional Chaco, Chaco, Argentina	-26.80	-59.60	MLHS	TaA5 - HM396137	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 4793	2009	Parque Nacional Chaco, Chaco, Argentina	-26.80	-59.60	MLHS	TaA3 ^d	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 4809	2009	Parque Nacional Chaco, Chaco, Argentina	-26.80	-59.60	MLHS	TaA5 - HM396146	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 4811	2009	Parque Nacional Chaco, Chaco, Argentina	-26.80	-59.60	MLHS	TaB17 - HM396148	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 4950	N.D	Argentina	-38.42	-63.62	MLHS	TaB11 - HM396179	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 5016	2009	Parque Nacional Mburucuyá, Corrientes, Argentina	-28.02	-58.02	MLHS	TaA6 - HM396216	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 5063	2009	Parque Nacional Mburucuyá, Corrientes, Argentina	-28.02	-58.02	MLHS	TaB4 - HM396247	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 5077	2009	Parque Nacional Mburucuyá, Corrientes, Argentina	-28.02	-58.02	MLHS	TaC3 - HM396253	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 5101	2009	Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina	-38.71	-62.27	MLHS	TaB7 - HM396262	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MACN-Or 5125	2009	Sierra de la Ventana, Buenos Aires, Argentina	-38.03	-62.18	MLHS	TaB17 - HM396265	-	-	-	-
Troglodytes aedon	UWBM 70276	2006	Parque Nacional Iguazú, Misiones, Argentina	-25.57	-54.34	MLHS	TaC1 - HM396317	-	-	-	-
Troglodytes aedon	UWBM 70288	1995	Posadas, Misiones, Argentina	-27.36	-55.90	MLHS	TaB23 - HM396318	-	-	-	-
Troglodytes aedon	ROM3749 ^b	N.D	Toronto, Ontario, Canadá	52.94	-73.55	SEQ	TaD4 ^d	-	-	-	-
Troglodytes aedon	AJB4398 ^b	N.D	Ushuaia, Tierra del Fuego, Argentina	-54.79	-68.23	SEQ	TaA3 ^d	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MBO 2440 - 40819 ^b	2006	Quebec, Canadá	52.94	-73.55	SEQ	TaD1 - HM033846	-	-	-	-
Troglodytes aedon	TTP 2340 - 88765 ^b	2005	Toronto, Ontario, Canadá	52.94	-73.55	SEQ	TaD2 - HM033848	-	-	-	-
Troglodytes aedon	MBO 2440 - 40612 ^b	2005	Quebec, Canadá	52.94	-73.55	SEQ	TaD5 - HM033850	-	-	-	-
Troglodytes aedon	TTP 2430 - 32002 ^b	2005	Toronto, Ontario, Canadá	52.94	-73.55	SEQ	TaD5 - HM033849	-	-	-	-
Troglodytes aedon	RPBO 2440 - 66314 ^b	2006	Vancouver Island, British Columbia, Canadá	49.67	-125.80	SEQ	TaE3 - HM033844	-	-	-	-
Troglodytes aedon	RPBO 2440 - 66066 ^b	2006	Vancouver Island, British Columbia, Canadá	49.67	-125.80	SEQ	TaE2 - HM033845	-	-	-	-
Troglodytes aedon	RPBO 2440 - 66202 ^b	2006	Vancouver Island, British Columbia, Canadá	49.67	-125.80	SEQ	TaE3 - HM033843	-	-	-	-
Troglodytes aedon	RPBO2440 - 66078 ^b	2006	Vancouver Island, British Columbia, Canadá	49.67	-125.80	SEQ	TaE1 - HM033846	-	-	-	-
Troglodytes aedon	HBO 2290 - 95641 ^b	2004	Ontario, Canadá	51.25	-85.32	SEQ	TaD2 - DQ434785	-	-	-	-
Troglodytes aedon	SPP 2340 - 77092 ^b	2004	Ontario, Canadá	51.25	-85.32	SEQ	TaD5 - DQ434786	-	-	-	-
Troglodytes aedon	SPP 2340 - 770077 ^b	2004	Ontario, Canadá	51.25	-85.32	SEQ	TaD3 - DQ434787	-	-	-	-
Troglodytes cobbi	QUMEL CW1	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	TaA1 ^d	-	-	JN677438	JN677415
Troglodytes cobbi	QUMEL CW2	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	TaA1 - HM905954	-	-	-	JN677410
Troglodytes cobbi	QUMEL CW3	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	TaA1 ^d	-	-	JN677439	JN677416

Troglodytes cobbi	QUMEL CW4	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	TaA1 - HM905955	-	TaB1 - JN677456	JN677442	JN677417
Troglodytes cobbi	QUMEL CW5	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	TaA1 - HM905956	-	-	-	JN677411
Troglodytes cobbi	QUMEL CW6	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	TaA1 - HM905957	-	-	-	-
Troglodytes cobbi	QUMEL CW7	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	TaA1 - HM905958	-	TaB1 - JN677457	JN677440	JN677412
Troglodytes cobbi	QUMEL CW8	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	TaA1 - HM905959	-	-	-	JN677413
Troglodytes cobbi	QUMEL CW9	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	TaA1 - HM905960	-	-	-	-
Troglodytes cobbi	QUMEL CW10	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	TaA1 ^d	-	-	-	JN677414
Troglodytes cobbi	QUMEL CW11	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	TaA1 - HM905961	-	TaB1 - JN677458	JN677441	JN677418
Turdus falcklandii	MACN-Or 540	2005	Pilcaniyeu, Río Negro, Argentina	-41.16	-70.41	MLHS	Tf4 - FJ028502	-	-	JN677444	JN677419
Turdus falcklandii	MACN-Or 543	2005	Pilcaniyeu, Río Negro, Argentina	-41.16	-70.41	MLHS	Tf2 - FJ028503	-	-	-	JN677420
Turdus falcklandii	MACN-Or 650	2005	Pilcaniyeu, Río Negro, Argentina	-41.16	-70.41	MLHS	-	-	Tf2 - JN677459	d	JN677421
Turdus falcklandii	MACN-Or 2578	2006	El Bolsón, Río Negro, Argentina	-41.97	-71.51	MLHS	Tf8 - HM905942	-	Tf2 - JN677460	JN677443	JN677422
Turdus falcklandii	MACN-Or 2579	2006	El Bolsón, Río Negro, Argentina	-41.97	-71.51	MLHS	Tf6 - FJ028505	-	-	JN677445	-
Turdus falcklandii	MACN-Or 2601	2006	El Bolsón, Río Negro, Argentina	-41.97	-71.51	MLHS	Tf7 - HM905943	-	Tf2 - JN677461	JN677446	JN677423
Turdus falcklandii	MACN-Or 2617	2006	El Bolsón, Río Negro, Argentina	-41.97	-71.51	MLHS	Tf5 - HM905944	-	Tf2 - JN677462	d	JN677424
Turdus falcklandii	MACN-Or 2626	2006	El Bolsón, Río Negro, Argentina	-41.97	-71.51	MLHS	Tf2 - FJ028504	-	-	-	JN677425
Turdus falcklandii	MACN-Or 2640	2006	El Bolsón, Río Negro, Argentina	-41.97	-71.51	MLHS	Tf3 - HM905945	-	Tf1 - JN677463	JN677447	JN677426
Turdus falcklandii	MACN-Or 4537	2008	Junín de los Andes, Neuquén, Argentina	-39.92	-71.07	MLHS	Tf3 - HM396099	-	-	-	-
Turdus falcklandii	MACN-Or 4556	2008	San Martín de los Andes, Neuquén, Argentina	-40.15	-71.35	MLHS	Tf2 - HM396109	-	-	-	JN677427
Turdus falcklandii	QUMEL FT1	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	Tf1 - HM905946	-	-	JN677450	-
Turdus falcklandii	QUMEL FT2	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	Tf1 - HM905947	-	Tf3 - JN677464	JN677448	JN677428
Turdus falcklandii	QUMEL FT3	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	Tf1 - HM905948	-	Tf3 - JN677465	d	JN677429
Turdus falcklandii	QUMEL FT4	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	Tf1 - HM905949	-	-	-	-
Turdus falcklandii	QUMEL FT5	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	Tf1 - HM905950	-	Tf3 - JN677466	JN677449	-
Turdus falcklandii	QUMEL FT6	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	Tf1 - HM905951	-	Tf3 - JN677467	d	-
Turdus falcklandii	QUMEL FT7	2009	Isla de los Leones Marinos, Islas Malvinas	-52.43	-59.08	BS	Tf1 - HM905952	-	Tf3 - JN677468	d	JN677430

^aAMNH, American Museum of Natural History; MACN, Museo Argentino de Ciencias Naturales “Bernardino Rivadavia”; QUMEL, Queen’s University Molecular Ecology Laboratory collection; UWBM, Burke Museum of Natural History and Culture.

^bSecuencias obtenidas de www.boldsystems.org/.

^aMLHS, músculo pectoral, muestra de hígado o corazón; BS, muestra de sangre; SS, piel de estudio; FS, muestra obtenida de una pluma; SEQ, secuencia obtenida de un banco de datos.

^dSecuencias que aún no han sido depositadas en Genbank.

Apéndice 3.2 (capítulo IV): Grabaciones utilizadas para evaluar diferencias en las vocalizaciones de *T. aedon* y *T. cobbi*.

Especie	Número de cantos	Localidad	Latitud	Longitud	Año	Fuente	Autor
<i>T. aedon</i>	6	Jardín Botánico, Montevideo, Uruguay	-34.86	-56.2	2003	López-Lanús 2008	JP Culasso
<i>T. aedon</i>	4	Acambuco, Salta, Argentina	-22.18	-63.95	2005	López-Lanús 2008	B López-Lanús
<i>T. aedon</i>	5	Colonia Carlos Pellegrini, Corrientes, Argentina	-28.53	-57.17	2004	López-Lanús 2008	D Monteleone
<i>T. aedon</i>	4	Lago Puelo, Chubut, Argentina	-42.06	-71.6	1992	López-Lanús 2008	F Vidoz
<i>T. aedon</i>	5	San Pedro, Buenos Aires, Argentina	-33.68	-59.67	2004	López-Lanús 2008	C Ferrari
<i>T. aedon</i>	4	Ciudad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina	-34.61	-58.37	2004	López-Lanús 2008	C Ferrari
<i>T. aedon</i>	3	Ceibas, Entre Ríos, Argentina	-33.5	-58.8	2002	López-Lanús 2008	S Wasyluk
<i>T. aedon</i>	4	Lago Roca, Santa Cruz, Argentina	-50.53	-72.81	2002	López-Lanús 2008	S Imberti
<i>T. aedon</i>	2	Saladillo, Buenos Aires, Argentina	-34.64	-59.78	1985	López-Lanús 2008	MA Roda
<i>T. aedon</i>	4	Parque Nacional Lihué Calel, La Pampa, Argentina	-37.31	-65.93	1994	López-Lanús 2008	M Castelino
<i>T. aedon</i>	4	Ciudad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina	-34.61	-58.37	-	López-Lanús 2008	JL Merlo
<i>T. aedon</i>	3	Acambuco, Salta, Argentina	-22.18	-63.95	2005	López-Lanús 2008	B López Lanús
<i>T. aedon</i>	2	Caracoles, Maldonado, Uruguay	-34.91	-54.79	2003	López-Lanús 2008	B López Lanús
<i>T. aedon</i>	7	Sierra Baguales, XII Región, Chile	-50.69	-72.42	2004	Imberti et al. 2009	S Imberti
<i>T. aedon</i>	8	Cabo San Pablo, Tierra del Fuego, Argentina	-54.49	-66.49	2006	Imberti et al. 2009	S Imberti
<i>T. aedon</i>	6	Neuquén, Neuquén, Argentina	-38.95	-68.07	2007	Imberti et al. 2009	I Areta
<i>T. aedon</i>	4	Estancia La Angostura, Santa Cruz, Argentina	-49.25	-67.71	2005	Imberti et al. 2009	S Imberti
<i>T. aedon</i>	2	Parque Nacional Los Glaciares, Santa Cruz, Argentina	-50.12	-73.29	2005	Imberti et al. 2009	S Imberti
<i>T. aedon</i>	19	Sierra Baguales, XII Región, Chile	-50.69	-72.42	2004	S Imberti, colección personal	S Imberti
<i>T. aedon</i>	16	Lago Roca, Santa Cruz, Argentina	-50.53	-72.81	2002	S Imberti, colección personal	S Imberti
<i>T. aedon</i>	18	Cabo San Pablo, Tierra del Fuego, Argentina	-54.49	-66.49	2006	S Imberti, colección personal	S Imberti
<i>T. cobbi</i>	5	Islas Malvinas	-54.69	-60.63	1979	López-Lanús 2008	I Strange

T. cobbi	2	Carcass Island, Islas Malvinas	-51.28	-60.56	2006	Imberti et al. 2009	S Imberti
T. cobbi	4	Islas Malvinas	-54.69	-60.63	2006	Imberti et al. 2009	S Imberti
T. cobbi	5	Carcass Island, Islas Malvinas	-51.28	-60.56	1995	R Woods, colección personal	R Woods
T. cobbi	7	Carcass Island, Islas Malvinas	-51.28	-60.56	1995	R Woods, colección personal	R Woods
T. cobbi	4	Carcass Island, Islas Malvinas	-51.28	-60.56	1995	R Woods, colección personal	R Woods
T. cobbi	5	Carcass Island, Islas Malvinas	-51.28	-60.56	1995	R Woods, colección personal	R Woods
T. cobbi	12	Carcass Island, Islas Malvinas	-51.28	-60.56	1995	R Woods, colección personal	R Woods
T. cobbi	7	Carcass Island, Islas Malvinas	-51.28	-60.56	1995	R Woods, colección personal	R Woods
T. cobbi	9	Carcass Island, Islas Malvinas	-51.28	-60.56	1995	R Woods, colección personal	R Woods
T. cobbi	14	Carcass Island, Islas Malvinas	-51.28	-60.56	1995	R Woods, colección personal	R Woods
T. cobbi	14	Carcass Island, Islas Malvinas	-51.28	-60.56	1995	R Woods, colección personal	R Woods
T. cobbi	4	Carcass Island, Islas Malvinas	-51.28	-60.56	1995	R Woods, colección personal	R Woods
T. cobbi	4	Carcass Island, Islas Malvinas	-51.28	-60.56	1995	R Woods, colección personal	R Woods
T. cobbi	7	Isla Celebroña (Kidney Island), Islas Malvinas	-51.62	-57.75	1962	R Woods, colección personal	R Woods
T. cobbi	4	Carcass Island, Islas Malvinas	-51.28	-60.56	1995	R Woods, colección personal	R Woods

^aLópez-Lanús 2008: B López-Lanús (2008), Sonidos de Aves del cono sur, Audiornis Producciones, Buenos Aires; Imberti et al. 2009: Imberti et al. (2009), Sonidos de Aves de Argentina y áreas adyacentes - Patagonia, Antártida e Islas del Atlántico Sur; Sereima Nature Tours, Buenos Aires.

Apéndice 3.3 (capítulo IV):

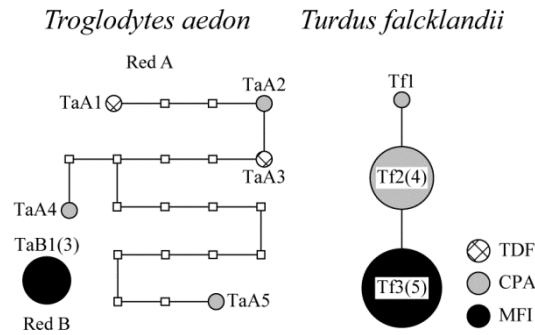


Figura 1: Red de haplotipos de parsimonia estadística mostrando conexiones entre haplotipos de Cyt b con una probabilidad \geq al 95% obtenidos de *T. aedon*/*T. cobbi* y *T. falcklandii*. Para *T. aedon* sólo se incluyeron individuos de la red A (Figura 4.4 del capítulo IV), debido a que estos eran los parientes más cercanos de *T. cobbi*. Demás detalles como en la Figura 4.2 del capítulo IV.

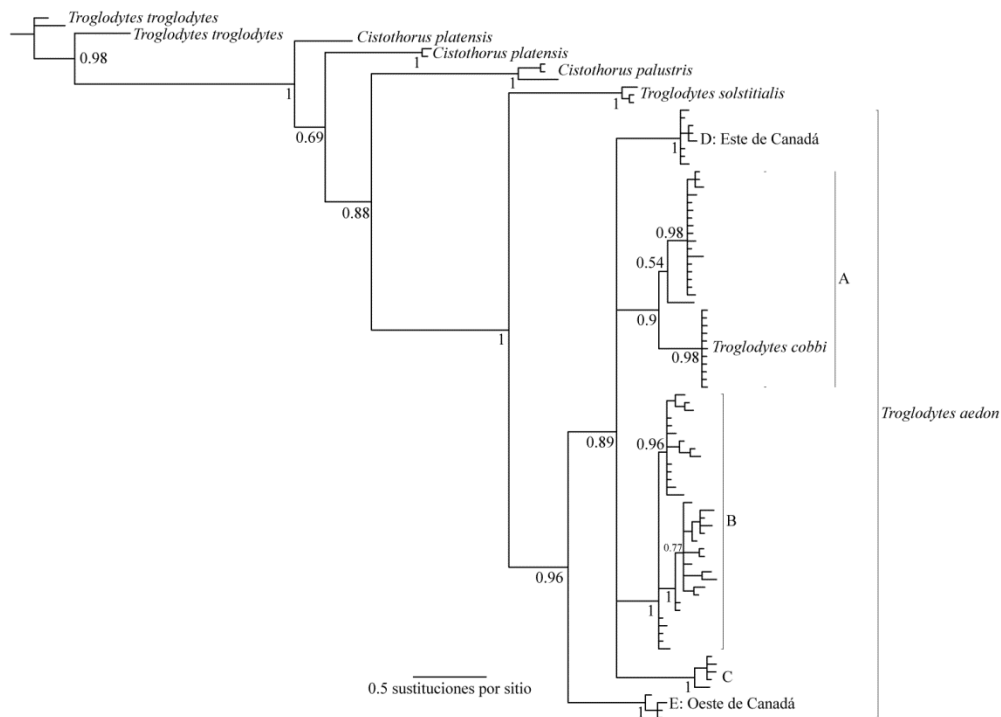


Figura 2: Árbol Bayesiano de COI basado en un consenso de mayoría al 50% con probabilidades a posteriori indicando el soporte de los nodos. Se omitieron algunos valores de soporte para simplificar la figura. Para *T. aedon* se indican las muestras que pertenecen a las redes A - E de la Figura 4.4 del capítulo IV.