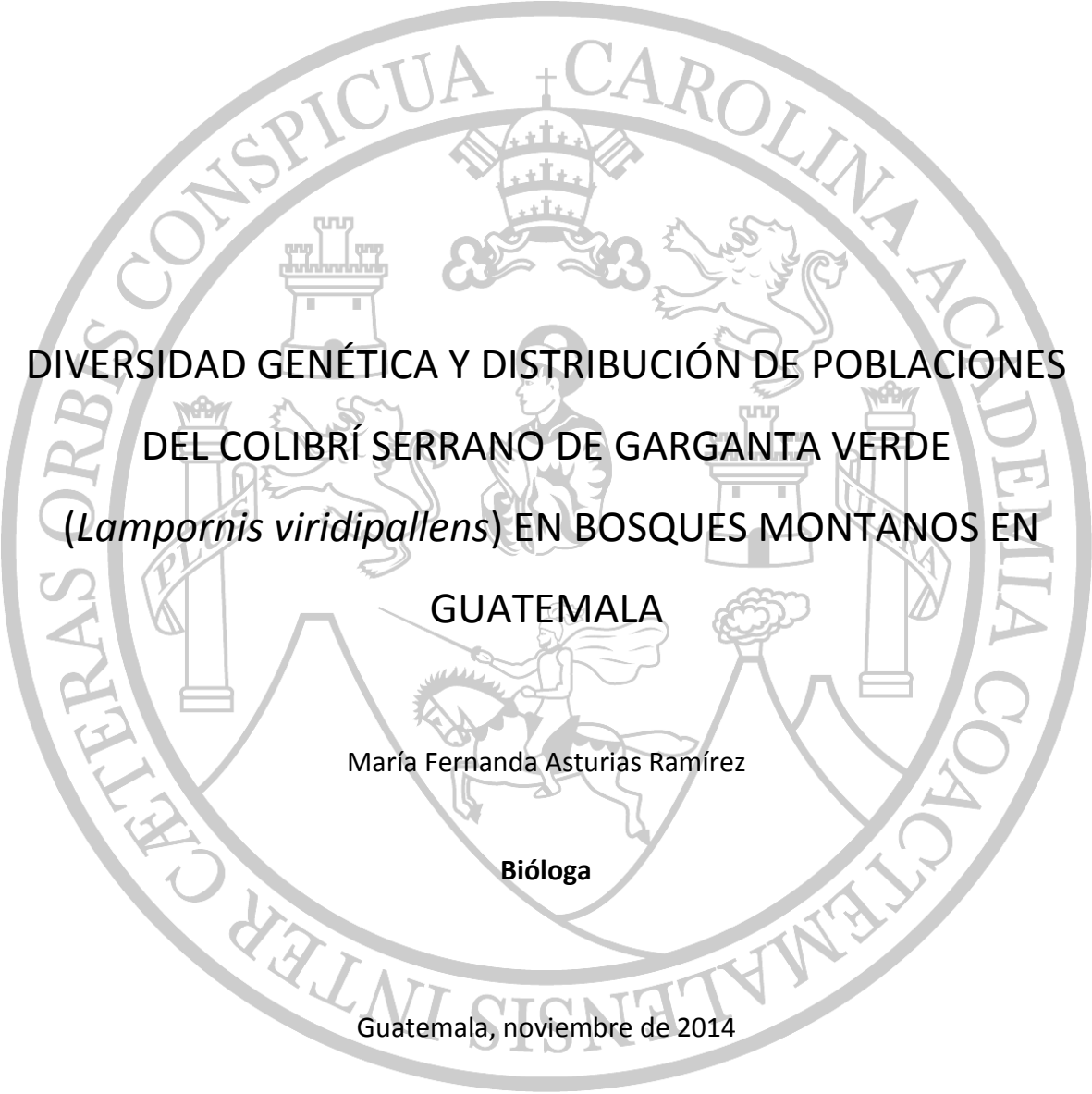


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA




DIVERSIDAD GENÉTICA Y DISTRIBUCIÓN DE POBLACIONES
DEL COLIBRÍ SERRANO DE GARGANTA VERDE
(*Lampornis viridipallens*) EN BOSQUES MONTANOS EN
GUATEMALA

María Fernanda Asturias Ramírez

Bióloga

Guatemala, noviembre de 2014

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



DIVERSIDAD GENÉTICA Y DISTRIBUCIÓN DE POBLACIONES
DEL COLIBRÍ SERRANO DE GARGANTA VERDE
(*Lampornis viridipallens*) EN BOSQUES MONTANOS EN
GUATEMALA

INFORME DE TESIS

Presentado por

María Fernanda Asturias Ramírez

Para optar al título de

Bióloga

Guatemala, noviembre de 2014

DEDICATORIA

A Dios por ser mi mejor amigo, el que guía mi vida.

A mis padres Rolando y Lucy les dedico muy especialmente esta tesis, gracias por su amor y su apoyo incondicional.

A mi hermanita Ana Lucía, mis abuelitas, tíos, primos y a toda mi familia por compartir conmigo la alegría de esta meta alcanzada, por haber estado pendiente de mí cuando he estado lejos y demostrarme siempre su cariño.

A mis amigos y compañeros de la universidad que siempre me brindaron su apoyo.

En especial a Sara, Moisés, Estefany, Mónica, Jocelyn, Linda, Rocío, Emilio, Jhasmin, Mercedes, Marielos, Lurys y Esteban, por los viajes de campo, las perdidas, encontradas, las historias y las leyendas, han hecho de estos años una aventura.

A mi amiga Cristina por tantas imaginaciones, ideales, conspiraciones y momentos de alegría que hemos compartido.

Al pueblo de Guatemala que me brindó el privilegio de estudiar en la Universidad de San Carlos de Guatemala, sufragando mis estudios en esta Alma Mater, a quienes debo tan importantes herramientas de desarrollo.

Con mucho cariño lo comparto con ustedes.

AGRADECIMIENTOS

Muy especialmente a Rosa Alicia Jiménez por ser mi asesora desde hace tanto tiempo e iniciarme en el maravilloso mundo de las aves, por tantas enseñanzas, entusiasmo, curiosidades y por su amistad.

Al Museo de Historia Natural y al Museo de Zoología de Vertebrados de la Universidad de California, Berkeley por la oportunidad de participar en el proyecto y por el financiamiento brindado.

A los participantes del proyecto “Inventario biótico y evolución de la fauna de vertebrados terrestres de América Central nuclear” por permitirme utilizar tejidos colectados previamente, por su apoyo y amistad en el campo y en el laboratorio.

A Zachary Hanna por la capacitación en el laboratorio.

Al Doctor Jorge Erwin López por sus aportes y revisiones al trabajo.

A Pavel García por sus enseñanzas en modelado de nicho.

A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia a través de la Escuela de Biología, a mis profesores e instructores por todos los valiosos conocimientos que depositaron en mí, estaré por siempre agradecida.

A varias instituciones que me brindaron su apoyo en diversos momentos.

Finalmente a todas las personas que de una u otra forma hicieron posible la realización de este estudio.

ÍNDICE

1.	RESUMEN.....	1
2	INTRODUCCIÓN.....	3
3	ANTECEDENTES.....	5
3.1	Planteamiento del Problema.....	5
3.2	Marco Teórico.....	7
3.2.1	Estudios de linajes genéticos y su relación con la historia geológica y climática.....	7
3.2.2	La familia de los colibríes: Trochillidae.....	9
3.2.3	Los parientes más cercanos del colibrí serrano de garganta verde: Género <i>Lampornis</i>	12
3.2.4	Colibrí serrano de garganta verde.....	14
4.	JUSTIFICACIÓN.....	16
5.	OBJETIVOS.....	17
5.1	General.....	17
5.2	Específicos.....	17
6.	HIPÓTESIS.....	18
7.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
7.1	Universo.....	19
7.2	Población.....	19
7.3	Muestra.....	19
7.4	Materiales y equipo.....	19
7.5	Métodos.....	21
8.	RESULTADOS.....	27
8.1	Diversidad genética.....	27
8.2	Estructura filogeográfica.....	28
8.3	Modelos de distribución potencial.....	35
8.4	Identificación de barreras.....	38
9.	DISCUSIÓN.....	39
9.1	Estructura genética.....	39
9.2	Importancia para la conservación.....	41
10.	CONCLUSIONES.....	43
11.	RECOMENDACIONES.....	44
12.	REFERENCIAS.....	45
13.	ANEXOS.....	58

1. RESUMEN

Las variaciones en la topografía, clima y demografía definen el grado de flujo génico entre las poblaciones y pueden hacer ciertas regiones inhabitables o inalcanzables para las especies, dando forma a la distribución de las mismas. Guatemala tiene una historia geológica compleja por lo tanto existen regiones montañosas de diferentes edades y orígenes, las cuáles han estado sometidas a cambios históricos del clima. Resultado de esto existe un alto endemismo de especies en regiones montañosas, especies que a su vez se encuentran cercanamente emparentadas. El aislamiento que se ha observado en especies cercanas evolutivamente podría estar ocurriendo en las poblaciones del colibrí serrano de garganta verde. Esta es una especie que habita en los bosques nubosos desde Chiapas hasta el oeste de Honduras. La región en la que habita en las montañas es atravesada por valles de varios kilómetros de ancho en algunas áreas. Uno de estos valles es el del Motagua, que es una de las zonas más calurosas y secas de la región por lo que podría representar una barrera para la migración.

En este estudio se encontraron cuatro grupos genéticos en el colibrí serrano de garganta verde. Los Valles Motagua y Polochic se identificaron como barreras, tal como se había predicho en la hipótesis. Interesantemente se encontró más divergencia de la esperada debido a que se formaron dos grupos al norte y dos al sur de dichos valles. Las otras barreras identificadas fueron los cañones formados por el río Xacbal en Quiché, el río Coatán en Chiapas y el río Grande en Zacapa. La temperatura ha sido la principal variable que ha limitado la dispersión a través de estas áreas. La frecuencia de haplotipos compartidos dentro de los grupos y la alta divergencia genética de la población en Zacapa, incluso con una población cercana, respaldó la hipótesis que indica que las poblaciones con mayor conectividad espacial mostrarían menor divergencia genética.

La alta estructuración en el colibrí serrano de garganta verde en relación a otras especies remarca la importancia de los bosques nubosos de la región en favorecer la especiación. Debido a que la Sierra de Chamá, el oeste de Guatemala, la Cordillera Volcánica y Zacapa

son grupos genéticos distintos los planes de conservación deberían considerarlos como independientes y buscar conservar la diversidad genética de cada uno de ellos. La conservación en el área de La Unión, Zacapa es particularmente importante debido a que es la que muestra mayor divergencia y se encuentra relativamente aislada de otros bosques nubosos.

2. INTRODUCCIÓN

Las variaciones en las características topográficas y climáticas pueden hacer ciertas regiones inhabitables o inalcanzables para las especies, creando fragmentación en los hábitats óptimos. Por lo tanto la topografía, el clima y la demografía, en última instancia, definen el grado de flujo génico entre las poblaciones naturales y dan forma a la distribución de las mismas (Chávez y otros, 2007, 795; Galbreath y otros, 2009, 2848; Parra-Olea y otros, 2012, 353; Velo-Antón y otros, 2013, 3261). Sin embargo, las relaciones entre el flujo génico y eventos geológicos aún están muy lejos de ser comprendidas, en especial en áreas tan poco estudiadas como Guatemala.

El terreno donde se encuentra Guatemala está formado por planicies y áreas montañosas de diferentes edades y orígenes, con distintos grados de conectividad (Schuster y Bonis, 2008, 24 y 33). Por lo tanto presenta un escenario adecuado para el estudio de las características topográficas y climáticas que definen el grado de flujo génico entre poblaciones naturales. Es por ello que este trabajo buscaba analizar la estructura genética en poblaciones del colibrí serrano de garganta verde *Lampornis viridipallens* en Guatemala y el sur de Chiapas, así como evaluar la presencia de barreras en el hábitat. Esta especie de colibrí se distribuye desde el sureste de Oaxaca, México, pasando por Guatemala, hasta el oeste de Honduras y El Salvador (Howell y Webb, 1995, 416). Su taxón hermano – del cual diverge en ausencia de barreras geográficas – *Lampornis sybillae*, se encuentra en el centro de Honduras y Nicaragua (García-Moreno y otros, 2006, 489).

Los colibríes serranos de garganta verde habitan en bosques nubosos (Howell y Webb, 1995, 416). Generalmente los bosques nubosos en el norte de Mesoamérica se encuentran entre los 1,200 y 2,600 msnm. En Guatemala los bosques nubosos tienen una amplia distribución en las montañas y se encuentran naturalmente aislados ya que requieren condiciones ecológicas específicas, que incluyen pendientes muy pronunciadas con mucha humedad de las nubes y niebla (Kappelle y Brown, 2001, 231-233). Es por esto

que se puso a prueba la hipótesis de los valles Motagua y Polochic como barreras. Debido a que son de las zonas más calurosas y secas de la región (Arce y otros, 2009, 21) se esperaba que limitaran la dispersión, formándose un grupo genético al norte y otro al sur de dichos valles.

Para probar la hipótesis se utilizaron secuencias de ADN mitocondrial, un análisis espacial de varianza molecular y modelos de distribución potencial. Se encontraron dos grupos genéticos al norte de los valles Motagua y Polochic, localizados en la Sierra de Chamá y el oeste de Guatemala. Al sur de estos valles se encontraron dos grupos genéticos, en la Cordillera Volcánica y la población en Zacapa. Por lo tanto se observó más grupos genéticos de los predichos, separados por cañones de ríos.

3. ANTECEDENTES

3.1 Planteamiento del Problema

La historia geológica ha sido determinante para la diversidad y distribución de las especies en Guatemala, ya que este territorio se conformó por la unión de los bloques Maya y Chortís durante el Cretácico, formándose la Sierra de las Minas y del Merendón en el transcurso de dicho evento. Durante el Pleistoceno ocurrió una serie de glaciaciones que afectaron el clima a nivel global y por ende la distribución de los bosques montanos, además es en esta época en que se formaron la mayoría de volcanes en la costa sur debido a la subducción de la Placa de Cocos. Resultado de esto es que Guatemala posee un alto endemismo de especies en regiones montañosas, tanto de flora como de fauna, especies que a su vez se encuentran cercanamente emparentadas (Shuster y Bonis, 2008, 30-33).

El aislamiento que se ha observado en especies cercanas evolutivamente y de distribución montana podría estar ocurriendo en las poblaciones del colibrí serrano de garganta verde, ya que la región que habita en las montañas es atravesada por valles de varios kilómetros de ancho en algunas áreas. Uno de estos valles es el del Motagua, que tiene una extensión mayor a los 2, 300 km², presenta vegetación árida o semiárida y una altitud menor a los 700 msnm. En el Valle del Motagua hay entre cinco y seis meses donde la precipitación total es menor a 100 mm de lluvia y la temperatura máxima es de 35°C (Arce y otros, 2009, 21). Es una de las zonas más calurosas y secas de la región, por lo que podría representar una barrera para la migración. Se ha visto que las especies tropicales montanas son particularmente sensibles a las fluctuaciones climáticas porque sus tolerancias termales suelen limitar su capacidad de permanecer fuera del hábitat óptimo al que están adaptadas (Janzen, 1967, 233; Bell y otros, 2010, 2531).

El colibrí serrano de garganta verde se encuentra en la Sierra Norte y la Sierra de los Cuchumatanes al noroeste del Valle del Motagua, en la Sierra Madre de Chiapas y la Cordillera Volcánica de la costa sur al suroeste de este valle, al lado noreste se encuentra en la Sierra de las Minas y al sureste en los volcanes del terciario y las tierras altas Chortís (Figura 1) (Schuster y Bonis, 2008, 30-33; IUCN, 2013). Es por esto que resulta interesante conocer el grado de divergencia genética en sus poblaciones e inferir sobre la conectividad de su hábitat para comprender de una mejor manera la influencia que ha tenido la historia geológica y climática en la fauna de Guatemala.



Figura 1. Mapa de distribución del colibrí serrano de garganta verde (IUCN, 2013).

3. 2 Marco teórico

3.2.1 Linajes genéticos y su relación con la historia geológica y climática

La divergencia genética entre linajes, ya sean poblaciones o especies cercanamente emparentadas, puede representarse como la proporción de alelos diferentes o las distancias genéticas (Pierce, 2000, 11). Las distancias genéticas esperadas se relacionan con la frecuencia de los alelos de los genes en estudio. Si algunas poblaciones en un área se encuentran más relacionadas que otras, la proporción de alelos diferentes variará siendo menor la diferencia entre las poblaciones más relacionadas (Dyer y otros, 2010, 3746). A la cantidad y distribución de la variabilidad genética se le conoce como estructura genética (Pierce, 2000).

Un patrón común de distancia genética en organismos terrestres es que los organismos que están próximos espacialmente serán más similares genéticamente que organismos que están distantes espacialmente, dado que exista un paisaje uniforme. Sin embargo los cambios históricos, climáticos y geológicos, pueden ocasionar aumento o disminución del intercambio génico (Wright, 1943, 114; McKelvey y otros, 2010, 318).

Una de las formas más frecuentes por la cual las poblaciones se diferencian es por alopatría. Esta consiste en que el área de distribución de las especies se ve separada en dos por una barrera física que impide el flujo génico entre las partes. Al haber aislamiento físico y no presentarse flujo génico entre las poblaciones, la divergencia se acumula como resultado de la adaptación a las condiciones del medio ambiente dominante y por deriva génica (Rodríguez-Gómez y otros, 2013, 1360).

Por el contrario, cuando las barreras geográficas son permeables puede ocurrir migración y altos niveles de flujo génico entre las poblaciones. El flujo génico aporta variación genética, favoreciendo la supervivencia de poblaciones pequeñas y evitando la endogamia

(Dobson y Jones, 1985, 855). No obstante, la selección puede ser suficientemente fuerte para contrarrestar la homogenización genética y causar la divergencia de las poblaciones (Nosil, 2008, 2103) como se ha mostrado en algunos estudios (Milá y otros, 2009, 2979; Brandley y otros, 2010, 552).

Algunos estudios con vertebrados en regiones montañosas han examinado patrones de divergencia genética, morfológica y ambiental (Chávez y otros, 2007, 795; Rodríguez-Gómez y otros, 2013, 1360). Estos patrones se han investigado a gran escala a través de Mesoamérica (Castoe y otros, 2009, 88) y a menor escala dentro de esta región (Barber y Klicka 2010, 2675; Ornelas y otros, 2013b, 1; Rovito y otros, 2012, 1251). Utilizando ADN mitocondrial se han encontrado linajes que responden a barreras geográficas tales como el Cinturón Volcánico Transmexicano (Velo-Antón y otros, 2013, 3261), el Istmo de Tehuantepec (Rodríguez-Gómez y otros, 2013, 1360) y la depresión de Nicaragua (Castoe y otros, 2009, 94).

En el norte de Centro América, se han encontrado fuertes interrupciones filogeográficas a través del eje donde las placas Maya y Chortís entran en contacto y forman una cuenca larga que va de noreste a suroeste a lo largo de la falla Motagua-Polochic (Perdices y otros, 2005, 9; Concheiro-Pérez y otros, 2007, 98; Castoe y otros, 2009, 95; Daza y otros, 2010, 348). La continua actividad tectónica que genera montañas a ambos lados de esta cuenca y su posterior afianzamiento, parece haber generado eventos de divergencia tanto en especies de tierras bajas como de tierras altas (Castoe y otros, 2009, 96).

Daza y otros (2010) al realizar un análisis utilizando múltiples clados de serpientes encontraron que esta zona actuó como una barrera para diferentes linajes al final del Plioceno, hace tres a ocho millones de años. Otros estudios apoyan el papel de los ciclos glaciares e interglaciares del Pleistoceno en producir interrupciones genéticas en el área de la falla Motagua-Polochic (Milá y otros, 2007, 169; Duennes y otros, 2012, 229). De este

modo, los datos actuales indican que la divergencia genética en los taxa animales ha ocurrido en diferentes intervalos temporales (Rodríguez-Gómez y Ornelas, 2013, 8).

La falla Motagua-Polochic también ha tenido efecto en especies de colibríes, tal como se ha mostrado en el colibrí de corona azul *Amazilia cyanocephala*. Esta es una especie endémica de las montañas de Mesoamérica en la cual la falla Motagua-Polochic ha generado aislamiento entre linajes. Esta interrupción genética coincide con diferencias morfológicas y falta de concordancia en el espacio ambiental (Rodríguez-Gómez y Ornelas, 2013, 7).

3.2.2 La familia de los colibríes: Trochilidae

Los colibríes forman un grupo monofilético, es decir que poseen un origen común, de aproximadamente 331 especies que varían en forma, tamaño corporal y conducta (McGuire y otros, 2007, 837, 846). Este grupo de aves es, después del de los mosqueros (familia Tyrannidae), el grupo monofilético de pájaros más diverso del continente americano (Ornelas, 1996, 38). Surgieron al mismo tiempo que los vencejos (Apodidae), con los que se clasifican por compartir características anatómicas, bioquímicas y moleculares (Johansson y otros, 2001, 46; Livezey y Zusi, 2001, 190). Los colibríes se han subdividido en dos grupos, los ermitaños en la subfamilia Phaethorninae y los demás colibríes en la subfamilia Trochilinae (Ornelas, 1996, 38).

Los colibríes son aves pequeñas o muy pequeñas. Entre los colibríes se incluyen las aves más pequeñas del mundo, el colibrí abeja (*Mellisuga helenae*) mide 5.72 centímetros desde la punta del pico a la punta de la cola y pesa solamente dos gramos (Gill, 1995, 665). Los colibríes se caracterizan por tener pies pequeños, el hueso húmero es extremadamente pequeño, los huesos son largos en la porción externa del ala, las plumas primarias son largas y fuertes y las plumas secundarias son cortas (Greenewalt, 1990).

Los colibríes se pueden encontrar en una gran variedad de hábitats, desde las selvas húmedas y secas en los trópicos, donde proliferan con una gran variedad de formas, hasta los bosques de coníferas en las zonas templadas, desde los desiertos cálidos hasta las montañas cubiertas de nieve en donde sobreviven sólo los que pueden entrar en torpor (Williamson, 2002, 18; Ornelas, 1996, 38). Geográficamente se distribuyen desde Alaska hasta la Patagonia, pero su área de mayor diversidad se ubica a lo largo de la línea del ecuador. En cuanto a su distribución altitudinal, los colibríes se encuentran desde el nivel del mar hasta a más de 4,000 msnm (Greenewalt, 1990; Tyrrel y Tyrell, 1985). Varias especies son migratorias, principalmente las que se reproducen en Norte América y muchas otras tienen movimientos locales y estacionales, los cuales están relacionados con la abundancia y distribución de las flores (Howell y Webb, 1995, 391).

Los colibríes son únicos al ser capaces de invertir sus plumas primarias mientras revolotean (en efecto rotan las alas 180°), lo que los posibilita para volar hacia atrás (Howell y Webb, 1995, 391). Los cambios en el esqueleto, como el gran tamaño del esternón y la reducción de los huesos en el brazo, así como la musculatura asociada al esternón son interpretados como adaptaciones para su forma de vuelo (Tyrrel y Tyrell, 1985; Gill, 1995, 665). Otra peculiaridad es que se alimentan esencialmente del néctar de las flores (Howell y Webb, 1995, 391). Aunque llegan a consumir grandes cantidades de artrópodos, los colibríes, junto con los murciélagos, son los nectarívoros vertebrados más importantes de América (Ornelas, 1996, 39). La lengua es un tubo largo que se bifurca hacia la punta y que se puede extender fuera del pico hasta la misma longitud que representa el pico (Temeles y otros, 2009, 1148). La punta de la lengua es la estructura que atrapa el néctar floral por medio de laminillas que se abren y cierran al entrar en contacto con los fluidos (Rico-Guevara y Rubega, 2011, 9356).

Los picos de los colibríes son largos y puntiagudos y varían en tamaño, desde muy cortos a muy largos, pero también en forma; por ejemplo hay especies que tienen picos curvados hacia arriba o hacia abajo. La forma y tamaño de los picos de los colibríes se ha

interpretado como diseñada para explotar el néctar de las flores con formas similares (Gill, 1995, 665; Temeles y otros, 2009, 1147).

La mayoría de especies tienen plumaje con apariencia metálica, comúnmente en varios tonos de verde. Pueden presentar crestas, gargantas y colas largas de varios colores y formas. La mayoría de los colores en sus plumas no son producidos exclusivamente por pigmentos como sucede en casi todas las aves, sino mediante la refracción de la luz que incide en ellas, lo que se conoce como iridiscencia (Williamson, 2002, 13; Howell y Webb, 1995, 391). El plumaje en los jóvenes y adultos por lo general es diferente (Gill, 1995, 665). Habitualmente se ha dicho que los plumajes brillantes y vistosos son exclusivos de los machos, sin embargo sólo el 54% de todas las especies de colibríes presentan plumaje dimórfico (Ornelas, 1996, 40). Se pueden mencionar tres patrones de plumaje en los sexos, el primero consiste en que sólo los machos poseen plumajes iridiscentes u ornamentaciones sin iridiscencia. El segundo patrón consiste en el monomorfismo sexual en donde los machos y hembras comparten un plumaje iridiscente u opaco y por último, un patrón ontogénico único documentado sólo para algunas especies, en donde las hembras pierden la iridiscencia al madurar sexualmente (Greenewalt, 1990; Bleiweiss, 1992; Strokes y Strokes, 1989).

Con los datos que se tienen hasta el momento se ha observado que los colibríes son promiscuos, siendo las hembras las que se encargan de la construcción del nido, del cuidado de los huevos y las crías (Williamson, 2002, 26). Ponen dos huevos blanquecinos en un nido con forma de copa hecho de líquenes, fibras de plantas, seda de araña, pelo y otros materiales finos. Las crías son altriciales y sin plumas por lo tanto requieren mucho cuidado de la madre (Howell y Webb, 1995, 391).

En Guatemala se han reportado 38 especies de colibríes, 15 de estas especies son endémicas de la región del norte de Centroamérica. De las especies en Guatemala solamente una es migratoria (*Archilochus colubris*), en el este de Estados Unidos y el sur

de Canadá se realiza la reproducción de esta especie y durante el invierno en Norte América migra hacia México y Centro América (Eisermann y Avendaño, 2006, 609; Howell y Webb, 1995, 424).

3.2.3 Los parientes más cercanos del colibrí serrano de garganta verde: Género *Lampornis*

El género de colibríes *Lampornis* es endémico de Mesoamérica y se compone de siete especies reconocidas (AOU, 1998). A través de su distribución existen pares de especies que viven en simpatria, es decir que sus áreas geográficas se traslapan. Ocurren reemplazos geográficos de las especies latitudinalmente y hay una tendencia hacia áreas de distribución más grandes mientras más al norte se distribuya la especie. Todas las especies se sabe o se presume que son sedentarias, con excepción del colibrí de garganta azul (*L. clemenciae*) en sus poblaciones más norteñas, sin embargo todas las especies muestran ciertos movimientos altitudinales (García-Moreno y otros, 2006, 489).

El ancestro que dio origen al género dejó Sur América mucho antes que se completara el puente centroamericano, ocurriendo la divergencia hace 25 a 26 millones de años (Ornelas y otros, 2013a, 8). Este taxón probablemente se originó en el norte de Mesoamérica ya que algunos de los linajes más antiguos (Figura 2, *L. clemenciae* y *L. amethystinus*) tienen amplias distribuciones en esta área. Las especies más derivadas tienen distribuciones más al sur, como por ejemplo el colibrí de garganta púrpura (*L. calolaema*) en Costa Rica y Panamá (García-Moreno y otros, 2006, 496). Los análisis realizados por García-Moreno y otros (2006) sugieren que el colibrí de vientre blanco (*L. hemileucus*) no pertenece al género *Lampornis*.

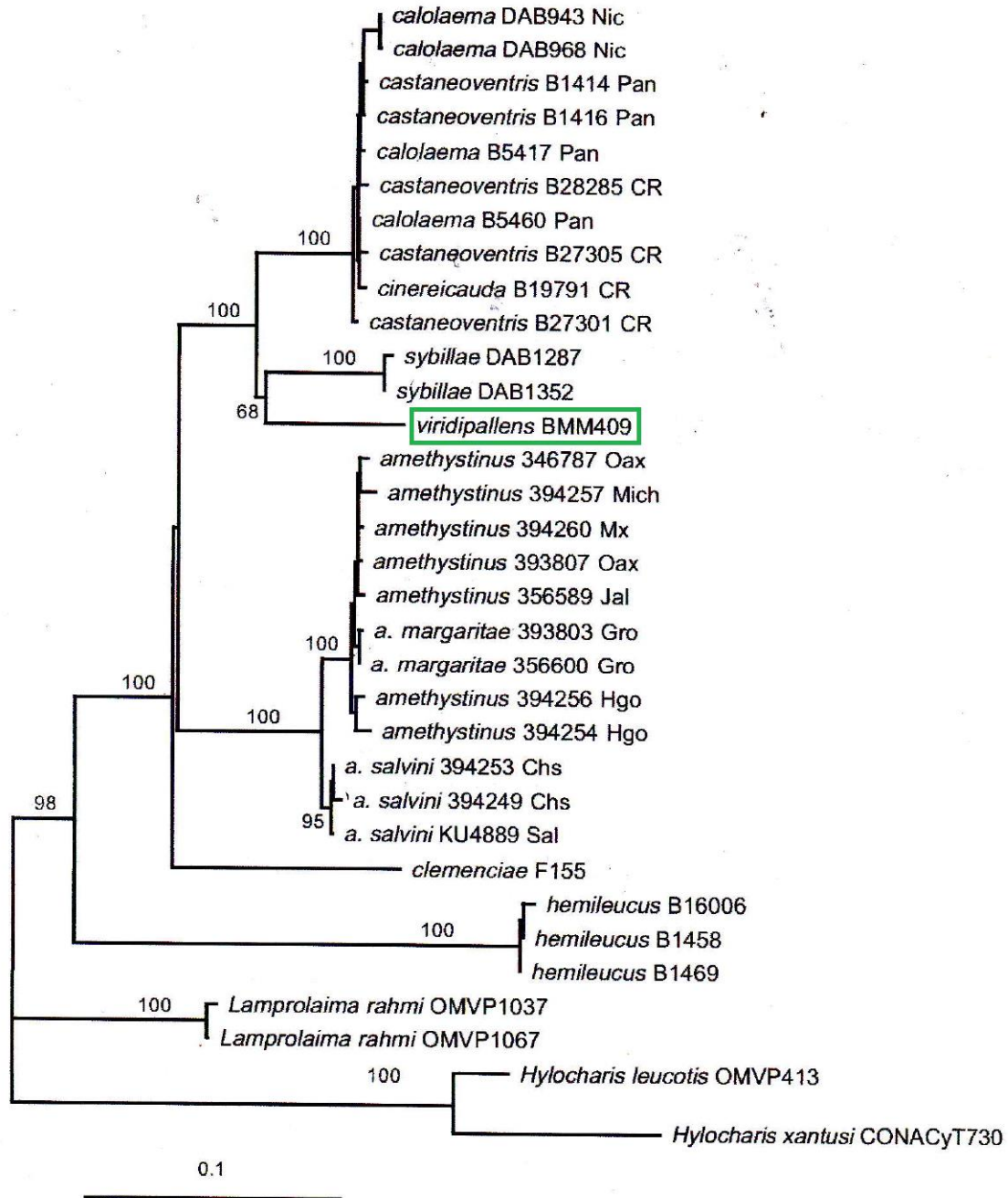


Figura 2: Árbol que muestra las relaciones de parentesco del género *Lampornis*. *L. hemileucus* y *L. clemenciae* constituyen los taxones basales, *L. amethystinus* forma un clado hermano con *L. calolaema*, *L. castaneoventris*, *L. cinereicauda*, *L. viridipallens* (la cual se encuentra marcada en color verde) y *L. sybillae*. *Lamprolaima rahmi* y las especies del género *Hylocharis* se utilizaron como grupo externo (García-Moreno y otros, 2006, 492).

3.2.4 Colibrí serrano de garganta verde

Los individuos de esta especie son relativamente grandes y miden entre 11 y 12 cm. La especie se caracteriza por tener una línea post-ocular de color blanco que contrasta con la corona verde y los auriculares oscuros. El manto es verde y las plumas cobertoras de la cola son negro-azul (Figura 3a). La región ventral es blanca con motas verdes a los lados y en los machos la garganta es verde iridiscente (Figura 3b) (Howell y Webb, 1995, 416).

Se han descrito cuatro subespecies basándose en caracteres morfológicos: *L.v. amadoni*, en Oaxaca; *L. v. ovandensis*, en las tierras altas del sur de México y el noroeste de Guatemala; *L. v. viridipallens*, en las tierras altas de Guatemala, el norte de El Salvador y el oeste de Honduras; y *L.v. nubivagus*, en El Salvador (Lepage, 2014).

La subespecie *L. v. ovandensis* se ha caracterizado por la reducción de las partes verdes a los lados del pecho y los flancos en comparación con *L. v. viridipallens*, además no posee coloración beige en el abdomen. Esta subespecie tiene una amplia franja blanca conectando el pecho blanco con el abdomen posterior. *L. v. viridipallens* difiere de las subespecies *L. v.ovandensis* y *L. v.nubivagus* en que el plumaje verde se extiende más a los lados del pecho disminuyendo el área media blanca del abdomen, también difiere de *L. v.ovandensis* en la presencia de coloración beige en el abdomen inferior. La subespecie *L. v.nubivagus* es similar a *L.v. ovandensis* pero con coloración beige en el abdomen inferior (Monroe, 1963, 6-7).

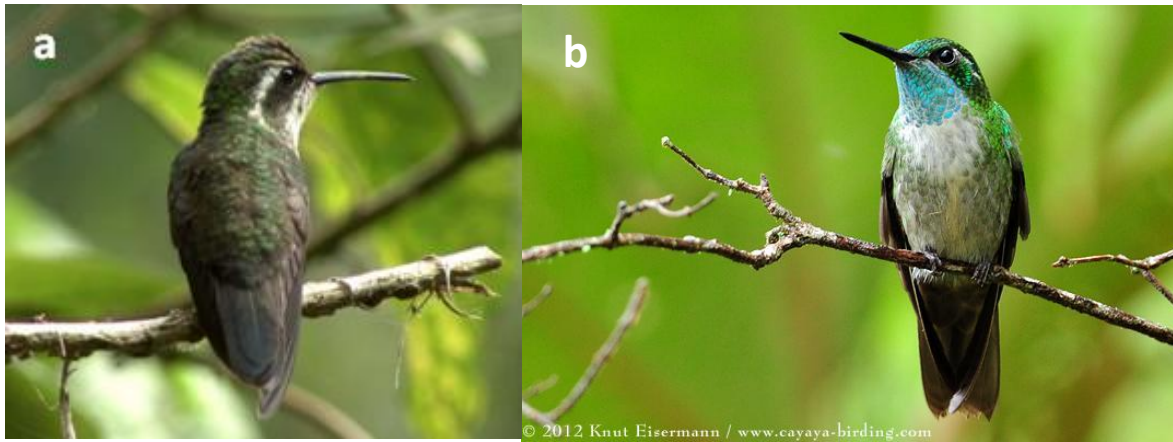


Figura 3. Fotografías de colibríes serranos de garganta verde. (a) Individuo en vista dorsal. Fotografía Josep del Hoyo, 2009. (b) Macho adulto en vista ventral. Fotografía Knut Eisermann, 2012.

4. JUSTIFICACIÓN

Las inferencias filogeográficas proporcionan conocimiento de los patrones y causas de la diversificación histórica de los linajes. Es importante conocer los patrones de especiación en los bosques nubosos en el Norte de Mesoamérica ya que las condiciones climáticas y topográficas donde se encuentran favorecen el desarrollo de vegetación característica. En este ensamble de especies se incluyen helechos arborescentes, una gran diversidad de epífitas y lianas así como un dosel mixto de árboles caducifolios de clima templado y árboles tropicales perennes de hoja ancha (Williams-Linera, 1997, 120). Sin embargo el bosque nuboso es uno de los hábitats más amenazados y actualmente ocupa menos del 1% del área total de Mesoamérica (Ornelas y otros, 2013b, 1). La mezcla de áreas con uso antropogénico y áreas de este bosque presentan desafíos para los esfuerzos de conservación.

Este trabajo contribuirá a cumplir con los objetivos del proyecto: “Inventario biótico y evolución de la fauna de vertebrados terrestres de América Central nuclear” de la Universidad de San Carlos de Guatemala y la Universidad de California, Berkeley. Además contribuirá con el conocimiento de la biodiversidad de Guatemala proporcionando información de la distribución del colibrí serrano de garganta verde, cuáles de sus poblaciones tienen alta diversidad genética y por lo tanto, qué áreas son clave para conservar sus diferentes linajes en los bosques nubosos.

Los datos que se generen contribuirán al manejo de especies en los bosques nubosos y especialmente los colibríes, que se encuentran en la categoría 3 de la Lista Roja de Fauna de Guatemala y el Apéndice II de la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES, por sus siglas en inglés, CONAP, 2009, 85). Los colibríes desempeñan un papel ecológico importante ya que son polinizadores, ayudando a la reproducción de diversas especies de plantas, muchas de las cuales dependen de ellos en gran medida para su supervivencia. De esta forma los colibríes contribuyen al mantenimiento y regeneración de los bosques (Fenster, y Dudash, 2001, 845).

5. OBJETIVOS

5.1 General

Contribuir a la conservación de especies en bosques montanos de Guatemala, a través del análisis de la distribución y de la estructura genética de poblaciones del colibrí serrano de garganta verde.

5.2 Específicos

- 5.2.1 Determinar el grado de divergencia genética en poblaciones del colibrí serrano de garganta verde e inferir sobre la conectividad entre las mismas.
- 5.2.2 Identificar barreras en el hábitat en que se distribuye el colibrí serrano de garganta verde.

6. HIPÓTESIS

Debido al balance que existe entre la divergencia poblacional por aislamiento geográfico y la homogenización ocasionada por el flujo génico, los colibríes serranos de garganta verde de diferentes localidades que presenten una mayor conectividad espacial mostrarán menor divergencia genética.

Se formarán dos grupos de poblaciones de colibríes serranos de garganta verde debido a que los valles Motagua y Polochic representan barreras que limitan la dispersión de los individuos entre las montañas al norte y del sur de dichos valles.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Universo

Colibríes serranos de garganta verde.

7.2 Población

Poblaciones del colibrí serrano de garganta verde que habitan en La Unión, Zacapa; Bosque el Gigante, Chiquimula; San Pedro Carchá, Alta Verapaz; Zacualpa, Quiché; Uspantán, Quiché; San Mateo Ixtatán, Huehuetenango; Volcán Lacandón, Quetzaltenango; Fuentes Georginas, Quetzaltenango; Volcán Atitlán, Suchitepéquez; Finca El Pilar, Sacatepéquez y Motozintla, Chiapas.

7.3 Muestra

Individuos colectados del colibrí serrano de garganta verde en las diferentes localidades.

7.4 Materiales y equipo

- redes de niebla
- machete
- varas de madera
- pita
- bolsas de manta
- GPS Garmin Map
- boletas de toma de datos
- marco para preparación de geles con peines
- transiluminador
- computadora, impresora
- horno a 55 °C
- horno microondas
- cuarto frío
- termocicladora

- material de disección: pinzas, tijeras, hojas de afeitar, etiquetas, sal, bolsas plásticas
- tubos con rosca
- buffer ARN posterior
- papel parafilm
- peróxido de hidrógeno
- guantes de látex
- guantes de nitrilo
- agua desionizada
- gradillas para tubos Eppendorf de 1.5 ml de capacidad
- frasco Erlenmeyer de 500 ml
- plato para filtrar de 96 celdas
- plato colector de 96 celdas
- platos de 96 celdas con capacidad de 0.5 ml
- contenedor para plato de 96 celdas y cubierta de goma para sellarlo
- pipetas de 1 μ l, 10 μ l, 20 μ l, 200 μ l y 1000 μ l
- pipeta DISTRIMAN
- pipeta multicanal de 200 μ l
- puntas para pipetas
- balanza electrónica
- agitador Vortex
- centrifugadora de tubos
- centrifugadora de platos
- aparato para electroforesis
- máquina secuenciadora 3730 Applied Biosystems
- material de extracción de ADN
Equipo de extracción Qiagen: tubos Eppendorf de 1.5 ml, tubos con filtro, tubos sin filtro, tubos con rosca, Buffer ATL, solución de proteinasa K, Buffer AL, etanol al 100%, Buffer AW1 con etanol, Buffer AW2 y Buffer AE
- material para electroforesis
agarosa, Buffer 1XTBE estándar, colorante, escala de pesos moleculares y Bromuro de Etilo
- material para amplificación de ADN
bandeja con hielo, tubos en hilera, Buffer Invitrogen 10x, MgCl₂ de 50 mM, BSA de 10 mg/ml, dNTPs de 10 mM, TaqBioLabs de 5 U/ μ l y cebadores H6312 y L5204.
- material para la purificación del ADN amplificado
Exo/Sap
- material para la secuenciación cíclica
Buffer Big Dye 5x, cebadores H6312 y L5204 y Big Dye v 3.1.
- materiales para la purificación del producto
Sephadex, tubo de 50 ml.

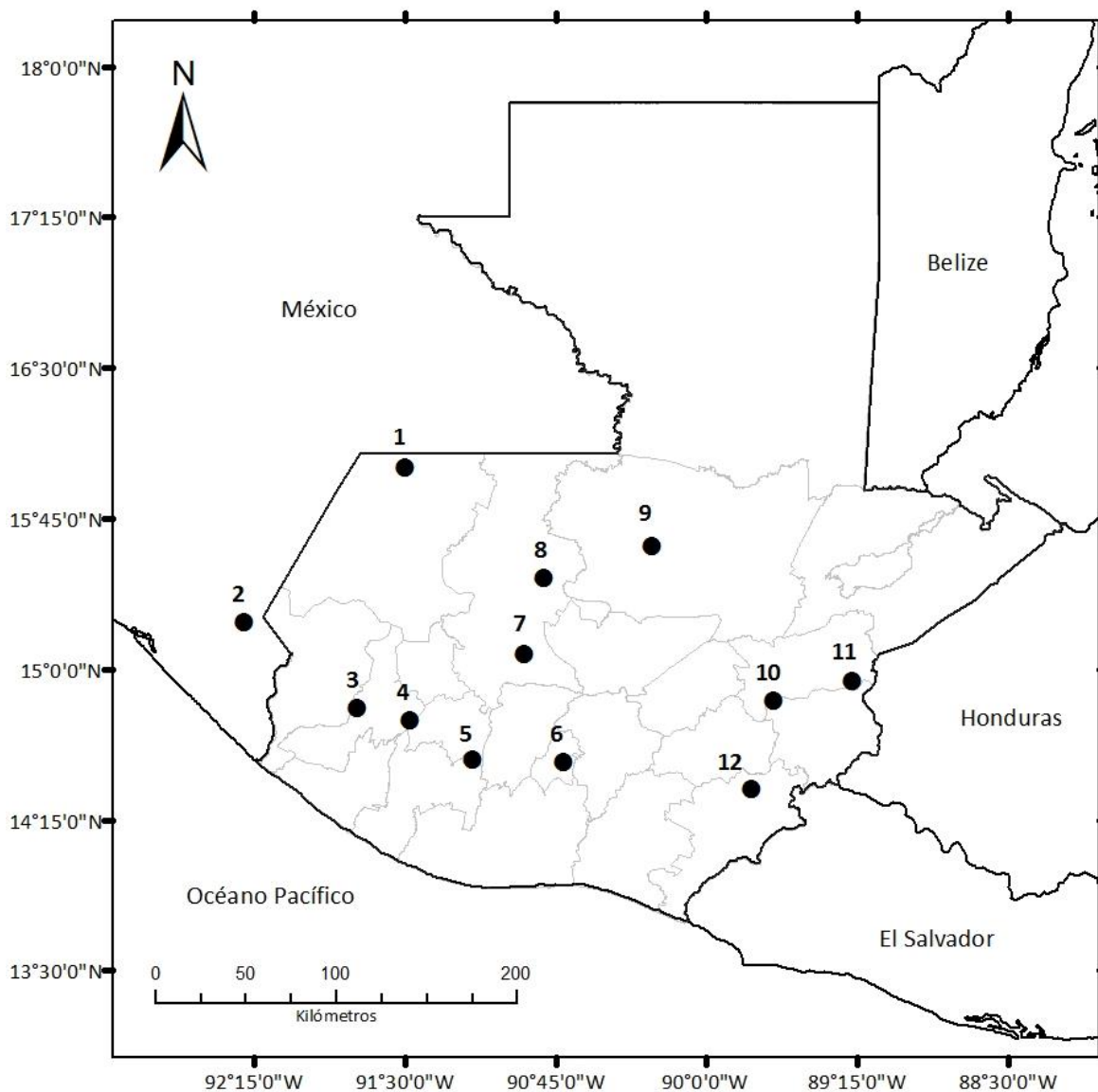
7.5 Métodos

Área de estudio

Con el fin de entender la historia geológica y su efecto en los bosques montanos de la región, los sitios de recolecta de especímenes fueron ubicados en las principales zonas montañosas de Guatemala y Chipas. Las regiones incluidas fueron: Sierra de los Cuchumatanes (Huehuetenango), Sierra de Chamá (Uspantán, Zacualpa, Alta Verapaz), Cordillera Volcánica (Chiapas, Volcán Lacandón, Fuentes Georginas, Volcán Atitlán, Sacatepéquez, Chiquimula, Volcán Suchitán) y las montañas de La Unión, Zacapa (Figura 4).

Obtención de especímenes

Para la colecta de los especímenes se colocaron redes de niebla de 12x2.2 m y de 6x2.2 m. Cuando se capturó un individuo se anotaron las coordenadas geográficas y la hora. Posteriormente se tomaron los siguientes tejidos: músculo, corazón, pulmón, hígado, cerebro y órganos reproductivos. Los tejidos se conservaron en buffer ARN posterior. Se llenó una boleta con todos los datos concernientes al ave y sus tejidos (Anexo 1). Así mismo se preparó la piel de estudio. Los tejidos y las pieles se depositaron en el Museo de Historia Natural de la Universidad de San Carlos de Guatemala y en el Museo de Zoología de Vertebrados de la Universidad de California, Berkeley.



Simbología		Sistema de coordenadas: WGS 1984	
1. San Mateo Ixtatán, Huehuetenango	7. Zacualpa, Quiché		
2. Motozintla, Chiapas	8. Uspantán, Quiché		
3. Volcán Lacandón, Quetzaltenango	9. San Pedro Carchá, Alta Verapaz		
4. Fuentes Georginas, Quetzaltenango	10. Bosque El Gigante, Chiquimula		
5. Volcán Atitlán, Suchitepéquez	11. La Unión, Zacapa		
6. Finca El Pilar, Sacatepéquez	12. Volcán Suchitán, Jutiapa		

Figura 4. Localidades de colecta del colibrí serrano de garganta verde.

Obtención de datos moleculares

El ADN fue extraído de tejido de hígado usando el kit Qiagen (Qiagen, Valencia, CA, USA) para extracción de ADN a partir de tejidos siguiendo el protocolo establecido por el fabricante. Se amplificó un gen mitocondrial que consiste en la NADH deshidrogenasa subunidad 2 (ND2, 1041 pares de bases), usando los cebadores H6312 (CTTATTTAAGGCTTTGAAGGCC) y L5204 (TAACTAAGCTATCGGGCGCAT) (Hackett, 1996).

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) se llevó a cabo en 10 μ l, conteniendo 1 μ L de ADN, 0.12 μ L de Taq BioLabs (Hitchin, Hertfordshire, RU) y 0.6 μ L de cada cebador. El primer paso comenzó con 94 °C por 3 minutos, seguido por un total de 35 ciclos de 94°C por 30 segundos, alineación a 54 °C por 30 segundos y 72 °C por 45 segundos. Por último se hizo un paso de extensión final a 72 °C por 10 minutos. Los productos amplificados fueron purificados con ExoSAP-IT (Affymetrix, Santa Clara, CA, USA) y secuenciados usando Big Dye v. 3.1 (Life Technologies, Gaithersburg, MD, USA). Las reacciones de secuenciación fueron limpiadas por filtración en gel utilizando columnas de Sephadex (fino G-50, Sigma Aldrich, St Louis, MO, USA) y resueltas en una secuenciadora automatizada (3730 Applied Biosystems, Carlsbad, CA, USA).

Análisis estadísticos de datos moleculares

Las secuencias fueron alineadas a mano utilizando Geneious v.5.1.7 (Drummond y otros, 2010). Los niveles de variación intra-poblacional fueron estimados para cada localidad por el cálculo del número de sitios polimórficos (S), la diversidad haplotípica (h) y la diversidad de nucleótidos (π) en el programa Arlequin v.3.5.1.3 (Excoffier y Lischer, 2010). Se realizó una red de haplotipos utilizando el algoritmo de “median-joining” en Network v.4.6.1.2 (Bandelt y otros, 1999).

El modelo de sustitución nucleotídica que mejor se ajustó a las secuencias fue estimado usando un criterio de información Bayesiano que se ha implementado en el programa

jModelTest v.2.1.4 (Guindon y Gascuel, 2003, Darriba y otros, 2012). Los modelos que mejor se ajustaron a los datos fueron: el K80 para el codón 1, el HKY+I para el codón 2 y el HKY para el codón 3.

Un análisis filogenético Bayesiano fue realizado en MrBayesv.3.2.2 (Ronquist y Huelsenbeck, 2003). Para este se utilizaron los parámetros de los modelos de sustitución nucleotídica previamente estimados. Se calculó el árbol en MrBayes y se incluyó la estimación Bayesiana de las probabilidades posteriores para indicar el apoyo para los grupos. Se utilizaron secuencias de *Lampornis calolaemus*, *L. castaneoventrís*, *L. amethystinus*, *L. hemileucus*, *Lamprolaima rhami* y *Eugenes fulgens* como grupos externos para enraizar el árbol, ya que estas son especies de colibríes que se encuentran cercanamente emparentadas (Ornelas y otros, 2013a, 5).

La identificación de grupos de poblaciones se realizó por medio de un análisis espacial de varianza molecular implementado en el programa SAMOVA (Dupanloup y otros, 2002). Para este análisis no se tomaron en cuenta las poblaciones de Zacualpa, El Pilar y Volcán Suchitán debido a que solamente se contaba con un individuo de cada una. Al incluir estas localidades podría suceder que el haplotipo de este individuo se encuentre en varios grupos. También el haplotipo de ese individuo por azar podría ser poco común en la población, por lo tanto al asignarlo a un grupo genético no se estarían representando correctamente las relaciones entre las poblaciones. El SAMOVA se realizó con valores de $K= 2$ a 5. Análisis de varianza molecular (AMOVA, por sus siglas en inglés) se realizaron para identificar el número más probable de agrupaciones creadas por el SAMOVA así como para determinar la variación entre los grupos y dentro de las poblaciones. También se calcularon distancias genéticas por parejas de poblaciones (FSTs). Los análisis descritos anteriormente se realizaron en Arlequin v.3.5.1.3 (Excoffier y Lischer, 2010). El patrón de aislamiento por distancia fue probado entre las distancias geográficas y las distancias genéticas (FSTs) utilizando una prueba de Mantel realizada en XLSTAT (Fahmy y Aubry, 2002).

Datos Geográficos - Modelos de Distribución Potencial

Varios autores han realizado modelos con los cuáles se estima la distribución del hábitat disponible para las poblaciones, utilizando una o varias variables que limiten su distribución. Algunas de estas variables utilizadas han sido la elevación a la cual la especie ya no se distribuye, variables climáticas, presencia de nieve en primavera, cobertura forestal y uso del suelo (Naujokaitis y otros, 2012, 12; Gallardo y otros, 2011, 395; Schwartz y otros, 2009, 3224; Blar y Melnick, 2012, 3-4).

Con el fin de estimar el hábitat disponible potencial para el colibrí serrano de garganta verde se realizó un modelo de distribución potencial, basado en el nicho ecológico fundamental con el programa MAXENT v. 3.3.3 (Phillips y otros, 2006).

La creación del modelo de distribución potencial se basa en la idea que las propiedades ecológicas de las especies –denominadas sus nichos ecológicos– y sus áreas de distribución están relacionadas (Soberón, 2007, 1115). El nicho ecológico fundamental que fue utilizado para generar el modelo está definido por condiciones ambientales a escalas amplias relevantes para entender las propiedades ecológicas y geográficas de las especies (Hutchinson, 1957).

Para observar una aproximación a los cambios ocurridos en el hábitat del colibrí serrano de garganta verde se generó un modelo de distribución potencial del presente y dos proyecciones al último glacial máximo (hace 21,000 años). Una de las proyecciones fue la CCSM que muestra un escenario donde la disminución de la temperatura habría sido más fuerte que en la proyección MIROC (Otto-Bliesner y otros, 2007, 4).

Los datos de ocurrencia para la especie en estudio se obtuvieron de las coordenadas geográficas obtenidas en los muestreos y del sitio Global Biodiversity Information Facility (GBIF). Se tomaron en cuenta los registros hechos después de 1,949 que contaban con espécimen de museo o publicación. Algunos registros fueron georreferenciados.

Las capas climáticas se descargaron de la base de datos de WorldClim (Hijmans y otros, 2005) en una resolución de 30 segundos para el presente y 2.5 minutos para el último glacial máximo. Estas capas climáticas se recortaron a la región del mundo donde se encuentra la especie. Los valores climáticos para cada punto de ocurrencia fueron extraídos de cada una de las 19 variables climáticas que proporciona WordClim. Con dichos datos se realizó un análisis de correlación por medio del cual se eligieron las variables no correlacionadas. El 75% de los datos de ocurrencia fueron utilizados para generar el modelo y 25% para probarlo, tomando en cuenta solamente un registro por celda.

Identificación de barreras

La identificación de barreras se realizó contrastando el modelo de distribución potencial para el presente y un mapa de topografía y cobertura.

8. RESULTADOS

8.1 Diversidad genética

Se obtuvieron secuencias de ADN mitocondrial para un total de 81 individuos. Se encontraron 42 sitios polimórficos en las 1041 pares de bases analizadas. Los sitios variables se identificaron en base a las sustituciones nucleotídicas y no hubo inserciones o deleciones. Veintiocho haplotipos fueron identificados y en la mayoría de localidades se encontró más de un haplotipo. Las diversidades haplotípica y nucleotídica se han resumido en el Cuadro 1. La diversidad haplotípica (h) fue alta en todas las poblaciones (mayor a 0.5). La diversidad nucleotídica (π) fue más alta en las poblaciones de Uspantán (0.26), Alta Verapaz (0.16) y el Volcán Atitlán (0.13). La menor diversidad nucleotídica se encontró en la población de Huehuetenango (0.02).

Cuadro 1. Variación dentro de las poblaciones del colibrí serrano de garganta verde. Tamaño de la muestra (N), diversidad de haplotipos (h), diversidad nucleotídica (π) y número de sitios polimórficos (S).

Población	N	No. de haplotipos	$h \pm \sigma$	$\pi \pm \sigma$	S	Haplotipos
Huehuetenango	8	3	0.4643 ± 0.2	0.0178 ± 0.0166	3	H2 H22 H23
Chiapas	12	8	0.8485 ± 0.1039	0.0934 ± 0.0566	14	H1 H2 H3 H4 H5 H6 H7 H8
Volcán Lacandón	13	8	0.8590 ± 0.0886	0.0946 ± 0.0568	13	H2 H4 H5 H9 H10 H11 H12 H13
Fuentes Georginas	7	4	0.8095 ± 0.1298	0.0362 ± 0.0281	4	H 4 H12 H13 H28
Volcán Atitlán	7	6	0.9524 ± 0.0955	0.1269 ± 0.0798	12	H2 H4 H12 H14 H15
Sacatepéquez	1	1	-	-	0	H10
Zacualpa	1	1	-	-	0	H12
Uspantán	2	2	1.0 ± 0.5	0.2619 ± 0.2735	11	H16 H17
Alta Verapaz	15	8	0.8762 ± 0.0595	0.1637 ± 0.0915	22	H2 H4 H10 H12 H16 H18 H19 H20
Chiquimula	2	2	1.0 ± 0.5	0.0238 ± 0.0336	1	H4 H21
Zacapa	12	4	0.7727 ± 0.0686	0.0360 ± 0.0262	4	H24 H25 H26 H27
Volcán Suchitán	1	1	-	-	0	H12

8.2 Estructura filogeográfica

Tres grupos principales de haplotipos de ND2 se pueden distinguir en la red (Figura 5b). Uno de los grupos (haplotipos de color azul) se encuentra conformado por el mayor número de haplotipos y tiene forma de estrella. El haplotipo más frecuente (H2), presente en el 21% de los individuos y en el 42% de las poblaciones, forma el núcleo de este primer grupo. Se distribuye en Alta Verapaz, Huehuetenango y tres poblaciones en la Cordillera Volcánica (Chiapas, Volcán Lacandón y Volcán Atitlán). El segundo haplotipo más frecuente, H4 (14% de los individuos y 50% de las poblaciones), se localiza en la Cordillera Volcánica y Alta Verapaz. Este haplotipo es uno de los centrales en el grupo de haplotipos de color verde. Un tercer grupo está formado por siete haplotipos, los cuáles se distribuyen en Zacapa y Alta Verapaz (haplotipos de color amarillo y rojo). Los haplotipos de Zacapa fueron exclusivos en esta población (Figura 1a).

Las relaciones entre los individuos se mostraron poco resueltas en el árbol filogenético, sin embargo este confirma que el colibrí serrano de garganta verde forma un grupo monofilético con alto soporte (probabilidad posterior=1.0) (Figura 6). En el árbol filogenético se observan dos grupos. En el grupo A se encuentran individuos de la Cordillera Volcánica, de la Sierra de Chamá y en su mayoría de Chiapas y Huehuetenango (Figura 7). El grupo B está compuesto principalmente por individuos de la Cadena Volcánica y en menor proporción por individuos en Chiapas y la Sierra de Chamá (Figura 8). En la parte inferior del árbol filogenético se encuentran individuos de la Sierra de Chamá y de Zacapa (Figura 9).

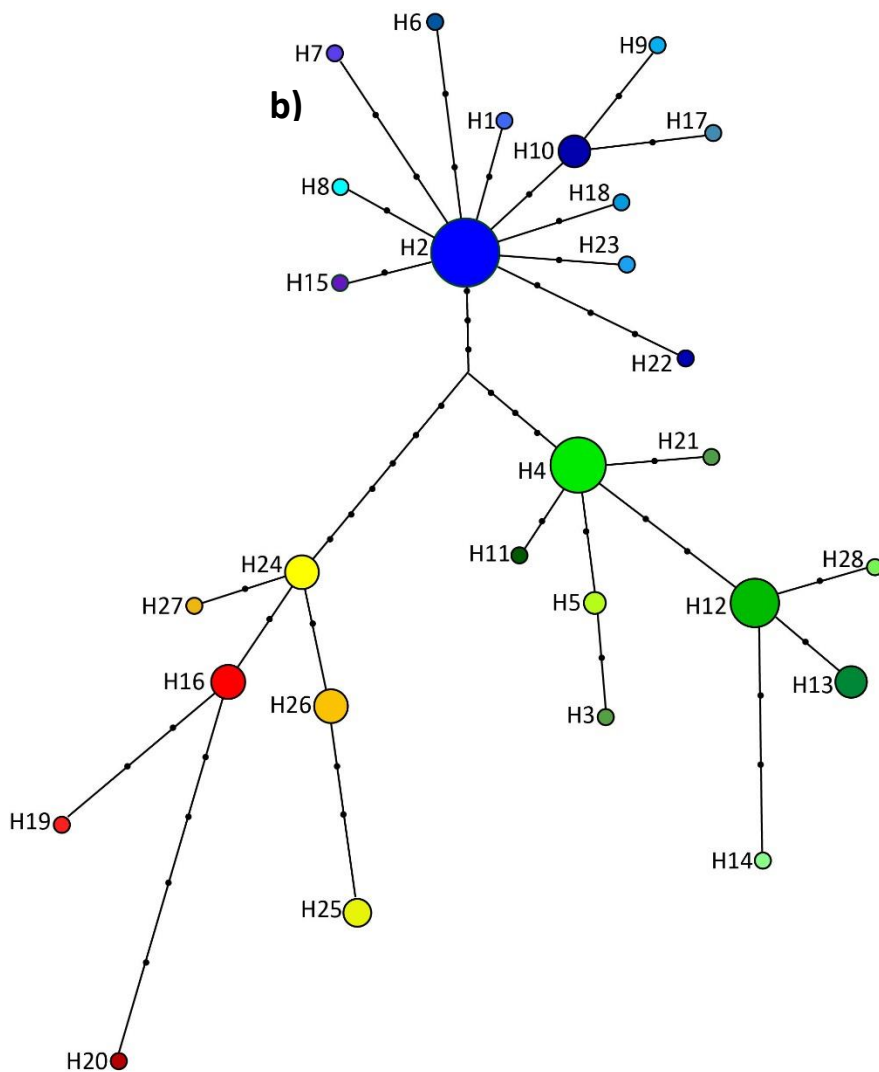
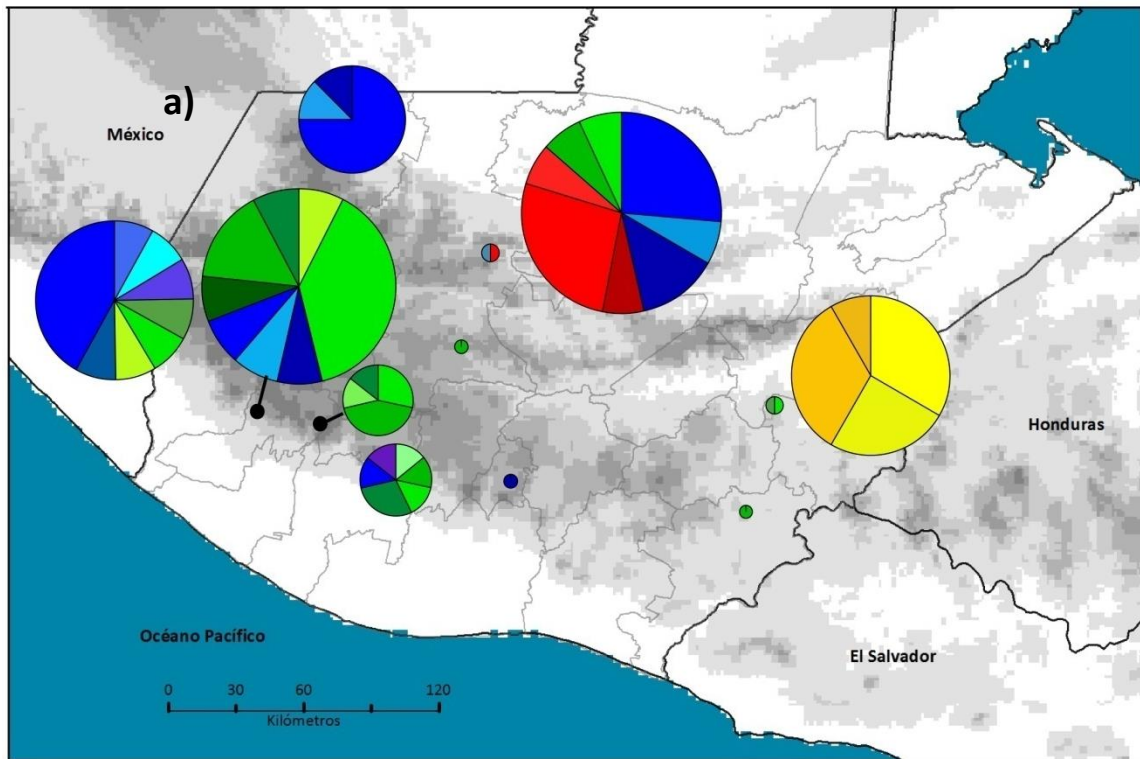


Figura 5. Red de haplotipos del colibrí serrano de garganta verde. El color verde muestra principalmente las poblaciones en la Cordillera Volcánica, el azul las poblaciones al oeste de Guatemala; el rojo las poblaciones en la Sierra de Chamá y el amarillo la población en La Unión, Zacapa. a) El tamaño de los círculos representa el número de individuos muestreados en la población. El tamaño de las secciones en los gráficos de pastel es proporcional al número de individuos con ese haplotipo y los colores corresponden a los que se muestran en la red de haplotipos en la parte de abajo. b) Cada círculo representa un haplotipo y su tamaño es proporcional a su frecuencia. Los puntos negros indican pasos mutacionales que separan los haplotipos. El número de cada haplotipo corresponde con el mencionado en el Cuadro 1.

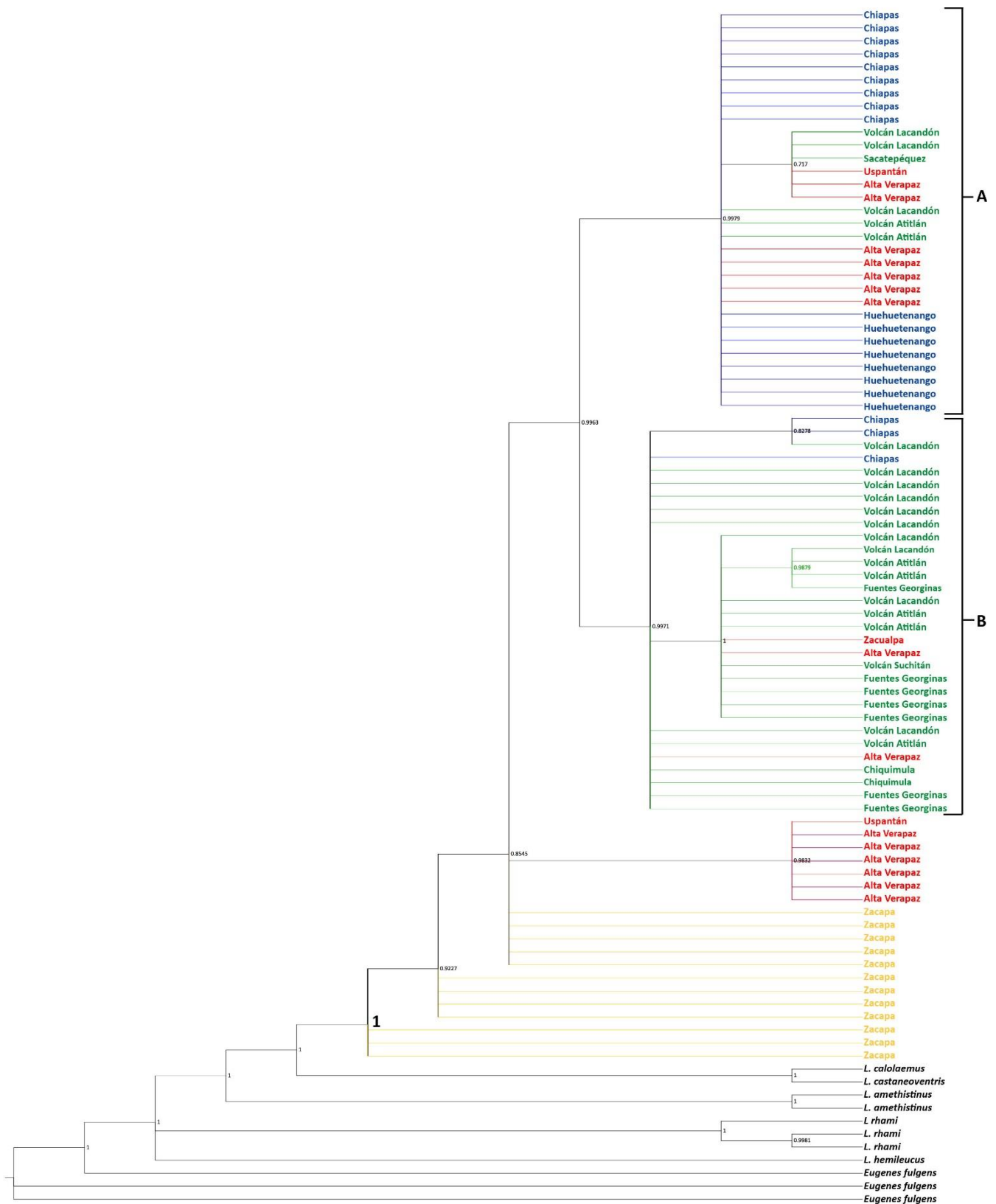


Figura 6. Árbol filogenético consenso que muestra las relaciones entre los colibríes serranos de garganta verde basadas en secuencias de ADN mitocondrial e inferencia bayesiana. Los valores denotan las probabilidades posteriores de los nodos.

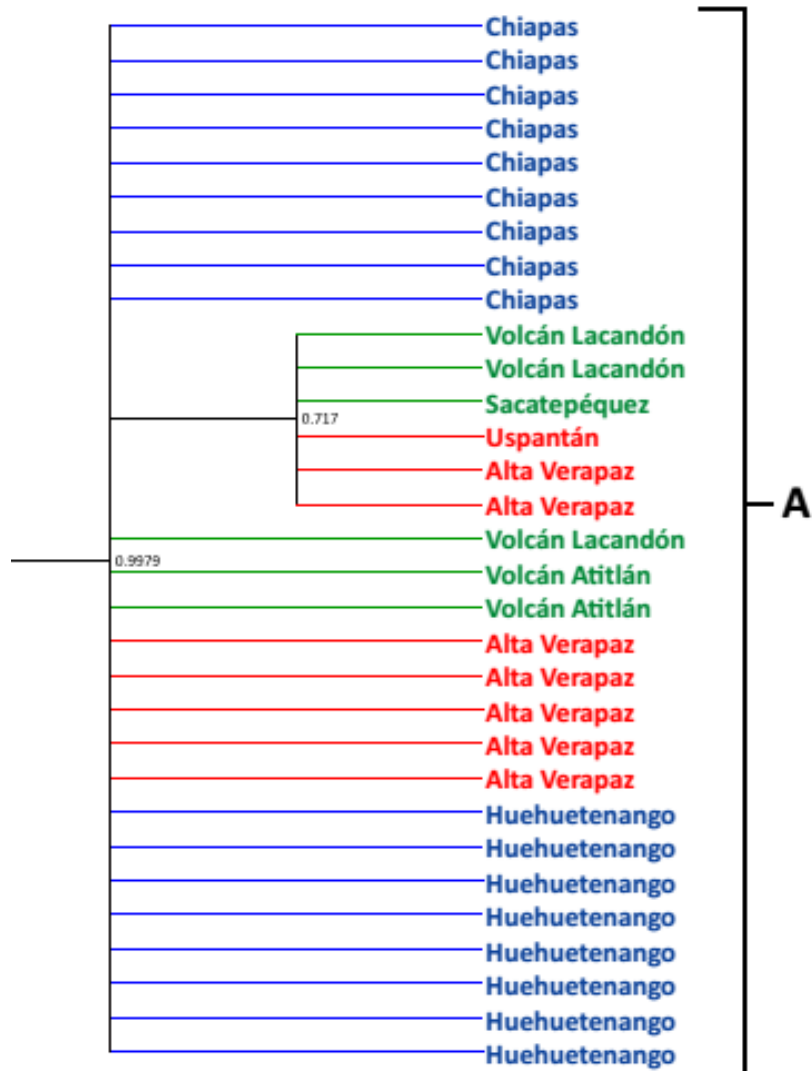


Figura 7. Estimaciones filogenéticas para el grupo A de colibríes serranos de garganta verde basadas en secuencias de ADN mitocondrial e inferencia bayesiana. Los valores denotan las probabilidades posteriores de los nodos.

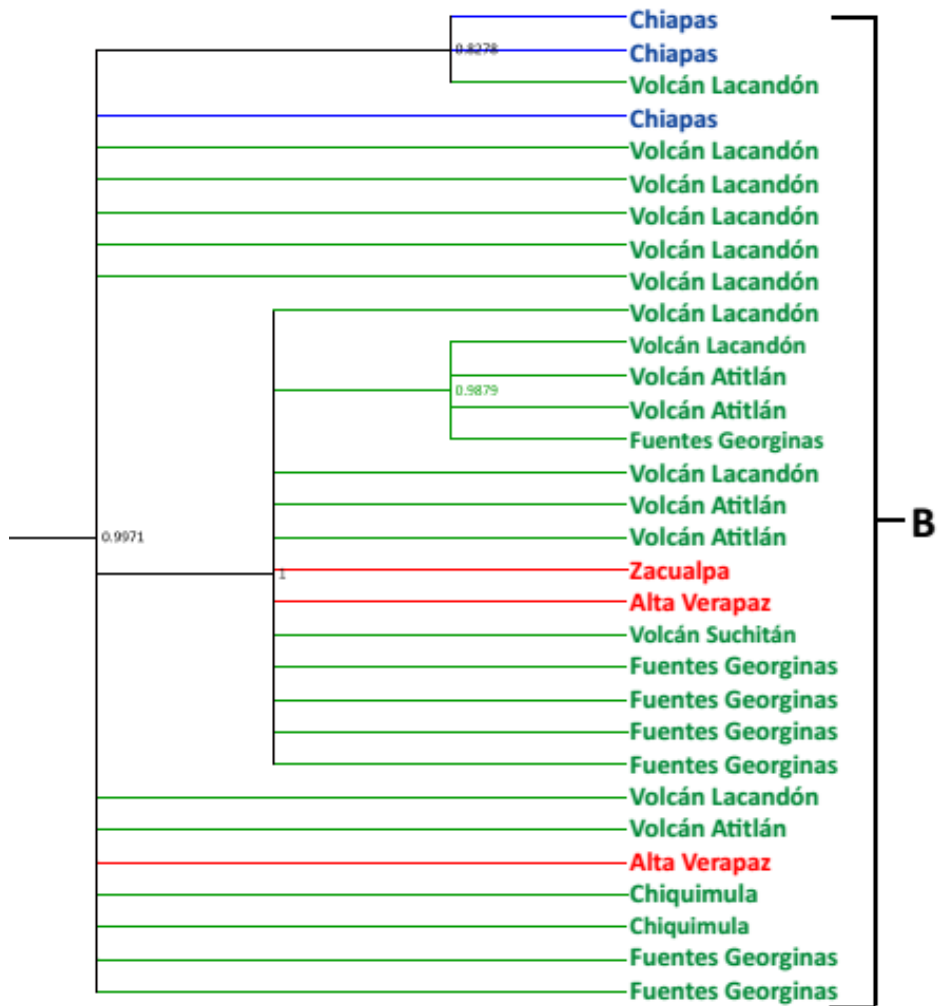


Figura 8. Estimaciones filogenéticas para el grupo B de colibríes serranos de garganta verde basadas en secuencias de ADN mitocondrial e inferencia bayesiana. Los valores denotan las probabilidades posteriores de los nodos.

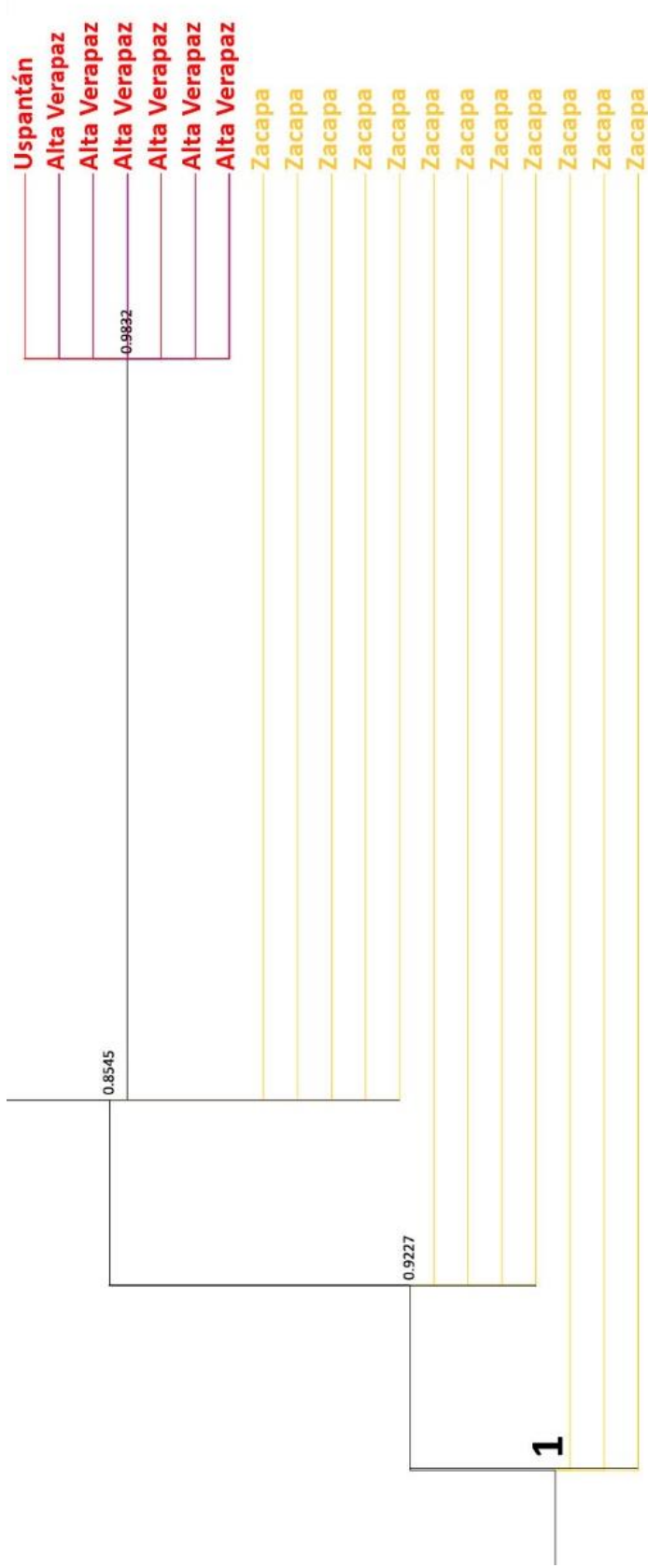


Figura 9. Estimaciones filogenéticas para colibríes serranos de garganta verde (parte inferior del árbol filogenético) basadas en secuencias de ADN mitocondrial e inferencia bayesiana. Los valores denotan las probabilidades posteriores de los nodos.

En base al SAMOVA se definieron cuatro grupos de poblaciones, siendo la variación entre estos grupos del 50% ($F_{CT}= 0.50$, $p<0.001$, Cuadro 2). Se establecieron cuatro grupos de poblaciones ya que fue en esta agrupación (de las cuatro evaluadas, $K= 2$ a 5) que se obtuvo el valor más alto de variación entre los grupos. Las poblaciones en la Sierra de Chamá (Alta Verapaz y Uspantán) forman el primer grupo. El segundo grupo está conformado por las poblaciones de Huehuetenango y Chiapas, ubicadas en el oeste de Guatemala. El tercer grupo incluye a las poblaciones del Volcán Lacandón, Fuentes Georginas, Volcán Atitlán y Chiquimula, todas ubicadas en la Cordillera Volcánica, mientras que la población de Zacapa está aislada constituyendo el cuarto grupo. Además de la diferenciación entre los grupos se encontró variación genética significativa dentro de las poblaciones (49%, Cuadro 2).

Cuadro 2. Análisis de varianza molecular (AMOVA) en las poblaciones del colibrí serrano de garganta verde con grupos definidos por el SAMOVA¹

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Componentes de la varianza	Porcentaje de variación	Índices de fijación
Entre grupos	3	117.009	1.953	50.34	$F_{CT} = 0.503^{**}$
Entre poblaciones dentro de grupos	5	10.360	0.026	0.68	$F_{SC} = 0.014^*$
Dentro de poblaciones	69	131.093	1.900	48.98	$F_{ST} = 0.51^{**}$
Total	77	258.462	3.879		

¹Agrupación de las poblaciones: (1) Alta Verapaz, Uspantán, (2) Huehuetenango, Chiapas, (3) Volcán Lacandón, Fuentes Georginas, Volcán Atitlán, Chiquimula, (4) Zacapa.

* Valores de significancia de $p > 0.05$, ** valores de significancia de $p < 0.001$.

Más del 50% de las comparaciones de FSTs pareadas fueron significativas a un nivel de $p < 0.05$ (Cuadro 3). Los valores de FSTs significativos entre las poblaciones estuvieron en un rango entre 0.15 para el Chiapas/Alta Verapaz y 0.87 para Huehuetenango/Zacapa (Cuadro 3). La población en Zacapa fue diferente significativamente de la mayoría de poblaciones a excepción de Alta Verapaz y Uspantán. Las poblaciones de Chiquimula y

Zacapa tuvieron una alta diferenciación (0.85) aunque son algunas de las poblaciones más cercanas espacialmente. La prueba de mantel entre distancias genéticas y distancias geográficas no mostró correlación significativa ($r=0.202$, $p=0.095$) indicando falta de aislamiento por distancia entre las poblaciones.

Cuadro 3. Comparación de FST pareadas de poblaciones del colibrí serrano de garganta verde en Guatemala y Chiapas.

	Uspantán ¹	A. Verapaz ¹	Chiapas ²	Huehue ²	Lacandón ³	Atitlán ³	Chiqui ³	F. Georginas ³	Zacapa ⁴
Uspantán ¹	-								
A. Verapaz ¹	-0.262	-							
Chiapas ²	0.2009	0.1465	-						
Huehue ²	0.5156	0.2357	0.0749	-					
Lacandón ³	0.3666	0.2633	0.2759	0.5532	-				
Atitlán ³	0.2884	0.2466	0.2736	0.5512	-0.0207	-			
Chiqui ³	0.3333	0.2649	0.4165	0.8856	-0.1053	0.0043	-		
F. Georginas ³	0.6716	0.446	0.575	0.8627	0.1381	0.04	0.3684	-	
Zacapa ⁴	0.5251	0.3875	0.7245	0.8733	0.7196	0.7294	0.8492	0.8604	-

Los grupos definidos por SAMOVA se indican con números del 1 al 4. Los valores significativos de $p < 0.05$ se muestran en negritas.

8.3 Modelos de distribución potencial

La variable más importante al explicar la presencia del colibrí serrano de garganta verde fue la temperatura media anual (contribuyó en un 72.6% al modelo). Por el contrario, la precipitación anual fue la variable que aportó menos al modelo (2%) (Figura 10). El área bajo la curva fue alta para los tres modelos (entre 0.942 y 0.948) en comparación con el valor de 0.5 esperado a partir de una predicción aleatoria. Lo anterior indica un buen ajuste del modelo a los datos de prueba.

El modelo generado para el presente predijo distribución en las tierras altas desde el Istmo de Tehuantepec hasta el noroeste de Nicaragua (Figura 11b). Las zonas con más alta

probabilidad de ocurrencia (mayores a 0.80) se encuentran en la Sierra Madre de Chiapas, la Cordillera Volcánica y la parte oeste de la Sierra de los Cuchumatanes. Las áreas con probabilidad entre 0.7 y 0.8 corresponden a la Sierra Norte y la Sierra Madre de Chiapas, las Tierras Altas Chortís y al sureste de Honduras.

La proyección CCSM al último máximo glacial reveló una distribución más amplia a la observada en el modelo del presente (Figuras 11b y 11c). La proyección CCSM muestra distribución en las Montañas Mayas. El área de distribución se extiende en el noroeste de las Tierras Altas Chortís y en el oeste de El Salvador. Las probabilidades aumentan en el noroeste de la Sierra Norte y disminuyen en el sureste de la misma. La Sierra Madre de Chiapas y la Sierra Norte se encuentran conectadas en el extremo oeste. En la proyección MIROC al último máximo glacial, la probabilidad de ocurrencia disminuye en las áreas cercanas a las cadenas montañosas en Guatemala, mostrando una disminución en el área de distribución en relación al escenario propuesto por la proyección CCSM (Figuras 11c y 11d).

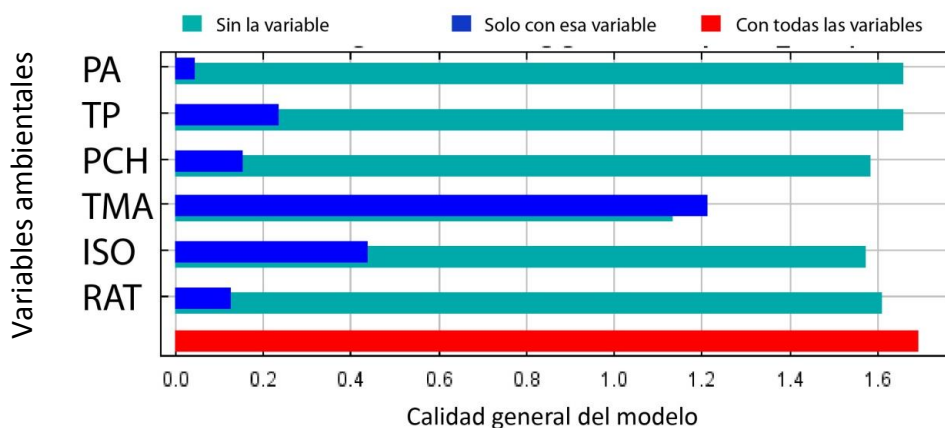


Figura 10. Importancia de cada variable en el modelo de distribución potencial generado para el colibrí serrano de garganta verde en el presente. El análisis de Jackknife presenta los resultados en relación a la calidad general del modelo. Las barras azules indican la calidad obtenida al incluir solo esa variable. Las barras celestes muestran como la calidad total del modelo disminuye sin la variable dada. Precipitación anual (PA), Temporalidad de la precipitación (TP), Precipitación del cuarto del año más húmedo (PCH), Temperatura media anual (TMA), Isothermalidad (ISO), Rango anual de temperatura (RAT).

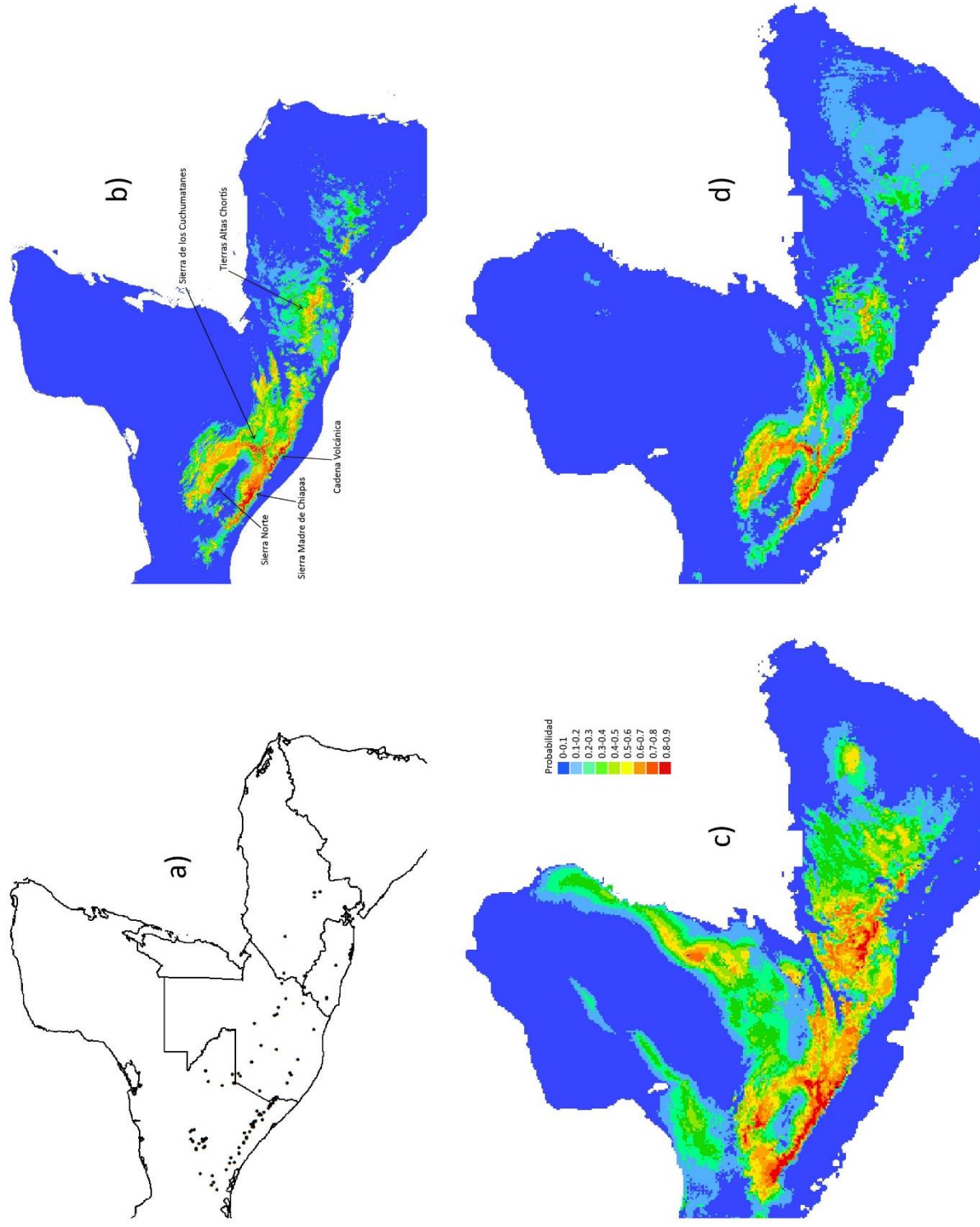


Figura 11. Análisis espacial de la distribución del colibrí serrano de garganta verde. (a) Datos de ocurrencia para el colibrí serrano de garganta verde. (b) Modelo de distribución potencial para el presente. (c) Proyecciones de la distribución al último máximo glacial (21, 000 años atrás) según los modelos CCSM y (d) MIROC.

8.4 Identificación de barreras

Entre las poblaciones de la Sierra de Chamá y Huehuetenango se identificó como barrera el cañón formado por el Río Xacbal que nace en Chiapas y entra a Guatemala entre los departamentos de Huehuetenango y Quiché (Figura 12). Entre la población en Chiapas y la Cordillera Volcánica se encontró como barrera el cañón formado por el río Coatán. Este río nace en el departamento de San Marcos y desemboca en el Océano Pacífico en el estado de Chiapas. En la población de Zacapa las barreras identificadas fueron el Valle del Motagua al norte y el cañón formado por el Río Grande al oeste y al sur. Entre las poblaciones en el Norte (Huehuetenango, Sierra de Chamá) y las del sur (Cordillera Volcánica) las barreras encontradas fueron el Valle del Polochic y el Valle del Motagua.

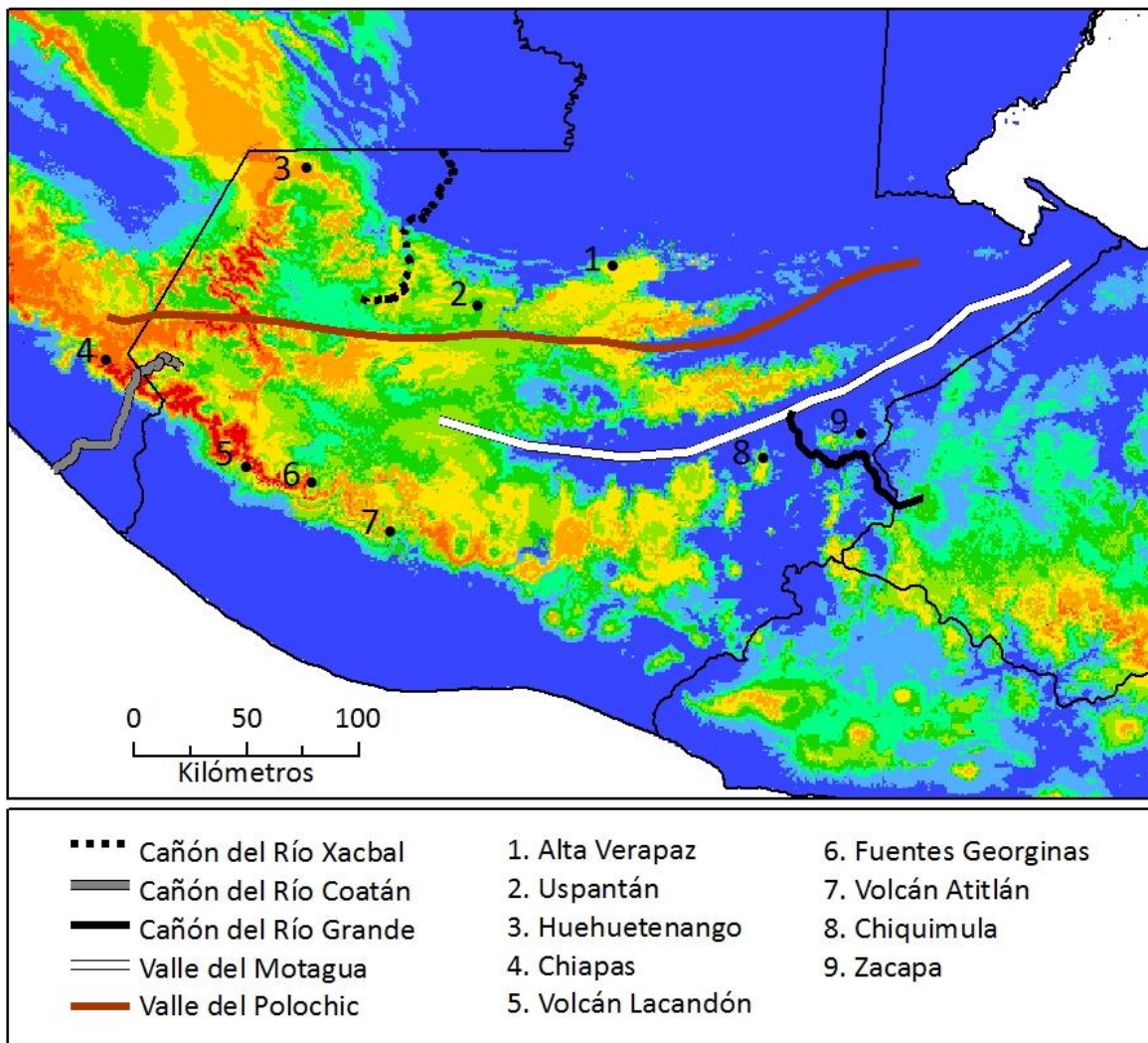


Figura 12. Barreras identificadas y localidades para el colibrí serrano de garganta verde sobrepuestas en un mapa de distribución potencial para el presente.

9. DISCUSIÓN

9.1 Estructura genética en el colibrí serrano de garganta verde en Guatemala y el sur de Chiapas

El colibrí serrano de garganta verde en Guatemala está compuesto por cuatro grupos genéticos: las poblaciones en la Sierra de Chamá, el oeste de Guatemala, la Cordillera Volcánica y Zacapa. El grupo de Zacapa coincide con un área de endemismo propuesta en base a la distribución de escarabajos Pasálidos (Schuster y Cano, 2006, 60). Según ese trabajo de áreas de endemismo el grupo del oeste de Guatemala está compuesto por dos áreas: el oeste de la Sierra de los Cuchumatanes y el sur de Chiapas. Algunos autores han identificado áreas faunísticas para Guatemala en base a anfibios y reptiles (Stuart 1942, 29; Campbell y Vannini 1989, 1) y Veliz (2013) describió áreas de endemismo florístico. En estos estudios se ha reconocido como un área de alto endemismo a la Sierra de los Cuchumatanes, sin embargo no se toma en cuenta al sur de Chiapas que forma parte del grupo del oeste de Guatemala establecido en el presente estudio. El grupo en la Cordillera Volcánica difiere de un área de endemismo encontrada por Schuster y Cano (2006) (en base a la distribución de escarabajos del género *Chrysina*) en que esta incluye al sur de Chiapas. El grupo de la Sierra de Chamá contrasta con la agrupación realizada por Campbell y Vannini (1989) ya que estos autores identificaron dos áreas faunísticas que corresponden al grupo de la Sierra de Chamá: las áreas “Quecchian” y “Cuilcan”. El árbol filogenético fue poco informativo debido a que presentó politomías en todas sus ramas. Por lo tanto la red de haplotipos proporcionó mayor información para el análisis.

La temperatura al ser la variable más importante al explicar la presencia del colibrí serrano de garganta verde ha limitado su dispersión a través de los cañones de los ríos Grande, Xacbal y Coatán, así como a través de los Valles Motagua y Polochic. Esto debido a que son áreas con mayor temperatura que las áreas específicas donde se ha reportado la especie, tal como lo indica el modelo de distribución potencial para el presente. La identificación de dichas barreras respalda la hipótesis que señala a los valles Motagua y Polochic como limitantes de la dispersión de los individuos. Interesantemente se encontró mayor división

de la predicha debido a que se formaron dos grupos genéticos al norte y dos al sur de los valles Motagua y Polochic. Estudios previos ya han encontrado interrupciones filogeográficas a ambos lados de estos valles. Algunos de los organismos donde se ha observado divergencia han sido varios linajes de serpientes (Castoe y otros, 2009, 94; Daza y otros, 2010, 351) ratones del género *Ototylomys* (Gutiérrez-García, 2013, 239) y el colibrí *Amazilia cyanocephala* (Rodríguez-Gómez y Ornelas, 2013).

Los grupos genéticos en el colibrí serrano de garganta verde (a excepción de la población en Zacapa) son un reflejo de la especificidad en la frecuencia de haplotipos y no de la especificidad de los haplotipos. Este patrón de divergencia y polimorfismos compartidos entre grupos ha sido observado en otros organismos como una especie de bolsero (*Icterus spurius*) (Baker y otros, 2003, 853) y el colibrí *Amazilia cyanocephala* (Rodríguez-Gómez y otros, 2013, 1366). En el colibrí serrano de garganta verde los haplotipos compartidos podrían responder a dos posibles explicaciones. La primera indica la presencia de barreras semipermeables y flujo génico entre los grupos (Qu y otros, 2012, 6118). Otra explicación para la mezcla de haplotipos implica un estado temprano de divergencia alopatrica con clasificación incompleta de los polimorfismos ancestrales como resultado de tiempo insuficiente desde el aislamiento de los grupos para acumular más diferencias genéticas (Takahashi y otros, 2001, 2064).

Durante el pleistoceno ocurrieron descensos en la temperatura que se han considerado como factores influyentes en la distribución geográfica, dinámica demográfica y patrones de diversidad genética en varias especies. (Soltis y otros, 2006, 4281; Galbreath y otros, 2009, 2855; Parra-Olea y otros, 2012, 355). Las temperaturas bajas habrían proporcionado condiciones adecuadas para la presencia de bosques nubosos en elevaciones más bajas a las de la actualidad (Schuster y Bonis, 2008, 32; Rojas-Soto y otros, 2012, 2672). En este momento el cañon del río Xacbal sería franqueable para el colibrí serrano de garganta verde permitiendo la dispersión entre los individuos.

Los altos valores en las distancias genéticas, la exclusividad de los haplotipos y el resultado del SAMOVA demuestran que la población de Zacapa es la que muestra la mayor

divergencia. La distancia genética entre las poblaciones en Zacapa y Chiquimula fue alta (0.85) aunque las dos localidades se encuentran relativamente cerca (45 kilómetros en línea recta). Esto concuerda con el resultado general de la prueba de Mantel que evidencia que la divergencia genética no está correlacionada con la distancia geográfica. Por lo tanto los resultados respaldan la hipótesis que indica que las poblaciones con mayor conectividad espacial mostrarían menor divergencia genética. La proyección CCSM al último máximo glacial muestra que para esta época la población en Zacapa ya se encontraba aislada. La diferencia entre la población en Zacapa y Chiquimula es interesante dado que es poco frecuente encontrar divergencia genética en especies de aves a relativa pequeña escala (García-Moreno y otros, 2004, 190; Cheviron y otros, 2005, 348; Puebla-Olivares y otros, 2008, 44; Kekkonen y otros, 2011, 187).

9.2 Importancia para la conservación

Los bosques nubosos en Guatemala tienen una función clave a nivel regional como proveedores de agua dulce (Kappelle y Brown, 2001, 233). Mientras que todos los bosques de montaña ayudan a mantener el flujo de los ríos desde sus nacientes, los bosques nubosos son únicos al capturar agua adicional a partir de su contacto directo con las nubes (Hamilton y otros, 1995). El agua adicional que proviene de esta captación de las nubes es equivalente al 15 a 20 por ciento de la precipitación ordinaria, pero puede alcanzar hasta el 50 a 60 por ciento (Aldrich y otros 2000, 8). Los bosques nubosos constituyen barreras contra la erosión del suelo y son fuente de plantas medicinales y alimenticias (Kappelle y Brown, 2001, 32). Los quiletos (*Solanum nigricans* y *S. nigrisens*) como ejemplo son plantas alimenticias de bosque nuboso, de las cuales se utilizan las hojas. El quixtán (*S. cobanensis* y *S. wenlandi*) son lianas de las cuáles se utiliza las partes jóvenes. *S. nigresens* es utilizada por mujeres embarazadas como fuente de hierro (Véliz Pérez, comunicación personal, septiembre 17, 2014). Muchas de las especies en estos bosques son endémicas de uno o de pocos sitios en las montañas (González-Espinosa y otros, 2012, 40). En los bosques nubosos entre Chiapas y el oeste de Honduras se han identificado 51 especies endémicas de escarabajos de la familia Passalidae y de los géneros *Chrysinia* y *Phyllophaga*. En base a la distribución de estos escarabajos se han

propuesto cinco áreas de endemismo (Schuster y Cano, 2006, 61). En Guatemala 201 especies de plantas endémicas se encuentran en bosque nuboso (Véliz, 2013, 43).

Es interesante que en Guatemala y el sur de Chiapas se hayan identificado cuatro grupos genéticos para el colibrí serrano de garganta verde, lo cual contrasta con otras especies donde con una mayor área de distribución se encuentra menor estructuración genética (Irwin y otros, 2011, 3110; Kekkonen y otros, 2011, 187; Rodríguez-Gómez y otros, 2013, 1365). Esto remarca la importancia de los bosques nubosos de la región en favorecer la especiación. En otros taxa de bosque nuboso se han encontrado especies muy cercanas evolutivamente con distribuciones aisladas (Schuster y Bonis, 2008, 32; Rovito y otros, 2012, 1253). Por ejemplo en escarabajos de la familia Passalidae del género *Ogyges*. *O. laevissimus* vive en los volcanes de la costa sur de Guatemala, desde el Chicabal en el oeste hasta el volcán de Agua. *O. hondurensis* conocido al oeste del volcán Tecuamburro, en la parte alta de La Unión, Zacapa, en algunas montañas de Honduras y aparentemente, en el volcán San Salvador. La tercera especie, *O. politus*, es conocida sólo en El Trifinio, en la frontera entre Honduras, El Salvador y Guatemala (Schuster y Bonis, 2008, 32). Otro taxón donde se ha observado este patrón es en salamandras del género *Dendrotriton* del cual se han descrito ocho especies de bosque nuboso desde el sur de Chiapas hasta el oeste de Honduras (Rovito y otros, 2012, 1253).

Los estudios filogeográficos permiten describir procesos demográficos y evolutivos que resultan en unidades poblacionales diferenciables y su protección en conjunto con la diversidad genética y los patrones de endemismo se incorporan en varias estrategias de conservación (Moritz y Faith, 1998, 419; Domínguez-Domínguez y Vázquez-Domínguez, 2009, 68; Sodhi y Ehrlich, 2010, 28). Debido a que la Sierra de Chamá, el oeste de Guatemala, la Cordillera Volcánica y Zacapa son grupos genéticos distintos los planes de conservación deberían considerarlos como independientes y buscar conservar la diversidad genética de cada uno de ellos. La conservación en el área de La Unión, Zacapa es particularmente importante debido a que es la que muestra mayor divergencia y se encuentra relativamente aislada de otros bosques nubosos.

10. CONCLUSIONES

- Se encontraron cuatro grupos genéticos en el colibrí serrano de garganta verde. La estructura en esta especie está relacionada con la formación de sistemas montañosos y cambios climáticos en diferentes períodos históricos.
- Los Valles Motagua y Polochic se identificaron como barreras, tal como se había predicho en la hipótesis, interesantemente se encontró más divergencia de la esperada debido a que se formaron dos grupos al norte y dos al sur de dichos valles. Las otras barreras identificadas fueron los cañones formados por el río Xacbal en Quiché, el río Coatán en Chiapas y el río Grande en Zacapa. La temperatura ha sido la principal variable que ha limitado la dispersión a través de dichas áreas.
- Los grupos genéticos en la Sierra de Chamá, el oeste de Guatemala y la Cordillera Volcánica son un reflejo de la especificidad en la frecuencia de haplotipos y no de la especificidad de haplotipos indicando ya sea flujo génico o que no ha transcurrido suficiente tiempo desde el aislamiento para acumular más diferencias genéticas.
- La frecuencia de haplotipos compartidos dentro de los grupos y la alta divergencia de la población en Zacapa, incluso con una población cercana, respaldó la hipótesis que indica que las poblaciones con mayor conectividad espacial mostrarían menor divergencia genética.
- La diferencia entre las poblaciones de Zacapa y Chiquimula es interesante dado que es poco frecuente encontrar divergencia genética en especies de aves a relativa pequeña escala.
- El número de grupos genéticos identificados para el colibrí serrano de garganta verde contrasta con otras especies donde con una mayor área de distribución se encuentra menor estructuración genética. Esto remarca la importancia de los bosques nubosos de la región en favorecer la especiación.

11. RECOMENDACIONES

- El colibrí serrano de garganta verde al ser una especie con alta estructuración sería adecuada en la realización de estudios de fragmentación actual a pequeña escala utilizando otros marcadores moleculares y especímenes de toda su área de distribución.
- Enfocar esfuerzos de investigación en el área de La Unión, Zacapa, un área que muestra estar aislada de otros sistemas montañosos en Guatemala.
- Realizar estudios utilizando filogeografía comparada en el norte de Mesoamérica para identificar grupos de especies con una historia común de vicarianza e incrementar el conocimiento de la influencia de los eventos geológicos y climáticos en los bosques nubosos del área.

12. REFERENCIAS

Aldrich, M., Bubb, P., Hostettler, S., Van de Wiel, H. (2000). Bosques nublados tropicales montanos, Tiempos para la acción. WWF International/IUCN. 28 p.

American Ornithologists' Union [AOU]. (1998). Check-list of North American Birds, 7ª. Edición, Estados Unidos.

Arce, J., Barrios, M., Josse, C., Flores, M., Orellana, R., Burgos, C., Castillo, M. y Villar, L. (2009). Políticas de Uso del Suelo y de Conservación de la Región Semiárida a nivel Departamental y Municipal en Guatemala. Centro de Datos para la Conservación, USAC, 95 p.

Baker, J., López-Medrano, E., Navarro-Sigüenza, D., Rojas-Soto, O. y Omland, K. (2003). Recent speciation in the Orchard oriole group: Divergence of *Icterus spuriusspurius* y *Icterus spuriusfuertesi*. The Auk 120, 3, 848–859.

Bandelt, H., Forster, P. y Röhl, A. (1999). Median-joining networks for inferring Intraspecific phylogenies. Mol BiolEvol, 16, 37-48. [Programa]. Recuperado de <http://www.fluxus-engineering.com/sharenet.htm>.

Barber, B. y Klicka, J. (2010) Two pulses of diversification across the Isthmus of Tehuantepec in a montane Mexican bird fauna. Proc R SocLond B, 277, 2675–2681.

Bell, R., Parra, J., Tonione, M. y Hoskin, C. (2010). Patterns of persistence and isolation indicate resilience to climate change in montane rainforest lizards. Molecular Ecology, 19, 2531–2544.

Blair, M. y Melnick, D. (2012). Scale-Dependent Effects of a Heterogeneous Landscape on Genetic Differentiation in the Central American Squirrel Monkey (*Saimiri oerstedii*). Plos one, 7, 8, 1-14.

Bleiweiss, R. (1992). Reversed plumage ontogeny in a female hummingbird: implications for the evolution of iridescent colours and sexual dichromatism. *Biological Journal of the Linnean Society*, 47, 183–195.

Brandley, M., Guiher, T., Pyron, R., Winne, C. y Burbrink, F. (2010). Does dispersal across an aquatic geographic barrier obscure phylogeographic structure in the diamond-backed watersnake (*Nerodia rhombifer*)? *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 57, 552–560.

Campbell, J. y Vannini, J. (1989). Distribution of amphibians and reptiles in Guatemala and Belize. *Western Foundation of Vertebrate Zoology*, 4, 1-20.

Castoe, T., Daza, J., Smith, E., Sasa, M., Kuch, U., Campbell, J., Chippindale, P., Parkinson, C. (2009). Comparative phylogeography of pitvipers suggests a consensus of ancient Middle American highland biogeography. *J Biogeogr*, 36, 88–103.

Chaves, J., Pollinger, J., Smith, T. y LeBuhn, G. (2007). The role of geography and ecology in shaping the phylogeography of the speckled hummingbird (*Adelomyia melanogenys*) in Ecuador. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 43, 795–807.

Cheviron, Z., Hackett, S. y Capparella, A. (2005). Complex evolutionary history of a Neotropical lowland forest bird (*Lepidothrix coronata*) and its implications for historical hypotheses of the origin of Neotropical avian diversity. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 36, 338-357.

Concheiro-Pérez, G., Rican, O., Ortí, G., Bermingham, E., Doadrio, I. y Zardoya, R. (2007). Phylogeny and biogeography of 91 species of heroine cichlids (Teleostei: Cichlidae) based on sequences of the cytochrome b gene. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 43, 91-110.

- Consejo Nacional de Áreas Protegidas [CONAP]. (2009). Lista de especies amenazadas de Guatemala, LEA y Listado de especies de flora y fauna silvestres CITES de Guatemala, 122 p.
- Darriba, D., Taboada, G., Doallo, R. y Posada, D. (2012). jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 9,772.
- Daza, J., Castoe, T. y Parkinson, C. (2010). Using regional comparative phylogeographic data from snake lineages to infer historical processes in Middle America. *Ecography*, 33, 343-354.
- Del Hoyo, J. (2009). A dorsal view of a bird perched, *Lampornis viridipallens*. Recuperado de <http://ibc.lynxeds.com/photo/green-throated-mountain-gem-lampornis-viridipallens/dorsal-view-bird-perched>.
- Dobson, F. y Jones, W. (1985). Multiple causes of dispersal. *American Naturalist*, 126, 855-858.
- Domínguez-Domínguez, O. y Vázquez-Domínguez, E. (2009). Filogeografía: aplicaciones en taxonomía y conservación. *Animal Biodiversity and Conservation* 32.1, 59-70.
- Drummond, A., Ashton, B., Buxton, S., Cheung, M., Cooper, A., Duran, C., Field, M., Heled, J., Kearse, M., Markowitz, S., Moir, R., Stones-Havas, S., Sturrock, S., Thierer, T. y Wilson, A. (2010). Geneious 5.1.7. [Programa]. Recuperado de <http://www.geneious.com>.
- Duennes, M., Lozier, J., Hines, H. y Cameron, S. (2012). Geographical patterns of genetic divergence in the widespread Mesoamerican bumble bee *Bombus ephippiatus* (Hymenoptera: Apidae). *Mol Phylogenet Evol*, 64:219–231.

- Dupanloup, I., Schneider, S., Excoffier, L. (2002). A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology*, 11, 12, 2571-81.
- Dyer, R., Nason, J. y Garrick, R. (2010). Landscape modelling of gene flow: improved power using conditional genetic distance derived from the topology of population networks. *Molecular Ecology*, 19, 3746–3759.
- Eisermann, K. y Avendaño, C. (2006). Diversidad de aves en Guatemala, con una lista bibliográfica. En Cano, E. (Ed.) Biodiversidad de Guatemala. Vol. 1. (pp. 525-623) Guatemala: Universidad del Valle de Guatemala y Fondo Nacional para la Conservación (FONACON).
- Eiserman, K. (2012). Ventral view of an adult male, *Lampornis viridipallens*. Recuperado de <http://ibc.lynxeds.com/photo/green-throated-mountain-gem-lampornis-viridipallens/ventral-view-adult-male>.
- Excoffier, L. y Lischer, H. (2010). Arlequin versión 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10, 564-567. [Programa]. Recuperado de <http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin35/>.
- Fahmy, T. y Aubry, A. (2002) XLSTAT. Addinsoft, Paris. [Programa]. Recuperado de <http://www.xlstat.com/es/descargar.html>.
- Fenster, C. y Dudash, M. (2001). Spatiotemporal variation in the role of hummingbirds as pollinators of *Silene virginica*. *Ecology*, 82, 3, 844–851.
- Galbreath, K., Hafner, D. y Zamudio, K. (2009). When cold is better: climate-driven elevation shifts yield complex patterns of diversification and demography in an alpine specialist (American pika, *Ochotona princeps*). *Evolution*, 63, 2848–2863.

- Gallardo, C., Hernández, H., Diniz, J., Palma, R. y Méndez, M. (2011). Relationship between the genetic structure of the Andean toad *Rhinella spinulosa* (Anura: Bufonidae) and the northern Chile landscape (21°- 24° S). *Revista Chilena de Historia Natural*, 84, 391-406.
- García-Moreno, J., Cortés, N., García-Deras, G. y Hernández-Baños, B. (2006). Local origin and diversification among *Lampornis* hummingbirds: A Mesoamerican taxon. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 38, 488-498.
- García-Moreno, J., Navarro-Sigüenza, A., Townsed, A. y Sánchez-González, L. (2004). Genetic variation coincides with geographic structure in the common bush-tanager (*Chlorospingus ophthalmicus*) complex from Mexico. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 33, 186–196.
- Gill, F. (1995). *Ornithology*. 2ª. Edición, Estados Unidos: W. H. Freeman and Company.
- González-Espinosa, M., Meave, J., Ramírez-Marcial, N., Toledo-Aceves, T., Lorea-Hernández, F., y Ibarra-Manríquez, G. (2012). Los bosques de niebla de México: conservación y restauración de su componente arbóreo. *Ecosistemas*, 21, 1-2, 36-52.
- Greenewalt, C. (1990). *Hummingbirds*. Canada: General Publishing Company.
- Guindon, S. y Gascuel, O. (2003). A simple, fast and accurate method to estimate large phylogenies by maximum-likelihood. *Systematic Biology*, 52, 696-704.
- Gutiérrez-García, T. (2013). Comparative phylogeography of *Oryzomys couesi* and *Ototylomy sphyllotis*; historic and geographic implications for the Central America conformation. *Frontiers of Biogeography*, 5, 4.

- Hackett, S. (1996). Molecular phylogenetics and biogeography of tanagers in the genus *Ramphocelus* (Aves). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 5, 368–382.
- Hamilton, L., Juvik, J., Scatena, F. (1995). The Puerto Rico Tropical Cloud Forest Symposium: introduction and workshop synthesis. En Hamilton, L., Juvik, J. y Scatena, F. (eds.). *Tropical Montane Cloud Forest*. *Ecological Studies* 10, 1-23.
- Hijmans, R., Cameron, S., Parra, J., Jones, P. y Jarvis, A. (2005). Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. Recuperado de <http://www.worldclim.org/>.
- Howell, S. y Webb, S. (1995). *A guide to the birds of Mexico and Northern Central America*. Estados Unidos de América: Oxford University.
- Hutchinson, G. (1957). Concluding remarks. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, 22, 415–427.
- Irwin, D., Irwin, J. y Smith, T. (2011). Genetic variation and seasonal migratory connectivity in Wilson's warblers (*Wilsonia pusilla*): species-level differences in nuclear DNA between western and eastern populations. *Molecular Ecology*, 20, 3102-3115.
- [IUCN] Red List of Threatened Species (2013). *Lampornis viridipallens*. Version 2013.2. Recuperado de <http://maps.iucnredlist.org/map.html?id=22687672>.
- Janzen, D. (1967). Why mountain passes are higher in the tropics. *American Naturalist*, 101, 233–249.
- Johansson, U., Parsons, T., Irestedt, M. y Ericson, G. (2001). Clades within the higher land birds, evaluated by nuclear DNA sequences. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 39, 37-51.

- Kappelle, M. y Brown, A. (2001). Bosques Nublados del Neotrópico. 1ª Edición, Costa Rica: Instituto Nacional de Biodiversidad (INBio).
- Kekkonen, J., Seppä, P., Hanski, I., Jensen, H., Väisänen, R. y Brommer, J. (2011). Low genetic differentiation in a sedentary bird: house sparrow population genetics in a contiguous landscape. *Heredity*, 106, 183-190.
- Lepage, D. (2014). Avibase- the world bird database. Recuperado de <http://avibase.bsc-eoc.org/species.jsp?avibaseid=9A164FA04DA4CFE2>.
- Livezey, B. y Zusi, R. (2001). Higher-order phylogenetics of modern Aves based on comparative anatomy. *Netherlands Journal of Zoology*, 51, 179-205.
- Malpica, A. y Ornelas, J. (2014). Postglacial northward expansion and genetic differentiation between migratory and sedentary populations of the broad-tailed hummingbird (*Selasphorus platycercus*). *Molecular Ecology*, 23, 435–452.
- McGuire, J., Witt, C., Altshuler, D. y Remsen, J. (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, 5, 837–856.
- McKelvey, K., Cushman, S. y Schwartz, M. (2010). Landscape genetics. En S. Cushman, y F. Huettmann. *Spatial Complexity, Informatics, and Wildlife Conservation* (pp. 313-328).
- Milá, B., Smith, T., Wayne, R. (2007). Speciation and rapid phenotypic differentiation in the yellow-rumped warbler *Dendroica coronate* complex. *MolEcol*, 16:159–173.

- Milá, B., Wayne, R., Fitze, P. y Smith, T. (2009). Divergence with gene flow and fine-scale phylogeographical structure in the wedge-billed wood creeper, *Glyphorynchus spirurus*, a Neotropical rainforest bird. *Molecular Ecology*, 18, 2979–2995.
- Monroe, B. (1963). A revision of the *Lampornis viridipallens* complex (Aves: Trochillidae). *Occas. Papers*. 27, 1-10.
- Moritz, C. y Faith, D. (1998). Comparative phylogeography and the identification of genetically divergent areas for conservation, *Molecular Ecology*, 7, 4, 419-429.
- Naujokaitis, I., Rico, Y., Lovell, J., Fortin, M. y Murphy, M. (2012). Implications of incomplete networks on estimation of landscape genetic connectivity, *Conserv Genet*, 10.1007/s10592-012-0385-3.
- Nosil, P. (2008). Speciation with gene flow could be common. *Molecular Ecology*, 17, 2103–2106.
- Ornelas, J. (1996). Origen y evolución de los colibríes. *Revista Ciencias*, 42, 38–47.
- Ornelas, J., González, C., Espinosa, A., Rodríguez-Gómez, F. y García-Feria, L. (2013a). In and out of Mesoamerica: temporal divergence of *Amazilia* hummingbirds predates the orthodox account of the completion of the Isthmus of Panama. *J. Biogeogr.*, doi: 10.1111/jbi.12184.
- Ornelas, J., Sosa, V., Soltis, D., Daza, J., González, C., Soltis, P., Gutiérrez-Rodríguez, C., Espinosa de los Monteros, A., Castoe, T., Bell, C., Ruiz-Sanchez, E. (2013b). Comparative phylogeographic analyses illustrate the complex evolutionary history of threatened cloud forests of northern Mesoamerica. *PLoS ONE*, 8, 2, doi:10.1371/journal.pone.0056283, 1-11.

- Otto-Bliesner, B., Hewitt, C., Marchitto, T., Brady, E., Abe-Ouchi, A., Crucifix, M., Murakami, S. y Weber, S. (2007). Last Glacial Maximum ocean thermohaline circulation: PMIP2 model intercomparisons and data constraints. *Geophysical research letters*, 34, L12706, doi:10.1029/2007GL029475.
- Parra-Olea, G., Windfield, J., Velo-Antón, G. y Zamudio, K. (2012). Isolation and habitat refugia promote rapid diversification in a montane tropical salamander. *Journal of Biogeography*, 39, 353–370.
- Perdices, A., Doadrio, I. y Bermingham, E. (2005). Evolutionary history of the synbranchid eels (Teleostei: Synbranchidae) in Central America and the Caribbean islands inferred from their molecular phylogeny. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 37, 460-473.
- Phillips, S., Anderson, R. y Schapire, R. (2006). Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling*, 190, 231–259. [Programa]. Recuperado de <http://www.cs.princeton.edu/~schapire/maxent/>.
- Pierce, S. (2000). *Genética un enfoque conceptual*. Estados Unidos: Médica Panamericana.
- Puebla-Olivares, F., Bonaccorso, E., Espinosa de los Monteros, A., Omland, K., Llorente-Bousquets, J., Townsend, A. y Navarro-Sigüenza, A. (2008). Speciation in the emerald toucanet (*Aulacorhynchus prasinus*) complex. *The Auk*, 125, 39–50.
- Qu, Y., Zhang, R., Quan, Q., Song, G., Hsien, S. y Lei, F. (2012). Lineage sorting or secondary admixture: disentangling historical divergence from recent gene flow in the Vinous-throated parrotbill (*Paradoxornis webbianus*). *Molecular Ecology*, 21, 6117–6133.
- Rico-Guevara, A. y Rubega, A. (2011). The hummingbird tongue is a fluid trap, not a capillary tube. *PNAS*, 108, 23, 9356-9360.

- Rodríguez-Gómez, F., Gutiérrez-Rodríguez, C. y Ornelas, J. (2013). Genetic, phenotypic and ecological divergence with gene flow at the Isthmus of Tehuantepec: the case of the azure-crowned hummingbird (*Amazilia cyanocephala*). *J. Biogeogr.* 40, 1360–1373.
- Rodríguez-Gómez, F. y Ornelas, J. (2013). Genetic divergence of the Mesoamerican azure-crowned hummingbird (*Amazilia cyanocephala*, Trochilidae) across the Motagua-Polochic-Jocotan fault system, *J Zool Syst Evol Res*, doi: 10.1111/jzs.12047, 1-12.
- Rojas-Soto, O., Sosa, V. y Ornelas, J. (2012). Forecasting cloud forest in eastern and southern Mexico: conservation insights under future climate change scenarios. *Biodivers Conserv*, 21, 2671–2690.
- Ronquist, F. y Huelsenbeck, J. (2003). MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19, 1572-1574. [Programa]. Recuperado de <http://mrbayes.sourceforge.net/>.
- Rovito, S., Wake, D., Papenfuss, T., Parra-Olea, G., Muñoz-Alonso, A., Vásquez-Almazán, C. (2012). Species formation and geographical range evolution in a genus of Central American cloud forest salamanders (*Dendrotriton*). *J Biogeogr*, 39,1251–1265.
- Schuster, J. y Bonis, S. (2008). Biodiversidad de Guatemala en relación con su historia geológica y biogeografía. En CONAP (Ed.). Guatemala y su biodiversidad: Un enfoque histórico, cultural, biológico y económico. (pp. 21-53) Guatemala: Consejo Nacional de Áreas Protegidas, Oficina Técnica de Biodiversidad.
- Schuster, J. y Cano, E. (2006). What can Scarabaeoidea contribute to the knowledge of the Biogeography of Guatemala? *Coleopterists Society Monograph Number*, 5, 57–70.
- Schwartz, M., Copeland, J., Anderson, N., Squires, J., Inman, R., Mckelvey, K., Pilgrim, K., Waits, L. y Cushman, S. (2009). Wolverine gene flow across a narrow climatic niche, *Ecology*, 90, 11, 3222-3232.

- Soberón, J. (2007). Grinnellian and Eltonian niches and geographic distributions of species. *Ecology Letters*, 10, 1115–1123.
- Sodhi, N. y Ehrlich, P. (2010). *Conservation Biology for All*. Estados Unidos: Oxford University Press.
- Soltis, D., Morris, A., McLachlan, J. Manos, P y Soltis, P. (2006). Comparative Phylogeography of unglaciated eastern North America. *Molecular Ecology*, 15, 4261–4293.
- Strokes, D. y Strokes, L. (1989). *The Hummingbird book*. Boston, Little, Brown and Company.
- Stuart, L. (1942). Una descripción preliminar de las provincias bióticas de Guatemala, fundada sobre la distribución del género salamandrino. *Anales de la Sociedad de Geografía e Historia de Guatemala*. 18, 1, 29-38.
- Takahashi, K., Terai, Y., Nishida, M. y Okada, N. (2001). Phylogenetic Relationships and Ancient Incomplete Lineage Sorting Among Cichlid Fishes in Lake Tanganyika as Revealed by Analysis of the Insertion of Retroposons. *Mol Biol Evol*, 18, 11, 2057-2066.
- Temeles, E., Koulouris, C., Sander, S. y Kress, J. (2009). Effect of flower shape and size on foraging performance and trade-offs in tropical hummingbird. *Ecology*, 90, 5, 1147-1161.
- Tyrrel, E. y Tyrrel, R. (1985). *Hummingbirds, Their Life and Behavior*. Nueva York, Crown Publishers.

Veliz, M. (2013). Determinación, caracterización y evaluación del estado actual y uso de las especies endémicas de Guatemala. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.

Velo-Antón, G., Parra, J., Parra-Olea, G. y Zamudio, R. (2013). Tracking climate change in a dispersal-limited species: reduced spatial and genetic connectivity in a montane salamander. *Molecular Ecology*, 22, 3261-3278.

Williams-Linera, G. (1997). Phenology of deciduous and broadleaved-evergreen tree species in a Mexican tropical lower montane forest. *Glob Ecol Biogeogr Lett*, 6, 115–127.

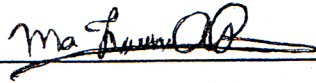
Williamson, S. (2002). *Hummingbirds of North America*. Nueva York: Peterson Field Guides.

Wright, S. (1943). Isolation by distance. *Genetics*, 28, 114–138.

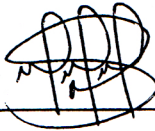
13. ANEXOS

Anexo 1: Boleta de toma de datos donde se describió las características de cada ave capturada (Museo de Zoología de vertebrados, U.C.B).

YR:	NAME:	SPECIMEN CATALOG	PAGE #:
	#	Locality:	
	<input type="checkbox"/> Skin		
	<input type="checkbox"/> Skel.		Lat: _____ Long: _____
	<input type="checkbox"/> ETOH	GPS Error: _____	Extent: _____ Datum: _____
	<input type="checkbox"/> Other	Date collected: _____	Date prepared: _____
		Species: _____	Wt: _____
		Tiss: <input type="checkbox"/> Froz <input type="checkbox"/> Other _____	Types: _____ Barcode #: _____
	<input type="checkbox"/> Audio	<input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/> sex?	Skull: _____ Fat: _____
	<input type="checkbox"/> Photo	Repro.:	
	FN _____	Molt:	
		Colors: _____	Stomach: _____
	<input type="checkbox"/> Shot	Habitat: _____	
	<input type="checkbox"/> Net	Notes: _____	
	<input type="checkbox"/> Salvage		
	#	Locality:	
	<input type="checkbox"/> Skin		
	<input type="checkbox"/> Skel.		Lat: _____ Long: _____
	<input type="checkbox"/> ETOH	GPS Error: _____	Extent: _____ Datum: _____
	<input type="checkbox"/> Other	Date collected: _____	Date prepared: _____
		Species: _____	Wt: _____
		Tiss: <input type="checkbox"/> Froz <input type="checkbox"/> Other _____	Types: _____ Barcode #: _____
	<input type="checkbox"/> Audio	<input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/> sex?	Skull: _____ Fat: _____
	<input type="checkbox"/> Photo	Repro.:	
	FN _____	Molt:	
		Colors: _____	Stomach: _____
	<input type="checkbox"/> Shot	Habitat: _____	
	<input type="checkbox"/> Net	Notes: _____	
	<input type="checkbox"/> Salvage		
	#	Locality:	
	<input type="checkbox"/> Skin		
	<input type="checkbox"/> Skel.		Lat: _____ Long: _____
	<input type="checkbox"/> ETOH	GPS Error: _____	Extent: _____ Datum: _____
	<input type="checkbox"/> Other	Date collected: _____	Date prepared: _____
		Species: _____	Wt: _____
		Tiss: <input type="checkbox"/> Froz <input type="checkbox"/> Other _____	Types: _____ Barcode #: _____
	<input type="checkbox"/> Audio	<input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/> sex?	Skull: _____ Fat: _____
	<input type="checkbox"/> Photo	Repro.:	
	FN _____	Molt:	
		Colors: _____	Stomach: _____
	<input type="checkbox"/> Shot	Habitat: _____	
	<input type="checkbox"/> Net	Notes: _____	
	<input type="checkbox"/> Salvage		



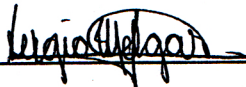
María Fernanda Asturias Ramírez
Autora



Rosa Alicia Judith Jiménez Barrios, M. Sc.
Asesora



Jorge-Erwin López, Ph. D.
Revisor



Sergio Melgar, Ph. D.
Director-Escuela de Biología



Oscar Cobar Pinto, Ph. D.
Decano