1	Estructura filogeográfica de la Tángara Triguera (<i>Tangara cayana,</i> Aves:
2	Thraupidae) en la Orinoquia colombiana.
3	
4	Phylogeographic structure of the Burnished-buff Tanager (Tangara cayana, Aves:
5	Thraupidae) in the Colombian Orinoco.
6	
7	Estrutura filogeográfica da Saíra-Amarela (Tangara cayana, Aves: Thraupidae) na
8	Orinoco Colombiano.
9	
10	Laura N. Tejeiro-M ^{1*}
11	¹ Programa de Biología y Museo de Historia Natural, Universidad de los Llanos,
12	Villavicencio-Meta, Colombia.
13	
14	* Email: laura.tejeiro@unillanos.edu.co
15	
16	RESUMEN
17	Los estudios sobre filogeografía de aves Neotropicales se han centrado en gran
18	medida en taxones de bosques húmedos de tierras bajas. En contraste, poca
19	atención ha sido dedicada al estudio de especies con ecologías propicias para la
20	dispersión, tales como los asociados a ecosistemas no boscosos y acuáticos. A
21	pesar de un incremento reciente en estudios filogeográficos de aves de ecosistemas
22	no boscosos aún existe un vacío de conocimiento en ecosistemas de sabana al
23	norte del río Amazonas. En este trabajo se evaluó la estructura filogeográfica de
24	Tangara cayana con énfasis en la Orinoquia colombiana a partir de secuencias del
25	gen mitocondrial ND2. A nivel de especie, las poblaciones mostraron baja estructura
26	genética; sin embargo, se presentan tres haplogrupos correspondientes a
27	poblaciones de Bolivia, Brasil y noreste de la Orinoquia colombiana, el sur de la
28	Orinoquia colombiana y Amazonas. La baja estructura genética encontrada no
29	concuerda con la delimitación tradicional de distritos biogeográficos para la
30	Orinoquia. Las poblaciones de la Orinoquia colombiana probablemente derivaron
31	de poblaciones de Brasil más que de Bolivia, lo cual posiblemente pudo ser

promovido por la expansión de las sabanas durante las oscilaciones climáticas del
Pleistoceno. Es de precisar que los resultados encontrados en este estudio deben
ser complementados con un mayor número de muestras y poblaciones de *T. cayana*en la Orinoquia colombiana y venezolana, con la finalidad de obtener un escenario
filogeográfico más completo de la especie.

Palabras clave: sabanas Neotropicales, paleoecología, distritos biogeográficos,
 estructura genética.

39

40 **ABSTRACT**

Phylogeographic studies of Neotropical birds have mostly on taxa from the lowland 41 42 humid forests. In contrast, little attention has been devoted to the study of species with ecologies with higher propensity for dispersal, such as those associated with 43 44 non-forest and aquatic ecosystems. In this paper the phylogeographic structure in the Colombian Orinoquia of Tangara cayana was evaluated using sequenced data 45 46 of mitochondrial ND2 gene. At the species level, populations exhibited shallow genetic structure; however, three haplogroups were represented in the Colombian 47 Orinoquian savannahs, which have affinities with populations of Bolivia, Brazil and 48 northeastern Colombia, and southern Colombia. The low genetic structure found 49 does not match the traditional definition of biogeographic districts for Orinoquia. The 50 populations of the Colombian Orinoco basin probably derived from Brazil, which 51 possibly could be promoted by the expansion of savannahs during the Pleistocene 52 climatic oscillations. Results from this study may be supplemented with samples 53 from the Colombian and Venezuelan Orinoquian, in order to obtain a more complete 54 55 phylogeographic scenario of the species.

Key words: Neotropical savannas, paleoecology, biogeographic districts, genetic
 structure.

58

59 **RESUMO**

Estudos de filogeografia de aves neotropicais se há focado principalmente nos
táxons das florestas úmidas de terras baixas. Em contrapartida, pouca atenção tem
sido dedicada ao estudo de espécies com ecologias conducentes à dispersão, tais

como aqueles associados à não-florestais e ecossistemas aquáticos. Apesar de um 63 aumento recente de estudos filogeográficos de aves em ecossistemas não florestais 64 65 ainda há uma lacuna de conhecimento em ecossistemas de savana ao norte do rio Amazonas. Neste estudo, foi avaliada a estrutura filogeográfica da Tangara cayana 66 67 na Orinoquia, usando a sequência do gene ND2 mitocondrial. Ao nível de espécie, as populações apresentaram baixa estrutura genética, no entanto, há três 68 69 haplogrupos correspondente a populações da Bolívia, Brasil e nordeste da Orinoquia colombiana e sul da Orinoquia colombiana e Amazônia. A estrutura 70 71 genética encontrada não é concordante com a definição tradicional de distritos biogeográficos para a Orinoguia. As populações da Orinoguia colombiana 72 73 provavelmente têm derivado de populações do Brasil, que possivelmente poderiam ser promovidas pela expansão das folhas durante as oscilações climáticas do 74 pleistoceno durante os últimos milhões de anos. É claro que os resultados 75 encontrados neste estudo deveriam ser suplementados com as populações de 76 77 Orinoquia Colômbia e Venezuela, a fim de obter um cenário filogeográficas mais completa das espécies. 78

Palavras chave: savanas neotropicais, paleoecologia, distritos biogeográficos,
estrutura genética.

81

82 INTRODUCCIÓN

El Neotrópico alberga la mayor diversidad de aves en el planeta con cerca de 3.800 83 especies, de las cuales 1.800 especies están asociadas a ecosistemas boscosos 84 de la cuenca Amazónica (Mittermeier et al., 2003; Vale et al., 2008). En contraste, 85 para los ecosistemas de sabana se estiman c. 200 especies que se distribuyen a lo 86 largo del Campo y las sabanas inundables circun-amazónicas (Stotz et al., 1996). 87 Esta riqueza de especies ha sido un efecto acumulativo de procesos biológicos, 88 geológicos, climatológicos, hidrológicos, entre otros, los cuales han promovido la 89 90 especiación, dispersión y extinción de linajes durante millones de años (Bush, 1994; Colinvaux, 1993; Hoorn et al., 2010; Nores, 1999; Wiens y Donoghue, 2004; Sandel 91 et al., 2011). Aunque es evidente que hay un efecto del paisaje contemporáneo 92 sobre la diferenciación genética de las poblaciones de las especies, aún sigue 93

siendo poco conocido cómo estos efectos específicos han actuado en la
diversificación de los diferentes linajes (Rull, 2008; 2011; Antonelli *et al.*, 2010; Ribas *et al.*, 2012).

El origen y las causas de la extraordinaria diversidad de especies en los trópicos es 97 98 un tema ampliamente debatido (Haffer, 1969; Wiens et al., 2011). Uno de los modelos más debatidos para explicar la alta diversidad Neotropical es el de 99 100 "Refugios del Pleistoceno", el cual indica un papel relevante de las fluctuaciones climáticas del Cuaternario en la diversificación de la biota Neotropical, a través de 101 102 ciclos sucesivos de expansión y contracción de vegetación tanto húmeda como 103 seca, los cuales fragmentaron y aislaron los rangos de las especies facilitando 104 posteriores procesos de diferenciación poblacional y especiación (Haffer, 1969). 105 Esta hipótesis sugiere que las sabanas de América del Sur alcanzaron su máxima 106 extensión en la cuenca del Amazonas durante el último máximo glacial, con tres 107 importantes conexiones entre los parches de sabana en el norte y el sur del Amazonas, los cuales hipotéticamente se extendieron (i) a lo largo de la vertiente 108 oriental de los Andes; (ii) a través del centro del Amazonas; o (iii) a lo largo de la 109 costa del Atlántico oriental (Sarmiento, 1983; Webb, 1991; Da Silva y Bates, 2002). 110 La magnitud de la influencia de los ciclos del Cuaternario en la diversificación de la 111 biota Neotropical es cuestionada (Moritz et al., 2000; Edwards et al., 2010; Hoorn et 112 al., 2010; Werneck et al., 2012) debido a que en algunos casos la divergencia de 113 taxones hermanos es anterior al Pleistoceno (Moritz et al., 2000); pero también se 114 ha encontrado evidencia de dos de los tres corredores de sabana previamente 115 propuestos. Werneck et al., (2012) no apoyan la existencia de un cinturón a través 116 del centro del Amazonas, pero sí de los otros dos corredores, los cuales no son 117 mutuamente excluyentes. Estos corredores pudieron haber prevalecido en 118 diferentes períodos y condiciones climáticas; generando áreas adecuadas, 119 posiblemente transitorias y discontinuas durante el último máximo glacial y el último 120 121 interglaciar. Asimismo, Da Silva y Bates (2002) encontraron evidencia de los mismos dos corredores con base a distribuciones actuales de aves de sabana, 122 concluyendo que un corredor Amazónico central es poco probable, soportando la 123 hipótesis de recientes conexiones bióticas entre las sabanas del norte del 124

Amazonas y el Cerrado Brasileño, las cuales probablemente ocurrieron a lo largo
de la costa Atlántica (Avila-Pires, 1995; Da Silva y Bates, 2002). Estos corredores
podrían explicar la alta similitud de especies y baja diferenciación fenotípica (i.e.
subespecies) entre los Llanos de Orinoco y las regiones abiertas de Brasil y Bolivia
(Haffer, 1967).

Alternativamente, la hipótesis de los ríos como barreras ha sido propuesta como 130 131 una explicación a la alta diversidad de especies en el Amazonas (Wallace, 1876, 1954; Sick 1967; Bates, 1998), en donde estudios recientes proveen evidencia 132 fuerte a favor de un mayor papel de la dinámica de los ríos en la diversificación 133 134 Amazónica (Burney y Brumfield, 2009; Ribas et al., 2011; Naka et al., 2012). Aun 135 así, estos estudios también demuestran una amplia variación en los tiempos de divergencia (incongruencia temporal), sugiriendo que múltiples eventos de 136 137 especiación han ocurrido independientemente a través de la misma barrera, probablemente como resultado de diferencias en la dispersión de las especies 138 (d'Horta et al., 2013; Naka et al., 2012; Smith et al., 2014). 139

140

La historia evolutiva y respuesta de las especies de aves a los diferentes eventos 141 históricos y/o cambios ambientales, depende en gran medida de su habilidad de 142 dispersión. A nivel de especies de tierras bajas, se ha encontrado que las aves de 143 dosel presentan menor divergencia genética intraespecífica a través de los Andes y 144 de los ríos Amazónicos que las aves de sotobosque, posiblemente a causa de su 145 mayor habilidad de dispersión y por ende mayor flujo genético que sus contrapartes 146 de sotobosque (Burney y Brumfield, 2009). Por consiguiente, se espera que 147 especies con mayores habilidades de dispersión como aquellas restringidas a zonas 148 abiertas o dosel sean más propensas a exhibir menor estructura genética 149 interpoblacional que especies de sotobosque. De hecho, para especies de zonas 150 abiertas como las encontradas en el Cerrado Brasileño y Sabanas de Bolivia, Bates 151 et al., (2003) reportan bajos niveles de divergencia genética entre poblaciones de 152 diez especies de aves separadas por distancias mayores a 1800 km. Estos niveles 153 son más bajos que los reportados para poblaciones de aves de sotobosque 154 155 Amazónicas separadas por distancias menores (i.e. ríos). En contraste a esto,

Capurucho et al. (2013) encontraron que Xenopipo atronitens, un especialista de 156 bosques de arena blanca, presentó una baja estructura genética a lo largo de una 157 158 matriz de vegetación abierta y parches de arena blanca, probablemente como resultado de la deriva genética sobre poblaciones pequeñas, restringidas a 159 pequeños fragmentos de Campiña y a la reducción de la inmigración entre parches, 160 producto de barreras de bosque de terra firme. A pesar de un incremento reciente 161 162 en estudios filogeográficos de aves de ecosistemas no boscosos (Savit y Bates, 2015; Matos et al., 2016), la mayoría se han centrado en especies del interior del 163 164 bosque húmedo, y poca atención ha sido dedicada al estudio de especies con ecologías propicias para la dispersión, tales como las asociadas ecosistemas de 165 166 sabana, áreas abiertas y ambientes acuáticos (Cadena et al., 2011). Este vacío de conocimiento es comparativamente mayor en ecosistemas de sabana al norte del 167 168 río Amazonas como los llanos del Orinoco colombiano y venezolano, los cuales permanecen poco conocidos a nivel de la composición, distribución y origen de su 169 170 avifauna.

171

En el caso de la Orinoguia, que se extiende cerca de 991,587 km² desde el 172 piedemonte de la cordillera Oriental en Colombia al este hasta el Atlántico en 173 Venezuela (WWF, 2010). La región es reconocida como una Provincia 174 Biogeográfica la cual comprende seis distritos biogeográficos, cuatro de ellos 175 ubicados en las sabanas (Arauca-Apure, Casanare, Sabana altas y Maipures) y dos 176 en el piedemonte de la cordillera Oriental (Piedemonte Casanare-Arauca y 177 Piedemonte Meta). Adicionalmente, el distrito de la Provincia Biogeográfica de la 178 Guyana, al sur del río Guaviare; también presentan sabanas aisladas por bosques 179 Amazónicos (Hernández-Camacho et al., 1992). La evidencia palinológica indica 180 una alta dinámica de contracción y expansión de los bosques de galería y las 181 sabanas de la Orinoguia durante el Holoceno (Berrio et al., 2002). Esta dinámica de 182 183 fragmentación, reducción y expansión de los bosques de galería y sabanas naturales puede haber desempeñado un papel importante en la estructura genética 184 185 de las poblaciones de aves, al aislarlas o facilitar el flujo genético entre ellas (Haffer, 1969; Bates et al., 2003; Aleixo, 2004). Asimismo, la presencia de ríos con 186

diferentes niveles de caudal (e.g. Arauca, Meta, Guaviare) plantea la posibilidad de
evaluar su papel como barreras promotoras de la diferenciación genética de las
poblaciones Orinocenses. Lo que convierte a la Orinoquia colombiana en un campo
de estudio idóneo para evaluar la estructura y diversidad genética de especies de
aves asociadas a este tipo de ecosistemas.

192

La Tángara Triguera, Tangara cayana, es una especie asociada a varios tipos de 193 sabanas y bordes de bosque, con una distribución circun-amazónica (Remsen et 194 al., 1991) que abarca Colombia, Venezuela, Guayanas, este de Perú, este de Brasil, 195 Bolivia, noreste de Argentina y Paraguay. En Colombia se distribuye desde el este 196 197 de los Andes hasta el sur del Meta (Sierra de la Macarena), y desde Vichada hasta Vaupés (Hilty y Brown, 1986). Actualmente, se reconocen siete subespecies para la 198 199 especie, de las cuales únicamente T. c. cayana está registrada en la Orinoquia colombiana. 200

201 Burns y Naoky (2004) realizaron la primera reconstrucción filogenética del género Tangara en donde T. cayana hace parte de un clado junto con T. vitriolina, y T. 202 cucullata; en este grupo se observaron bajos niveles divergencia genética (distancia 203 p no corregida =1.4%), lo cual concuerda con la baja diferenciación fenotípica entre 204 205 estas especies. Este resultado fue corroborado por Sedano y Burns (2010) quienes sugirieron que estas especies diversificaron durante los últimos 800,000 años, 206 probablemente como respuesta a las oscilaciones climáticas del Pleistoceno. A nivel 207 filogeográfico, poblaciones de T. cayana distantes c. 1800 km entre el Cerrado 208 209 brasileño y boliviano presentan niveles de divergencia bajos (1.09%) a nivel de ADN mitocondrial (Bates et al., 2003). Sin embargo, recientemente Savit y Bates (2015) 210 encontraron un mayor nivel de estructura genética a lo largo de la distribución 211 212 circun-Amazónica de la especie. Adicionalmente, el patrón filogeográfico de T. cayana sugiere un origen en el sur, el cual probablemente fue en el Cerrado 213 214 brasileño, con una posterior expansión hacia el oeste a través de Bolivia, siguiendo los bosques secos a lo largo de la base de los Andes hasta alcanzar Guyana y el 215 216 norte de Brasil. Las poblaciones del noreste posteriormente se expandieron hacia el sur en la costa de Pernambuco, Brasil completando la distribución actual. No 217

obstante, hasta el momento ningún estudio ha evaluado el origen y patrones de
estructura genética de las poblaciones de los Llanos colombianos y venezolanos.
En este sentido, el presente estudio plantea reconstruir las relaciones
filogeográficas de *T. cayana* a lo largo de su distribución geográfica, con un especial
énfasis en los patrones de estructura genética de las poblaciones de la Orinoquia
colombiana.

224

225 **METODOLOGIA**

226

227 Muestreo taxonómico y geográfico

228 Se obtuvieron 37 muestras de tejidos y pata de T. cayana de la Orinoquia colombiana, colectados durante este estudio y también disponibles en varios 229 230 museos y colecciones de tejidos en Colombia. El muestreo abarca una cobertura representativa de la mayor parte de la distribución de la especie en la Orinoquia 231 232 colombiana (Hilty y Brown, 1986). También se obtuvieron dos secuencias de Santa Cruz, Bolivia y seis secuencias adicionales de T. c. cayana de Brasil y Bolivia 233 disponibles en el GenBank para un total de 45 individuos analizados. (ver Anexo 1 234 y 2). 235

236 Extracción de ADN, PCR y secuenciación

Para la extracción de ADN se usó músculo pectoral y tejido de pata de especímenes 237 de museo con el método de Chelex-100 (Sigma-Aldrich, USA). Posteriormente, se 238 amplificó el gen mitocondrial ND2 (subunidad 2 de la deshidrogenasa NADH, 1041 239 pb) usando la combinación de primers L5215 y H6313 (Sorenson et al., 1999). Este 240 gen ha demostrado proveer una alta resolución y variabilidad a nivel de estudios 241 poblacionales de aves de tierras bajas húmedas (Miller et al., 2011; Burney y 242 Brumfield, 2009) y ecosistemas áridos (Zink et al., 2001, 2005; Kearns et al., 2009). 243 En la amplificación del ADN se usó un volumen final de 25µl, con las siguientes 244 245 concentraciones de reactivos: 1 µL de ADN mayor de 50 ng/mL aproximadamente, 2.5 µL de 10X, 2.5 µL de dNTP a 002mM, 3 µL de MgCl2, a 3mM, de cada primer 246 1.2 µL al 10%, y 0,25µL de Tag ADN polimerasa (Thermo Scientific). El protocolo 247 de amplificación siguió a Cadena et al. (2007). Con el fin de confirmar la efectividad 248

de la PCR, los productos de ésta fueron visualizados mediante electroforesis. Los
fragmentos amplificados fueron limpiados usando el Kit de limpieza de PCR Thermo
Scientific (Fermentas). Finalmente, los productos de PCR se enviaron a secuenciar
a Macrogen Inc., Corea del Sur (www.macrogen.com).

253

254 Análisis filogeográficos

Las secuencias de ADN fueron editadas, ensambladas y finalmente alineadas en el
software Geneious Pro 8.1. usando el algoritmo Muscle (Drummond *et al.,* 2008).
Para confirmar la identidad de las secuencias se usó la aplicación BLAST
(www.blast.ncbi.nlm.nih.gov).

259

Las relaciones filogenéticas fueron reconstruidas mediante los métodos de Máxima 260 261 Verosimilitud (ML) e Inferencia Bayesiana (IB). Los análisis de ML se realizaron a través del algoritmo RAxML v7.3.1 (Stamatakis et al., 2008) accediendo a través de 262 263 CIPRES science Gateway v3.1 (Miller et al., 2010). El árbol más verosímil y 1000 réplicas de bootstrap fueron estimadas simultáneamente bajo un análisis no 264 particionado y el modelo de sustitución nucleotídica GTR+I+G de acuerdo al criterio 265 AIC implementado en Modeltest 3.7 (Posada y Crandall, 1998). Los soportes de los 266 267 nodos fueron computados en Paup 4.0 (Swofford 2003).

268

Para el análisis de inferencia bayesiana se usó la herramienta MrBayes on XSEDE 269 a través de CIPRES science Gateway v3.1 (Miller et al., 2011). El análisis fue corrido 270 271 bajo el modelo de sustitución nuecleotídica GTR+I+G de acuerdo al criterio AIC implementado en MrModeltest 2.2 (Nylander, 2004). El análisis Incluyó doble 272 partición de codones y seis cadenas MCMC de 20 millones de generaciones, las 273 cuales fueron muestreadas cada 2000 generaciones. Para evaluar la convergencia 274 entre las cadenas y examinar los valores efectivos del tamaño de muestra para 275 276 todos los parámetros se utilizó Tracer v 1.6 (Rambaut y Drummond, 2007).

Con el objetivo de estimar los tiempos de divergencia a lo largo de la filogenia se
generó un árbol en el programa BEAST v.1.8.1 (Rambaut y Drummond, 2007) a
través de la herramienta BEAST2 on XSEDE de CIPRES science Gateway v3.1

(Miller et al., 2011). Este análisis fue corrido asumiendo un modelo de sustitución 280 molecular GTR+I+G, sin partición de codones, un modelo de especiación de tamaño 281 282 constante coalescente, un árbol UPGMA de inicio y un modelo de reloj molecular relajado (uncorrelated lognormal). El modelo de reloj molecular se estimó a partir de 283 distribución 284 una logarítmica normal con una media de 0.0125 sustituciones/sitio/linaje/millones de años (SD = 0,1), y una distribución previa 285 286 suficientemente amplia para incluir una tasa de divergencia de 2,1% por millón de años (Weir y Schluter, 2008). El análisis fue corrido por 40 millones de generaciones 287 muestreando cada 2000 generaciones. Los parámetros de convergencia y 288 estacionalidad de las cadenas de MCMC se examinaron en Tracer 1.6 (Rambaut y 289 290 Drummond, 2007). Todos los parámetros obtuvieron valores de tamaño de muestra efectivos (ESS) mayores 200, sugiriendo un buen muestreo a lo largo de las 291 292 cadenas. El árbol de máxima credibilidad fue estimado después de descartar los primeros cuatro millones de generaciones y 2000 árboles como burn-in. 293

294

Dada la baja divergencia genética encontrada entre las poblaciones (las 295 poblaciones fueron delimitadas por los distritos y se determinaron como unidades 296 de análisis) de T. cavana a lo largo de su distribución, se evaluaron las relaciones 297 298 interpoblaciones mediante una red de haplotipos usando el algoritmo de Median-299 joining en el programa Network v. 4.6.1.3 (Bandelt et al., 1999). Adicionalmente, se calcularon los valores de diversidad nucleotídica y haplotípica para cada población. 300 301 Con el fin de calcular la distribución geográfica de la variación genética dentro y entre poblaciones, se realizó un análisis de varianza molecular (AMOVA) y de 302 303 estimación de distancias genéticas poblacionales «pairwise» Fst en los programas Arlequin 3.11 (Excoffier, Laval y Schneider, 2005) y DNAsp versión 5.10 (Rozas et 304 305 al., 2009), respectivamente. Para la estimación del Fst no se tuvieron en cuenta las poblaciones con una sola secuencia, así mismo algunos distritos fueron unidos 306 307 debido a poco número de muestras. También se examinó si las poblaciones de T. cayana siguen un patrón de aislamiento por distancia, para el cual se realizó la 308 309 prueba no paramétrica de Mantel después de 10,000 aleatorizaciones con el programa AIS (Miller 2005). 310

311 Para evaluar las posibles desviaciones del modelo neutral de Wright-Fisher e indicar una posible expansión o contracción demográfica en el pasado de T. cayana 312 se calcularon los estadísticos D de Tajima, Raggedness, Fu's Fs y R2. Además, se 313 estimó una distribución de diferencias nucleotídicas pareadas (Mismatch 314 distribution) en el programa DnaSP versión 5.10 (Rozas et al., 2009). Estos 315 resultados fueron contrastados con un análisis Skyride plot Bayesiano (Minin et al., 316 317 2008) implementado en BEAST v.1.8.1. (Drummond y Rambaut 2007), el cual tiene como finalidad representar las fluctuaciones en el tamaño de la población de T. 318 cayana a través del tiempo. Este análisis fue corrido por 10 millones de 319 generaciones muestreando cada 1000 generaciones y descartando el primer millón 320 321 de generaciones como burn-in. Además, se empleó el modelo de sustitución nucleótidica GTR+I+G que fue seleccionado como el mejor ajuste a los datos de 322 323 acuerdo con el criterio AIC implementado en Mr. Modeltest 2.2 (Nylander, 2004). El análisis utilizó una tasa de sustitución del 2,1% por cada millón de años (Weir y 324 325 Schluter, 2008).

326

327 **RESULTADOS**

328

329 Análisis filogenéticos

Los análisis incluyeron secuencias completas para 40 individuos y cinco muestras
del Genbank que constaron de 373 pb pertenecientes a cuatro individuos de Amapá,
Brasil y uno de Santa Cruz, Bolivia. En conjunto, para la matriz de ND2 se
encontraron 38 sitios variables y 22 sitios parsimoniosamente informativos.

334

Los análisis de máxima verosimilitud (ML), inferencia Bayesiana (IB) y el árbol ultramétrico (BEAST) presentaron topologías similares. Las tres filogenias indican que *T. cayana* hace parte de un clado con alto soporte (Probabilidad posterior = 1.0; bootstrap = 100% en este orden de aquí en adelante) junto con *T. cucullata* y *T. vitriolina. T. cucullata* es una especie monofilética y el grupo hermano de *T. cayana*, aunque la filogenia de IB generó una separación entre los individuos de *T. cucullata* ésta no fue soportada por el análisis de ML. Aun así, el árbol BEAST indicó que *T. cayana* y *T. cucullata* son especies hermanas.

343

En el caso de T. cayana las topologías muestran que T. cayana es monofilética, 344 aunque el soporte fue bajo (0.7; 54%). Dentro de T. cayana se encontraron dos 345 clados bien soportados. El clado más basal agrupa las poblaciones de Bolivia (1.0; 346 347 91%), mientras el segundo agrupa poblaciones de Colombia y Brasil (0.98; 80%). Este clado colombo-brasileño se divide en dos clados uno con algunos individuos 348 349 de Sabanas altas, piedemonte meta, piedemonte Casanare-Arauca y Caquetá (1.0; 94%) y el otro con los individuos de Brasil, Piedemonte Meta, Casanare, 350 351 Cundinamarca y Maipures (0.97; 63%) (Figs.2A y 3).

352

353 Estructura geográfica y diversidad genética

354

355 En total, las muestras analizadas para *T. cayana* incluyen 10 haplotipos, los cuales están distribuidos según la red de haplotipos (Fig. 2B) en tres haplogrupos que 356 coinciden con los clados descritos anteriormente en las filogenias. Los haplogrupos 357 delimitados corresponden a grupos de haplotipos que están distantes entre sí con 358 más de cinco pasos mutacionales, además un punto central entre ellos. El primer 359 haplogrupo incluye dos haplotipos de Bolivia. El segundo haplogrupo incluye 10 360 haplotipos de Brasil y del norte y este de la Orinoquia colombiana. El tercer 361 362 haplogrupo incluye 3 haplotipos del sur de la Orinoguia colombiana y Amazonas. El haplogrupo boliviano incluye un único haplotipo. Brasil presenta dos haplotipos, uno 363 364 es único y el otro es compartido con dos poblaciones de Colombia (Casanare y 365 Maipures). A nivel de la Orinoquia se presentan ocho haplotipos de los cuales Cundinamarca presenta un haplotipo único, otro es compartido por Piedemonte 366 Meta, Sabanas altas, Casanare y Brasil y los seis restantes son compartidos entre 367 368 Sabanas altas, Casanare, Maipures y Caquetá (Tabla 1). Esta mezcla de haplotipos entre poblaciones de la Orinoquia sugiere que la variación genética no concuerda 369 370 con la delimitación delos distritos biogeográficos (Fig. 2B). Así mismo el AMOVA indicó que la mayor parte de la variación genética (c. 48%) reside dentro de las 371

poblaciones (Tabla 2), confirmando la poca estructura genética de la especie a lo
largo de la Orinoquia colombiana. Los valores de diferenciación genética Fst reflejan
relaciones similares a las encontradas en las topologías de ML, IB y la red de
haplotipos, en donde se encuentra mayor estructura entre las poblaciones de Bolivia
y el Cerrado brasileño (0.97-0.95), seguido de las poblaciones de Bolivia y Colombia
(0.15-0.25), y del Cerrado Brasileño y Colombia (0.05-0.15). Dentro de la Orinoquia
colombiana el nivel de estructura genética fue bajo (0-0.05) (Tabla 3).

379

La prueba de Mantel para las poblaciones colombianas no mostró una correlación entre la distancia genética y la distancia geográfica (r= 0.05, p=0.24). Por otro lado, incluyendo las secuencias de Colombia, Brasil y Bolivia se encontró una correlación positiva y significativa entre la distancia genética y la distancia geográfica (r= 0.85, p= 0.0010), lo cual es un efecto de la mayor divergencia de las poblaciones de Bolivia y Brasil respecto a las poblaciones de Colombia (Fig. 4).

386

Por otro lado, los valores de diversidad haplotípica (Hd=0.823) y diversidad 387 nucleotídica (π =0.006) fueron más altos para las poblaciones en Colombia que para 388 la población de Brasil (Hd=0.5; π =0.001). Para la población de Bolivia no se 389 390 calcularon los valores de diversidad genética debido a que todas las muestras presentan un mismo haplotipo. Los mayores valores de las poblaciones 391 colombianas probablemente son el efecto de un mayor número de muestras 392 393 comparado con las otras regiones comparadas. A nivel de la Orinoquia se encontró que Maipures y Piedemonte Meta/ Sabanas altas tuvieron la mayor diversidad 394 395 haplotípica (Hd=0.905 y 0.801, respectivamente), mientras que en la población de Casanare fue menor (Hd=0.722). La diversidad nucleotídica las poblaciones del 396 397 Piedemonte del Meta, Sabanas altas y Piedemonte Casanare-Arauca, Casanare fue más alta (π =0.007 y 0.005, respectivamente), mientras Maipures tuvo la menor 398 399 (π=0.003) (Tabla 1).

- 401
- 402

403 Historia demográfica y Tiempos de Divergencia

Los estadísticos D-Tajima, Raggedness, Fu's Fs y R2 para la distribución total de la 404 405 especie fueron no significativos (Tabla 4) lo cual sugiere que T. cayana ha mantenido una historia demográfica estable. Así mismo, el análisis de distribución 406 407 de diferencias pareadas (mismatch) mostró una curva multimodal con frecuencias en valores relativamente bajos (Fig. 5A), lo cual indica que, aunque la variabilidad 408 409 genética es baja, hay haplotipos distintos, pero distribuidos en forma homogénea a lo largo de la distribución. Así mismo, el análisis Skiride plot mostró que la especie 410 ha mantenido un tamaño poblacional estable desde hace 0.7 Ma (Fig. 5B). 411

412

El análisis de reloj-molecular indicó que *T. cayana* y *T. cucullata* compartieron un ancestro común entre 0.48 y 1.03 Ma (media 0.7 Ma). Dentro de *T. cayana*, la población de Bolivia divergió del clado colombo-brasileño aproximadamente entre 0.25 y 0.59 Ma (media 0.42 Ma). La edad del clado del norte de la Orinoquia colombiana y Brasil oscila entre 0.17 y 0.43 Ma. El clado del sur de la Orinoquia colombiana y Amazonas data de hace 0.04 a 0.2 Ma (Fig. 3).

419

420 DISCUSIÓN

421

422 Origen y Diversificación de *T. cayana*

Las especies más estrechamente relacionados con T. cayana son T. cucullata y T. 423 vitriolina, siendo T. cucullata la especie hermana de T. cayana. El clado de estas 424 425 tres especies divergió dentro de los últimos c.0.8 Ma, cuando los ciclos glaciales del Pleistoceno eran más extremos (García-Moreno y Fjeldsa, 2000; Haffer, 1969), lo 426 cual concuerda con los tiempos estimados en las filogenias publicadas 427 anteriormente para el género Tangara (Burns y Naoki, 2004; Sedano y Burns, 2010, 428 Burns et al., 2014). Burns y Naoki (2004) mencionan que este clado es uno de los 429 430 pocos linajes alopátricos en Tangara que diversificaron en el pleistoceno tardío, al iqual que T. cayana que divergió de su especie hermana (T. cucullata) hace c.0.7 431 Ma. lo cual también indica que *T. cayana* es una especie relativamente joven. Los 432 Andes del norte han sido referidos como el punto de origen del género Tangara 433

434 (Storer, 1970; Isler y Isler, 1999, Burns y Naoki, 2004, Sedano y Burns 2010), siendo
435 la vicarianza el posible promotor de la diversificación del género, seguido por
436 diferentes eventos de dispersión aleatorios que dieron lugar a una mayor
437 diversificación en el grupo en las diferentes regiones Neotropicales.

438

El origen de las distribuciones circum-amazónicas ha sido de gran interés (Savit y 439 Burns, 2015). En el caso de T. cayana se esperaría su área de origen estuviera 440 relacionada con una posición central en la red de haplotipos, además de una mayor 441 442 diversidad genética y un haplotipo más frecuente (Posada y Crandall, 2001). La posición basal del clado boliviano sugiere que la especie probablemente se originó 443 444 en el sur de Bolivia hace aproximadamente 0.42 Ma (Fig. 3). No obstante, debido al limitado muestreo de las poblaciones bolivianas no se encontró soporte a esta 445 446 hipótesis con base en la forma de la red de haplotipos (Fig. 2B) o altos valores de diversidad nucleotídica. 447

En contraste, Savit y Bates (2015) encontraron que la población del sureste de Brasil 448 es la más divergente y basal dentro de la especie, lo cual sugeriría un origen en el 449 sur del Cerrado Brasileño y no en Bolivia como lo indica este estudio. Una posible 450 explicación en cuanto a la incongruencia entre la filogenia de Savit y Bates (2015) y 451 la obtenida en este estudio puede obedecer a la falta de muestras del sureste de 452 Brasil en este último. Ante la ausencia de muestras (secuencias de ND2) del sureste 453 454 brasileño, las poblaciones bolivianas serían en su orden las más basales. 455 Posiblemente, si en este estudio se hubiesen incluido secuencias de ND2 del sur-456 este brasileño se hubiese obtenido una filogenia similar a la de Savit y Bates (2015), 457 dado que los diferentes genes mitocondriales evolucionan como un único grupo de 458 ligamiento (Zink y Barrowclough 2008). En cualquier caso, ambos estudios sugieren que el origen de *T. cayana* posiblemente tuvo lugar en los ecosistemas no boscosos 459 460 al sur de la cuenca del río Amazonas.

Respecto al origen de las poblaciones de la Orinoquia colombiana, Savit y Bates
(2015) no incluyeron muestras de los Llanos colombianos o venezolanos por lo que
no pudieron inferir a partir de cuál población se derivaron las poblaciones del

Orinoco. No obstante, en el presente estudio a pesar que no se contó con un muestreo representativo de las poblaciones circun-amazonicas, los haplotipos compartidos entre Colombia y Brasil sugieren que las poblaciones del Orinoco probablemente derivaron de poblaciones del noreste de Brasil. Aunque un escenario alternativo con un origen desde las poblaciones de la Guyana no puede ser descartado.

La distribución actual y fragmentada de *T. cayana*, sugiere que pudo haber sido más 470 amplia en el pasado y que las poblaciones en áreas en que ahora están aisladas 471 probablemente se establecieron en un momento en el que el hábitat fue adecuado 472 473 y continuo para T. cayana (Mayle 2006). De hecho, Werneck et al. (2012) establecieron modelos paleoecológicos sobre la estabilidad climática del Cerrado 474 brasileño en el que encontraron evidencia en que las sabanas de Cerrado y las 475 sabanas del norte y este del Amazonas eran más amplias y unidas por conexiones 476 477 costeras (último interglaciar), luego entre el último interglaciar y último glaciar las sabanas se redujeron manteniéndose presentes pero aisladas. En el último máximo 478 glaciar, se evidenció una conexión potencial a través de un corredor estrecho en él 479 oriente Andino, entre el último máximo glacial al Holoceno medio, el Cerrado se 480 expandió nuevamente y experimentó cambios menores, hasta llegar a su 481 distribución actual. Igualmente, Savit y Bates (2015) desarrollaron modelos de nicho 482 ambiental, en donde proyectaron modelos paleoclimáticos, encontrando mayor 483 conectividad de hábitat para T. cayana en el último máximo glaciar, disminuyendo 484 en el Holoceno medio hacia el presente, patrón que probablemente facilito la 485 486 dispersión y diversificación desde el sureste de América del Sur a los bosques secos circum-amazónicos. También encontraron un haplotipo ancestral del sur (Bolivia) en 487 488 la población de Guyana lo que puede indicar conectividad histórica a través del arco bosque seco que se distribuye a lo largo de la base de los Andes. 489

490 Estructura Genética Poblacional en la Orinoquia Colombiana

491 El análisis del gen ND2 para *T. cayana* ha revelado baja estructura filogeográfica 492 sobre su amplia distribución, particularmente debido a la amplia mezcla de 493 haplotipos entre las poblaciones de Brasil y Colombia, y dentro de la Orinoquia494 colombiana.

495 A nivel regional *T. cayana* en la Orinoquia Colombiana muestra dos haplogrupos, uno en el norte de la Orinoquia y otro distribuido al sur de la Orinoquia y Amazonas, 496 497 pero con bajos niveles de diferenciación genética. La baja estructura filogeográfica de T. cayana no fue inesperada, debido a la capacidad de dispersión de esta 498 especie. A nivel del Cerrado brasileño y boliviano, Bates et al., (2003) sugirieron dos 499 escenarios evolutivos, no mutuamente excluyentes, para explicar la baja 500 501 variabilidad genética en aves de sabana. El primero es que las aves de zonas abiertas han mantenido niveles más altos de flujo genético que las aves de 502 503 sotobosque, y en segundo lugar que la actual distribución es producto de una rápida expansión poblacional, sin embargo, nuestros resultados de demografía histórica 504 505 para T. cayana no muestra evidencia de una expansión poblacional. Una alternativa 506 sería altos niveles de flujo genético en tiempo reciente (miles de años). A pesar de 507 que no se evaluó el flujo genético entre poblaciones de la Orinoquia, se pueden inferir que son bajos con base en los bajos valores de Fst obtenidos (0-0.05). Otra 508 opción que no es excluyente con la anterior, es el hecho que T. cayana es una 509 especie joven (Pleistoceno tardío) y no ha habido suficiente tiempo para acumular 510 511 diferencias genéticas entre las poblaciones, y también que las condiciones paleoecológicas deben haber permitido el intercambio constante (flujo genético). 512

513 La poca estructura genética encontrada en la Orinoquia puede deberse a que durante los últimos 7260-600 años se presentó una dinámica de expansión y de 514 515 reducción de los bosques de galería y bosque pantanoso de moriche Maurita (Wijmstra y Van der Hammen 1966, Berrio et al. 2002, Marchant et al. 2006), lo cual 516 517 pudo facilitar la expansión de poblaciones Amazónicas a la Orinoquia en tiempo reciente. Sugiriendo que las poblaciones de la Orinoguia han mantenido 518 519 posiblemente niveles de flujo recientes. Así mismo, la baja estructura genética encontrada en la Orinoquia rechaza la influencia de los ríos del Orinoco como 520 521 potenciales barreras al flujo genético en esta especie. Es posible, que los ríos de la Orinoquia colombiana no actúen como barreras efectivas al flujo genético debido a 522 523 su menor caudal comparado con el de los ríos Amazónicos (Naka et al., 2012; Ribas

et al., 2012; Fernándes *et al.,* 2014; Thom y Aleixo, 2015). De hecho, la asociación a ecosistemas abiertos en *T. cayana* sugiere que esta especie tendría una mayor propensión a la dispersión comparado con especies de hábitats boscosos y más estables (Cadena *et al.,* 2010).

528 Conclusión

Los resultados de este estudio sugieren un origen de *T. cayana* al sur de la cuenca 529 del río Amazonas. Las poblaciones de la Orinoquia colombiana probablemente 530 derivaron de poblaciones del noreste del Cerrado brasileño, aunque este origen 531 debe ser confirmado incluyendo un mayor muestreo a lo largo de la distribución de 532 la especie, particularmente de poblaciones del sureste de Brasil y Guyana. Por otro 533 lado, la estructura genética poblacional en la Orinoquia es baja y no concuerda con 534 los distritos biogeográficos propuestos para la región. No obstante, hay dos 535 536 haplogrupos que indicarían cierta diversidad genética a lo largo de la Orinoquia 537 colombiana. Este resultado también respalda la idea de que los ríos de la Orinoquia probablemente no han representado una barrera importante para la dispersión de 538 la especie. Lo cual no es raro dadas las habilidades de dispersión de la misma. 539 540 Probablemente, las oscilaciones climáticas del Pleistoceno tardío son responsables 541 de la presencia actual de la especie en la Orinoquia, así como de la baja variabilidad en la región, al favorecer la expansión de las sabanas y por ende la homogenización 542 543 de las poblaciones. Los resultados y conclusiones de este estudio pueden ser complementados con la inclusión de marcadores moleculares de mayor resolución 544 545 poblacional, así como con la evaluación de la estructura filogeográfica de otras especies asociadas al ecosistema de sabana. 546

547 **AGRADECIMIENTOS**

Agradecemos a las siguientes instituciones y los diferentes colectores de las colecciones ornitológica de las muestras que hemos citado en este documento, el Museo de Historia Natural Unillanos (MHNU), el Instituto Alexander von Humboldt (IAvH), Instituto de Ciencias Naturales (ICN) y Museo de Historia natural Andes (Andes-BT), También damos las gracias a María del Socorro Sierra (IAvH), Ana 553 Maria Umaña (IAvH) y a Enrique Arbeláez-C. (IAvH) quien facilitó el préstamo de las muestras de tejido. A. M. Cuervo, Andrea Morales Rozo y Jorge Atswood 554 proporcionaron comentarios útiles en las diferentes etapas de elaboración del 555 proyecto y el manuscrito final. El trabajo de laboratorio fue desarrollado en los 556 laboratorios del Grupo de investigación en Reproducción y Genética Animal 557 (GIRGA) del programa de pregrado de Medicina Veterinaria y Zootecnia, y el 558 559 laboratorio de Biología Molecular del Centro de Recursos Genéticos de la Facultad de Ciencias Básicas e Ingeniería de la Universidad de Los Llanos. Este trabajo fue 560 561 financiado por la Dirección de Investigaciones de la Universidad de los Llanos (Proyecto FCBI-1-2013). Las salidas de campo fueron financiadas por la 562 563 Universidad de los Llanos como parte de salidas docentes.

564

565 **REFERENCIAS**

Antonelli, A., Quijada-Mascareñas, A., Crawford, A. J., Bates, J. M., Velazco, P. M.,
& Wüster, W. (2010). Molecular studies and phylogeography of Amazonian
tetrapods and their relation to geological and climatic models. *Amazonia, landscape and species evolution: a look into the past*, 386-404.

570

571 Aleixo Alexandre. (2004). Historical diversification of a terra-firme forest bird 572 superspecies: a phylogeography perspective on the role of different hypotheses of 573 Amazonian diversification. *Evolution*, 58(6), pp. 1303-1317.

574

575 Avila-Pires, T. C. (1995). Lizards of brazilian amazonia (Reptilia: Squamata). 576 *Zoologische verhandelingen*, *299*(1), 1-706.

577

578 Bandelt, H.-J., Forster, P., Rohl, A. (1999). Median-joining networks for inferring 579 intraspecific phylogenies. Mol. Biol. Evol. 16, 37–48.

580

Bates, J. M., Tello, J. G., & Silva, J. M. C. (2003). Initial assessment of genetic
diversity in ten bird species of South American Cerrado. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 38(2), 87-94.

Late-Quaternary savanna history of the Colombian Llanos Orientales from Lagunas 586 Chenevo and Mozambigue: a transect synthesis. The Holocene, 12(1), 35-48. 587 588 Burney, C. W., & Brumfield, R. T. (2009). Ecology predicts levels of genetic 589 differentiation in Neotropical birds. The American Naturalist, 174(3), 358-368. 590 591 Burns, K. J., & Naoki, K. (2004). Molecular phylogenetics and biogeography of 592 Neotropical tanagers in the genus Tangara. Molecular phylogenetics and 593 594 evolution, 32(3), 838-854. 595

Berrio, J. C., Hooghiemstra, H., Behling, H., Botero, P., & Van der Borg, K. (2002).

Burns, K. J., Shultz, A. J., Title, P. O., Mason, N. A., Barker, F. K., Klicka, J., ... &
Lovette, I. J. (2014). Phylogenetics and diversification of tanagers (Passeriformes:
Thraupidae), the largest radiation of Neotropical songbirds. *Molecular phylogenetics and evolution*, *75*, 41-77.

600

Bush, M. B. (1994). Amazonian speciation: a necessarily complex model. *Journal of Biogeography*, 5-17.

603

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). *Molecular phylogenetics and evolution*, *44*(3), 993-1016.

608

Cadena, C. D., Gutiérrez-Pinto, N., Dávila, N., & Chesser, R. T. (2011). No
population genetic structure in a widespread aquatic songbird from the
Neotropics. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *58*(3), 540-545.

612

Capurucho, J. M. G., Cornelius, C., Borges, S. H., Cohn-Haft, M., Aleixo, A.,
Metzger, J. P., & Ribas, C. C. (2013). Combining phylogeography and landscape

- genetics of Xenopipo atronitens (Aves: Pipridae), a white sand campina specialist,
 to understand Pleistocene landscape evolution in Amazonia. *Biological Journal of the Linnean Society*, *110*(1), 60-76.
- 618

Colinvaux, P. (1993). Pleistocene biogeography and diversity in tropical forests of
South America. *Biological Relationships between Africa and South America (P. Goldblatt, Ed. Yale University Press, New Haven, Connecticut,* Pages 473–499).

622

d'Horta, F. M., Cuervo, A. M., Ribas, C. C., Brumfield, R. T., & Miyaki, C. Y. (2013).
Phylogeny and comparative phylogeography of Sclerurus (Aves: Furnariidae) reveal
constant and cryptic diversification in an old radiation of rain forest understorey
specialists. *Journal of Biogeography*, *40*(1), 37-49.

627

Da Silva, J. M. C., & Bates, J. M. (2002). Biogeographic Patterns and Conservation in the South American Cerrado: A Tropical Savanna Hotspot the Cerrado, which includes both forest and savanna habitats, is the second largest South American biome, and among the most threatened on the continent. *BioScience*, *52*(3), 225-234.

633

Drummond, A. J., Suchard, M. A., Xie, D., & Rambaut, A. (2012). Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular biology and evolution*, *29*(8), 1969-1973.

637

Drummond, A. J., B. Ashton, M. Cheung, J. Heled, M. Kearse, R. Moir, S. StonesHavas, T. Thierer, and A. Wilson. (2008). Geneious v4.0, Available from
http://www.genious.com.

641

Drummond, A. J., A. Rambaut. (2007). BEAST: Bayesian evolutionary analysis
sampling trees. BMC Evolutionary Biology 7:214.

645	Edwards, E. J., Osborne, C. P., Strömberg, C. A., & Smith, S. A. (2010). The origins
646	of C4 grasslands: integrating evolutionary and ecosystem
647	science. <i>science</i> , <i>328</i> (5978), 587-591.
648	
649	Excoffier, L., Laval, G., Schneider, S. (2005). Arlequin (version 3.0): an integrated
650	software package for population genetics data analysis. Evol. Bioinform. Online 1,
651	47–50.
652	
653	Fernandes, A., Cohn-Haft, M., Hrbek, T., & Farias, I. 2014. Rivers acting as barriers
654	for bird dispersal in the Amazon. Revista Brasileira de Ornitologia-Brazilian Journal
655	of Ornithology, 22(4), 363-373.
656	
657	García-Moreno, J., & Fjeldså, J. (2000). Chronology and mode of speciation in the
658	Andean avifauna. Bonn. Zool. Monogr, 46, 25-46.
659	
660	Haffer, J. (1967). Zoogeographical notes on the "nonforest" lowland bird faunas of
661	northwestern South America. Hornero 10:315-333
662	
663	Haffer, J. (1969). Speciation in Amazonian forest birds. Science 165:131-137.
664	
665	Haffer J. (2001). Hypotheses to explain the origin of species in Amazonia. Vieira
666	ICG, Silva JMC, Oren DC, D'Incao MA, eds. Biological and Cultural Diversity in
667	Amazonia. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi. 45-118.
668	
669	Hernández-Camacho, J., Hurtado, A., Ortiz, R., & Walschburger, T. (1992).
670	Unidades biogeográficas de Colombia. La diversidad biológica de Iberoamérica.(G.
671	Halffter, ed.). Acta Zoológica Mexicana. Instituto de Ecología, AC México, 105-151.
672	
673	Hilty, S. L., & Brown, B. (1986). A guide to the birds of Colombia. Princeton University
674	Press.
675	

- Hoorn, C., Wesselingh, F. P., Ter Steege, H., Bermudez, M. A., Mora, A., Sevink, J.,
 ... & Jaramillo, C. (2010). Amazonia through time: Andean uplift, climate change,
 landscape evolution, and biodiversity. *science*, *330*(6006), 927-931.
- 679

Isler M.L. & Isler P.R. (1999) Tanagers. Smithsonian Institution Press, Washington
D.C., U.S.A.

682

Kearns, A. M., Joseph, L., Edwards, S. V., & Double, M. C. (2009). Inferring the
phylogeography and evolutionary history of the splendid fairy-wren Malurus
splendens from mitochondrial DNA and spectrophotometry. *Journal of Avian Biology*, *40*(1), 7-17.

687

Marchant, R., Berrío, J. C., Behling, H., Boom, A., & Hooghiemstra, H. (2006).
Colombian dry moist forest transitions in the Llanos Orientales—a comparison of
model and pollen-based biome reconstructions. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology, 234*(1), 28-44.

692

Mayle, F. E. (2006). 17 The Late Quaternary. Neotropical Savannas and Seasonally
Dry Forests: Plant Diversity, Biogeography, and Conservation, 395.

695

Matos, M. V., Borges, S. H., d'Horta, F. M., Cornelius, C., Latrubesse, E., Cohn-Haft,
M., & Ribas, C. C. (2016). Comparative Phylogeography of Two Bird Species,
Tachyphonus phoenicius (Thraupidae) and Polytmus theresiae (Trochilidae),
Specialized in Amazonian White-sand Vegetation. *Biotropica*, *48*(1), 110-120.

- Miller, M. P. (2005) Alleles In Space: Computer software for the joint analysis of
 interindividual spatial and genetic information. Journal of Heredity 96:722-724
- Miller, M. J., Bermingham, E., Klicka, J., Escalante, P., do Amaral, F. S. R., Weir, J.
 T., & Winker, K. (2008). Out of Amazonia again and again: episodic crossing of the

- Andes promotes diversification in a lowland forest flycatcher. Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences, 275(1639), 1133-1142.
- 708

Miller, M. A., Pfeiffer, W., & Schwartz, T. (2010). "Creating the CIPRES Science
Gateway for inference of large phylogenetic trees" in Proceedings of the Gateway
Computing Environments Workshop (GCE), 14 Nov. 2010, New Orleans, LA pp. 18)

713

Miller, MJ, Lelevier, MJ, Bermingham, E., Klicka, JT, Escalante, P., y Winker, K.
(2011). Filogeografía del colibrí de cola rufa (Amazilia tzacatl). El Cóndor ,113 (4),
806-816.

717

Mittermeier, R. A., Mittermeier, C. G., Brooks, T. M., Pilgrim, J. D., Konstant, W. R.,
Da Fonseca, G. A., & Kormos, C. (2003). Wilderness and biodiversity
conservation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *100*(18), 1030910313.

722

Moritz, C., Patton, J. L., Schneider, C. J., & Smith, T. B. (2000). Diversification of rainforest faunas: an integrated molecular approach. *Annual review of ecology and systematics*, 533-563.

726

Naka, L. N., Bechtoldt, C. L., Henriques, L. M. P., & Brumfield, R. T. (2012). The role
of physical barriers in the location of avian suture zones in the Guiana Shield,
northern Amazonia. *The American Naturalist*, *179*(4), E115-E132.

730

Nores, M. (1999). An alternative hypothesis for the origin of Amazonian bird diversity. *Journal of Biogeography* 26:475–485.

733

Nylander, J.A.A. (2004). MrModeltest v2. Program distributed by the author.
Evolutionary Biology Centre, *Uppsala University*, *Uppsala*.

- Posada, D., & Crandall, K. A. (2001). Intraspecific gene genealogies: trees grafting
 into networks. *Trends in Ecology & Evolution*, *16*(1), 37-45.
- 739

740 Rambaut, A., Drummond, A.J. (2007). Tracer v1.4

Remsen, J. V., Rocha, O., Schmitt, C. G., & Schmitt, D. C. (1991). Zoogeography

and geographic variation of Platyrinchus mystaceus in Bolivia and Peru, and the

circum-Amazonian distribution pattern. Ornitol. Neotrop, 2, 77-83.

744

Ribas, C. C., Aleixo, A., Nogueira, A. C., Miyaki, C. Y, & Cracraft, J. (2011). A
palaeobiogeographic model for biotic diversification within Amazonia over the past
three million years. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, rspb20111120.

749

Ribas, C. C., A. Aleixo, A. C. R. Nogueira, C. Y. Miyaki, and J. Cracraft. (2012). A
palaeobiogeographic model for biotic diversification within Amazonia over the past
three million years. Proceedings of the Royal Society of London, Series B 279:681–
689.

754

Rull, V. (2008). Speciation timing and neotropical biodiversity: the Tertiary–
Quaternary debate in the light of molecular phylogenetic evidence. *Molecular Ecology*, *17*(11), 2722-2729.

758

Rull, V. (2011). Neotropical biodiversity: timing and potential drivers. *Trends in Ecology & Evolution*, *26*(10), 508-513.

761

Sandel, B., Arge, L., Dalsgaard, B., Davies, R. G., Gaston, K. J., Sutherland, W. J.,
& Svenning, J. C. (2011). The influence of Late Quaternary climate-change velocity

on species endemism. *Science*, *334*(6056), 660-664.

765

Sarmiento, G. (1983). The savannas of tropical America. ECOSYSTEMS OF THE
 WORLD. 1983.

768	SAVIT, A. Z., & BATES, J. M. (2015). Right around the Amazon: the origin of the
769	circum-Amazonian distribution in Tangara cayana. Folia Zoologica, 64(3).
770	Sedano, R. E., & Burns, K. J. (2010). Are the Northern Andes a species pump for
771	Neotropical birds? Phylogenetics and biogeography of a clade of Neotropical
772	tanagers (Aves: Thraupini). Journal of Biogeography, 37(2), 325-343.
773	Sick, H. (1967). Rios e enchentes na Amazônia como obstáculo para a avifauna.
774	In Atas do simpósio sobre a biota amazônica (Vol. 5, pp. 495-520).
775	Smith, B. T., McCormack, J. E., Cuervo, A. M., Hickerson, M. J., Aleixo, A., Cadena,
776	C. D., & Brumfield, R. T. (2014). The drivers of tropical speciation. Nature.
777	
778	Sorenson, M. D., Ast, J. C., Dimcheff, D. E., Yuri, T., & Mindell, D. P. 1999. Primers
779	for a PCR-based approach to mitochondrial genome sequencing in birds and other
780	vertebrates. Molecular phylogenetics and evolution, 12(2), 105-114.
781	
782	Storer, N. W. (1970). INTERNATIONALITY OF SCIENCE AND NATIONALITY OF
783	SCIENTISTS. International Social Science Journal, 22(1), 80-93.
784	
785	Stotz, D. F., Fitzpatrick, J. W., Parker III, T. A., & Moskovits, D. A. (1996). Neotropical
786	birds: ecology and conservation University of Chicago Press. Chicago and London.
787	
788	Swofford, D. L. (2003). PAUP* 4.0b10: Phylogenetic Analysis using Parsimony (*
789	and other methods). Sinnauer, Sunderland.
790	
791	Thom, G., & Aleixo, A. (2015). Cryptic speciation in the white-shouldered antshrike
792	(Thamnophilus aethiops, Aves-Thamnophilidae): The tale of a transcontinental
793	radiation across rivers in lowland Amazonia and the northeastern Atlantic
794	Forest. Molecular phylogenetics and evolution, 82, 95-110.
795	

796	Vale, M. M., COHN-HAFT, M. A. R. I. O., Bergen, S., & Pimm, S. L. (2008). Effects
797	of future infrastructure development on threat status and occurrence of Amazonian
798	birds. Conservation Biology, 22(4), 1006-1015.
799	
800	Wallace, A. R. (1854). On the monkeys of the Amazon. Journal of Natural History,
801	14(84), 451-454.
802	
803	Wallace, A. R. (1876) The Geographical Distribution of Animals (Harper and
804	Brothers, New York), Vol. 1.
805	
806	Webb, S. D. (1991). Ecogeography and the great American interchange.
807	Paleobiology, 266-280.
808	
809	Weir, J. T., & Schluter, D. (2008). Calibrating the avian molecular clock. Molecular
810	<i>ecology</i> , <i>17</i> (10), 2321-2328.
811	
812	Werneck, F. P., Nogueira, C., Colli, G. R., Sites, J. W., & Costa, G. C. (2012).
813	Climatic stability in the Brazilian Cerrado: implications for biogeographical
814	connections of South American savannas, species richness and conservation in a
815	biodiversity hotspot. Journal of Biogeography, 39(9), 1695-1706.
816	
817	Wiens, J. J., & Donoghue, M. J. (2004). Historical biogeography, ecology and
818	species richness. Trends in ecology & evolution, 19(12), 639-644.
819	
820	Wijmstra, T. A., & Van der Hammen, T. (1966). Palynological data on the history of
821	tropical savannas in. Leidse Geologische Mededelingen, 38, 71.
822	
823	WWF (2010) World Wildlife Foundation: The Orinoco Basin.
824	http://wwf.panda.org/who we are/wwf offices/colombia/wwf colombia conservati
825	on/orinoco_basin/
826	

- Zink, R. M., Kessen, A. E., Line, T. V., & Blackwell-Rago, R. C. (2001). Comparative
 phylogeography of some aridland bird species. *The Condor*, *103*(1), 1-10.
- Zink, R. M., Rising, J. D., Mockford, S., Horn, A. G., Wright, J. M., Leonard, M., &
 Westberg, M. C. (2005). Mitochondrial DNA variation, species limits, and rapid
 evolution of plumage coloration and size in the Savannah Sparrow. *The condor*, *107*(1), 21-28.
- 834
- Zink, R. M., & Barrowclough, G. F. (2008). Mitochondrial DNA under siege in avian
- 836 phylogeography. *Molecular ecology*, *17*(9), 2107-2121.
- 837
- 838



Figura 1. Mapa que representa los distritos biogeográficos de la Orinoquia colombiana

propuesto por Hernández-Camacho et al. (1992), al igual que los puntos de muestreo de *T. cayana.*



Figura 2. A. Filogenia Bayesiana de *T. cayana* y especies relacionadas basada en 844 secuencias del gen ND2. Los números arriba y debajo de las ramas indican valores 845 de probabilidad posterior Bayesiana y soportes de bootstrap, respectivamente B. 846 847 Red de haplotipos de T. cayana indicando la baja estructura filogeográfica dentro principalmente entre las poblaciones de Brasil y Colombia. El tamaño de cada 848 círculo es proporcional al número de individuos portadores de cada haplotipo (los 849 círculos más pequeños corresponden a un individuo); los colores indican las 850 localidades de muestreo y la longitud de cada línea es proporcional al número de 851 sustituciones, las líneas sin numeración equivalen a uno. 852



Figura 3. Árbol ultramétrico generado en BEAST, representando la topología consenso de inferencia Bayesiana obtenida del gen ND2 para *T. cayana* y el modelo de reloj molecular relajado (uncorrelated lognormal). Los números en ramas indican la probabilidad posterior Bayesiana. Las barras azules en los nodos muestran el intervalo de 95% de credibilidad posterior de las estimaciones de tiempo medio de divergencia, en millones de años (Ma).



Figura 4: Relación entre la distancia genética y la distancia geográfica que separa
a las poblaciones de *T. cayana*; A. para las poblaciones *T. cayana* en la Ornoquía
Colombiana y *B.* para las poblaciones *T. cayana* con todas las localidades
(Ornoquía Colombiana, Brasil y Bolivia).

865



Figura 5: Graficas de demografía para el gen ND2 en el clado colombo-brasileño 867 de *T. cavana*: A Gráfica de distribución de diferencias pareadas ("mismatch"), sobre 868 un modelo de crecimiento poblacional. La línea sólida es la distribución esperada y 869 la línea punteada es la distribución observada y B Skyride plot bayesiano es el 870 modelo del tamaño efectivo de la población (la línea indica la estimación media y el 871 área sombreada del intervalo de credibilidad del 95 %) en función del tiempo para 872 la variación del gen ND2 en T. cayana. El tiempo cero es el presente, con el aumento 873 de números que indican el tiempo hacia el pasado en millones de años, de vuelta al 874 ancestro común más reciente. Las grafica sugieren una historia demográfica 875 estable. 876

877

Tabla 1. Resumen estadístico de los valores de diversidad genética entre poblaciones de *T. cayana* en Colombia, Brasil y Bolivia. Número total de individuos (N), número de haplotipos (H), diversidad haplotipica (Hd), diversidad nucleotídica (π), número de sitios variables (S). Para Colombia no se incluyen por separado las poblaciones de Caquetá y Cundinamarca debido a que el número de muestras fue igual 1. Para Bolivia no se estimaron los valores de Hd, π y S debido a que sólo se contó con un solo haplotipo.

Poblaciones	Ν	Н	Hd	π	S
Piedemonte Meta/ sabanas altas	19	6	0.801	0.007	20
Piedemonte Casanare-Arauca/Casanare		5	0.722	0.005	14
Maipures	7	5	0.905	0.003	7
Colombia	37	12	0.823	0.00615	27
Brasil	4	2	0.5	0.001	1
Colombia-Brasil	41	9	0.802	0.009	13
Bolivia	4	1	-	-	-
Total	45	10	0.83	0.010	16

886

Tabla 2. Resultados del análisis de varianza molecular (AMOVA) para Colombia,
Brasil y Bolivia como grupos, las localidades de muestreo como poblaciones. Este
análisis indico que la mayor parte de la variación genética de *T. cayana* reside
dentro de las poblaciones, lo cual confirma la falta de estructura genética en la
especie.

Fuente de variación	D.F.	Suma de cuadrados	Varianza de componentes	% de variación
Entre grupos (Fst)	2	40.003	2.26652	44.40
Entre poblaciones (FSC)	4	18.798	0.37845	7.41
Dentro de las poblaciones (FCT)	38	93.465	245961	48.18
Total	44	152.267	314.400	

894

895

896

897

Tabla 3. Valores de Fst para 5 poblaciones de la distribución general de *T. cayana* 899 estimados mediante los programas Arlequín 3.11) / DNAsp versión 5.10. 900

	Piedemonte Meta/ Sabanas altas	Piedemonte Casanare-Arauca/ Casanare	Maipures	Colombia	Brasil	Bolivia
Piedemonte Meta/ Sabanas altas	0/0					
Piedemonte Casanare-Arauca/ Casanare	0.00988/0	0/0				
Maipures	0.095/0.084	0.043 /0.032	0/0			
Brasil	0.145/0.273	0.217/0.364	0.177/0.239	0.104/0.264	0/0	
Bolivia	0.590/0.711	0.721/0.815	0.8321/0.868	0.607/0.749	0.975/0.952	0/0

901

Tabla 4. Resultados de análisis de demografía Histórica. Los valores de R2, Fu's 902 Fs, Raggedness y D de Tajima, ningún resultado fue significativo (p<0.05) para los

903

intervalos de confianza de cada estimativo. 904

Poblaciones	R2	Fu's Fs	Raggedness	D de Tajima
Piedemonte Meta/Sabanas altas	0.168	4.07	0.082	0.926
Piedemonte Casanare-Arauca/Casanare	0.17	1.362	0.198	0.170
Maipures	0.109	-0.552	0.052	0.690
Colombia	0.1094	0.655	0.055	-0.083
Brasil	0.433	0.172	0.25	-0.612
Colombia-Brasil	0.109	-1.778	0.052	-0.164
Bolivia	-	-	-	-
Total	0.103	-0.084	0.033	-0.427



ANEXO 1. Mapa de localidades de muestreo de *T. cayana* utilizados en este
 estudio, los puntos representan las localidades.

ID Muestra	Taxón	Museo	Localidad
1CAQ	Tangara cayana	IAVH-11467	Colombia, Caquetá, Solano, PNN Serranía de Chiribiquete, Rio Cuñare
2MED	Tangara cayana	MHNU-O-460	Colombia, Cundinamarca, Medina, San Juanito, Fca. San Antonio
3UNIL	Tangara cayana	MHNU-O 340	Colombia, Meta, Villavicencio, Barcelona, Unillanos
4UNIL	Tangara cayana	MHNU-O 341	Colombia, Meta, Villavicencio, Barcelona, Unillanos
5PTOL	Tangara cayana	Andes-BT 889	Colombia, Meta, Pto. Lopez, Cgto. Pachaquiano, (INSTIVAL)
6PTOL	Tangara cayana	Andes-BT 890	Colombia, Meta, Pto. Lopez, Cgto. Pachaquiano, (INSTIVAL)
7MANA	Tangara cayana	MHNU-O 304	Colombia, Meta, Pto. Gaitán, Alto Manacacías, Fca. Manacacías
8MANA	Tangara cayana	MHNU-O 23	Colombia, Meta, Pto. Gaitán, Alto Manacacías, Fca. Manacacías
9MANA	Tangara cayana	MHNU-O 31	Colombia, Meta, Pto. Gaitán, Alto Manacacías, Fca. Manacacías
10MANA	Tangara cayana	MHNU-O 284	Colombia, Meta, Pto. Gaitán, Alto Manacacías, Fca. Manacacías
11MANA	Tangara cayana	MHNU-O 306	Colombia, Meta, Pto. Gaitán, Alto Manacacías, Fca. Manacacías
12MANA	Tangara cayana	MHNU-O 299	Colombia, Meta, Pto. Gaitán, Alto Manacacías, Fca. Manacacías
13MANA	Tangara cayana	MHNU-O 372	Colombia, Meta, Pto. Gaitán, Alto Manacacías, Fca. Manacacías
14MANA	Tangara cayana	MHNU-O 363	Colombia, Meta, Pto. Gaitán, Alto Manacacías, Fca. Manacacías
15MITI	Tangara cayana	MHNU-O 393	Colombia, Meta, Pto. Gaitán, San Miguel, Fca. Mitimiti
16MITI	Tangara cayana	MHNU-O 407	Colombia, Meta, Pto. Gaitán, San Miguel, Fca. Mitimiti
17MITI	Tangara cayana	MHNU-O 421	Colombia, Meta, Pto. Gaitán, San Miguel, Fca. Mitimiti
18MITI	Tangara cayana	Sin Espécimen	Colombia, Meta, Pto. Gaitán, San Miguel, Fca. Mitimiti
19MITI	Tangara cayana	MHNU-O 392	Colombia, Meta, Pto. Gaitán, San Miguel, Fca. Mitimiti
20MITI	Tangara cayana	MHNU-O-479	Colombia, Meta, Pto. Gaitán, San Miguel, Fca. Mitimiti
21MITI	Tangara cayana	MHNU-O-478	Colombia, Meta, Pto. Gaitán, San Miguel, Fca. Mitimiti
22CAGUA	Tangara cayana	MHNU-O 211	Colombia, Casanare, Aguazul, Iguamena, Fca. El Porvenir
23CAGUA	Tangara cayana	MHNU-O 212	Colombia, Casanare, Aguazul, Iguamena, Fca. El Porvenir
24CPAZ	Tangara cayana	IAVH-13546	Colombia, Casanare, Paz de Ariporo, Cgto. La Hermosa, Fca. Nicaragua
25CPAZ	Tangara cayana	IAVH-13598	Colombia, Casanare, Paz de Ariporo, Cgto. La Hermosa, Fca. Nicaragua
26CPAZ	Tangara cayana	IAVH-13605	Colombia, Casanare, Paz de Ariporo, Cgto. La Hermosa, Fca. Nicaragua

ANEXO 2. Lista de muestras de *Tangara cayana* y outgroups utilizadas en es este estudio.

27CPAZ	Tangara cayana	IAVH-13606	Colombia, Casanare, Paz de Ariporo, Cgto. La Hermosa, Fca. Nicaragua
28CPAZ	Tangara cayana	IAVH-13608	Colombia, Casanare, Paz de Ariporo, Cgto. La Hermosa, Fca. Nicaragua
29CPAZ	Tangara cayana	IAVH-13611	Colombia, Casanare, Paz de Ariporo, Cgto. La Hermosa, Fca. Nicaragua
30CPAZ	Tangara cayana	IAVH-13660	Colombia, Casanare, Paz de Ariporo, Cgto. La Hermosa, Fca. Nicaragua
31VTUP	Tangara cayana	IAVH-12755	Colombia, Vichada, Cumaribo, Cgto. Santa Rita,PNN El Tuparro
32VTUP	Tangara cayana	IAVH-12754	Colombia, Vichada, Cumaribo, Cgto. Santa Rita,PNN El Tuparro
33VTUP	Tangara cayana	IAVH-12903	Colombia, Vichada, Cumaribo, Cgto. Santa Rita,PNN El Tuparro
34VTUP	Tangara cayana	IAVH-12772	Colombia, Vichada, Cumaribo, Cgto. Santa Rita,PNN El Tuparro
35VMAT	Tangara cayana	IAVH-14240	Colombia, Vichada, Cumaribo, Cgto. Santa Rita,PNN El Tuparro
36VMAT	Tangara cayana	IAVH-14242	Colombia, Vichada, Cumaribo, Cgto. Santa Rita,PNN El Tuparro
37VMAT	Tangara cayana	IAVH-14451	Colombia, Vichada, Cumaribo, Cgto. Santa Rita,PNN El Tuparro
2cayanaBr	Tangara cayana	MPEG ch216	Brasil, Amapa, Tartarugalzinho, Lago Cujubim.
3cayanaBr	Tangara cayana	MPEG ch233	Brasil, Amapa, Tartarugalzinho, Lago Cujubim.
5cayanaBr	Tangara cayana	MPEG ch234	Brasil, Amapa, Tartarugalzinho, Lago Cujubim.
4cayanaBr	Tangara cayana	MPEG ch235	Brasil, Amapa, Tartarugalzinho, Lago Cujubim.
LSU14840	Tangara cayana	LSUMNS 14840	Bolivia, Santa Cruz, Serrania de Huanchaca
1cayanaBo	Tangara cayana	LSUMNS 15414	Bolivia, Santa Cruz
LSU 13907	Tangara cayana	LSUMNS 13907	Bolivia, Santa Cruz
7cayanaBo	Tangara cayana	LSUMNS 14853	Bolivia, Santa Cruz, Serrania de Huanchaca
Outgroup			
15coereba	Coereba flaveola	Genbank JN568592.1	Caribbean Island of Hispaniola
13tiaris	Tiaris olivacea	UAM JMM912	
12episcop	Thraupis episcopus	FMNH 433904	
11Schisto	Schistochlamys melanopis	LSUMNS B9669	Bolivia, Pando, Nicolas Suarez
10gyrola	Tangara gyrola	LSUMNS 22850	Bolivia, La Paz Prov. B. Saavedra
9Bvitriol	Tangara vitriolina	LSUMNS 34921	Ecuador, Prov. Pichincha, Tumbaco, Avenal, Buena Esperanza
9vitrioli	Tangara vitriolina	LSUMNS 34921	Ecuador, Prov. Pichincha, Tumbaco, Avenal, Buena Esperanza

8cucullat	Tangara cucullata	STRI GR-TCU2	Grenada: 6.5 km SW Grenville	
8Bcuculla	Tangara cucullata	STRI SV-TCU2	St. Vincent: Cumberland Valley	

IAVH-CT= Instituto Alexander von Humboldt, Colección Tejidos, MHNU-O= Museo de Historia Natural Unillanos, Andes-BT= Museo de Historia natural Andes, FMNH= Field Museum of Natural History, STRI= Smithsonian Tropical Research Institute, LSUMNS= Louisiana State University Museum of Natural Science, MPEG= Museu Paraense Emílio Goeldi