

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE ECOLOGÍA



**Variación geográfica genética y morfológica de *Henicorhina leucophrys*
(Aves, Troglodytidae) en Venezuela**

TRABAJO ESPECIAL DE GRADO
Presentado ante la ilustre
Universidad Central de Venezuela
por el Br. Fernando José Machado Stredel
como requisito parcial para optar al título
de Licenciado en Biología.

Tutor: Jorge Luis Pérez Emán

Caracas, Venezuela, Mayo 2015

Índice de Contenidos

AGRADECIMIENTOS	1
RESUMEN.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
ANTECEDENTES.....	10
OBJETIVOS	18
MÉTODOS GENÉTICOS Y MOLECULARES.....	19
MÉTODOS MORFOLÓGICOS.....	22
RESULTADOS	35
DISCUSIÓN.....	55
CONCLUSIONES.....	64
BIBLIOGRAFÍA	65
APÉNDICES.....	73

Índice de Figuras

Figura 1. Distribución geográfica de la familia Troglodytidae y <i>H. leucophrys</i>	7
Figura 2. Ilustraciones de <i>H. leucophrys leucophrys</i> [Colombia, Ecuador y Perú] y de las cinco subespecies presentes en Venezuela. Distribución de los taxa venezolanos.....	9
Figura 3. Hipótesis filogenética de Troglodytidae de los genes Citocromo-b y β -fibrinógeno intrón 4. ...	15
Figura 4. Relaciones filogeográficas de subespecies suramericanas de <i>H. leucophrys</i> con base en análisis de máxima verosimilitud de los genes ATP-sintasa 6y8.	17
Figura 5. Variables morfométricas medidas.....	25
Figura 6. Parches de plumaje diagnósticos considerados para las subespecies de <i>H. leucophrys</i>	28
Figura 7. Montaje experimental utilizado en la toma de fotografías.	30
Figura 8. Toma de datos realizados en el software de análisis de imágenes ImageJ.	32
Figura 9. Espacio de Colores Opuestos para data colorimétrica en el espectro visible.	32
Figura 10. Distribución de los linajes de <i>H. leucophrys</i> encontrados en Venezuela.....	36
Figura 11. Hipótesis filogenética de máxima verosimilitud de poblaciones venezolanas de <i>H. leucophrys</i> para los genes mitocondriales ATP-sintasa 6y8.....	38
Figura 12. Gráficos de caja y bigote de largos de cola, tarso y pico (mm) de los grupos de estudio.	43
Figura 13. Diagrama de agrupamiento del análisis discriminante morfométrico de las subespecies estudiadas.	44
Figura 14. Ordenación y biplot del análisis de componentes principales morfométrico.	45
Figura 15. Gráficos de caja y bigote del brillo de pecho de los grupos de estudio.	48
Figura 16. Gráfico de burbujas de variables de color del <i>Crissum</i> de los linajes evaluados.....	50
Figura 17. Envoltentes convexas del Manto de las subespecies <i>tamae</i> y <i>meridana</i> en el Espacio de Colores Opuestos.	51
Figura 18. Ordenación y biplot del análisis de componentes principales colorimétrico.	52
Figura 19. Diagrama de agrupamiento del análisis discriminante colorimétrico de las subespecies estudiadas.	53
Figura 20. Gráficos de caja y bigote del porcentaje de estrías de garganta de los grupos de estudio.	54
Figura 21. <i>Leapfrog</i> en el estriado de garganta de subespecies suramericanas de <i>H. leucophrys</i>	61

Índice de Tablas

Tabla 1. Muestras utilizadas para los análisis genéticos de <i>H. leucophrys</i> de Venezuela.....	19
Tabla 2. Composición de mezclas de reacción y fases de la amplificación para los genes estudiados.	20

Tabla 3. Medidas de distancia genética entre y dentro de los linajes definidos.	36
Tabla 4. Ejemplares machos adultos de <i>H. leucophrys</i> utilizados en análisis de variación geográfica.	40
Tabla 5. Valores morfométricos medios, desviación estándar y tamaño muestral de las subespecies de <i>H. leucophrys</i> con pruebas de diferencias medias.	41
Tabla 6. Valores morfométricos medios, desviación estándar y tamaño muestral de los linajes de <i>H. leucophrys</i> con pruebas de diferencias medias.	41
Tabla 7. Comparaciones <i>a posteriori</i> de variables morfométricas entre subespecies y entre linajes de <i>H. leucophrys</i>	42
Tabla 8. Comparaciones <i>a posteriori</i> de variables de brillo entre subespecies y entre linajes de <i>H. leucophrys</i>	48
Tabla 9. Comparaciones <i>a posteriori</i> de variables de color entre subespecies y entre linajes de <i>H. leucophrys</i>	50

Índice de Apéndices

Apéndice 1. Códigos de campo (COP) o de acceso (GenBank) de los ejemplares con muestras de tejidos usadas en los análisis moleculares y secuencias de los cebadores utilizados.	73
Apéndice 2. Códigos de catálogo de los ejemplares utilizados en los análisis morfológicos.	75
Apéndice 3. Parámetros de las fotografías (Nikon D3200) calibradas y no calibradas.	76
Apéndice 4. Hipótesis filogenética de máxima verosimilitud de poblaciones de <i>H. leucophrys</i> para ATP-sintasa 6y8.	77
Apéndice 5. Valores morfométricos medios, desviación estándar y tamaño muestral de las subespecies de <i>H. leucophrys</i> según la edad relativa de machos y hembras de este estudio y de descripciones originales.	78
Apéndice 6. Porcentajes de error de medida para variables morfológicas.	80
Apéndice 7. Valores morfométricos medios, desviación estándar y tamaño muestral de las subespecies de <i>H. leucophrys</i> según el sexo de los ejemplares.	81
Apéndice 8. Índices de diagnosticabilidad morfológica para subespecies y linajes.	82
Apéndice 9. Gráficos de caja y bigote del brillo y del porcentaje de estrías de la garganta de machos y hembras de la subespecie <i>tamae</i>	84

AGRADECIMIENTOS

Gracias por el fuego...

EMPER	A	-		T	ERESA
	M	-	O	S	CAR
LESBI	A	-		T	
	M	-		D	IANA
MAN	A	-		T	
JENN	Y	-	JO	S	ELO
JOR	G	E	-	C	
JHONA	T	AN	-	I	V AN
AN	A	-		K	LICKA
	B	-		M	IGUEL
JO	R	GE	-	K	MACHO
FRANCIS	C	O	-	G	ERARDO
	M	ALE	-	LE	S LIE
J	C	-		D	IEGO
	A	LE	-	D	ANIEL
FE	R	-		S	AMU
MARGARI	T	A	-	V	ICKY
NA	H	O	-	M	ARIJULZ
ME	R	E	-	M	ICHELE
PUN	K	E	-	C	RICEL
SIL	V	IA	-	G	RECIA
O	R	I	-	M	ARLENE
ERNES	T	O	-	V	ICTOR
ZAI	D	A	-	R	ENATO
J	A	L	-	H	ERMES
JESU	S	-		M	EG
L	G	M	-	C	HEPI
LE	V	IN	-	PE	D RO

RESUMEN

El análisis de la variación geográfica de una especie permite determinar el grado de diferenciación entre poblaciones y formular hipótesis sobre su origen y mantenimiento. El Cucarachero Selvático, *Henicorhina leucophrys* (Aves, Troglodytidae), cuenta con cinco subespecies que se distribuyen en las montañas al norte de Venezuela. Estas subespecies han sido descritas con base en diferencias sutiles de plumaje, cuya variación individual no ha sido evaluada a fondo. En el presente trabajo se caracterizaron los patrones de diferenciación molecular, morfométrico y de plumaje de las poblaciones de *H. leucophrys* en Venezuela y se contrastaron con la taxonomía actual. En los análisis filogeográficos basados en ADN mitocondrial (ATP-sintasa 6y8) se determinaron siete linajes con una diferenciación genética considerable entre ellos (6-9%), así como patrones de no monofilia para las subespecies *tamae*, *meridana* y *venezuelensis*. Los patrones morfológicos se caracterizaron por una gran variabilidad individual. Sin embargo, se observaron diferencias en largos de cola, tarso y pico y con el uso de análisis colorimétricos, a través de la fotografía digital, se encontraron diferencias de color en la región ventral y en el patrón de estrías de la garganta entre las poblaciones de los Andes y poblaciones del norte de Venezuela (Serranía de Perijá y Cordillera de la Costa). Los patrones fenotípicos encontrados no permiten diagnosticar las poblaciones venezolanas de *H. leucophrys* a nivel subespecífico, pero junto a los resultados moleculares representan un aporte clave para la sistemática y diversificación críptica de la especie en Venezuela.

Palabras claves: Variación geográfica, Aves, Troglodytidae, *Henicorhina leucophrys*, filogeografía, plumaje, morfometría

INTRODUCCIÓN

La variación geográfica de una especie consiste en las diferencias de caracteres genotípicos y/o fenotípicos que se presentan entre sus poblaciones aisladas espacialmente (Mayr, 1963; Zink y Remsen, 1986) o con distribuciones parcialmente solapadas o adyacentes (Endler, 1977). A partir del análisis de la variación geográfica de las especies se puede identificar los patrones espaciales de diferenciación (p.e. clinales), examinar la concordancia o discordancia entre patrones de variación de diferentes tipos de caracteres, determinar el grado de subdivisión entre poblaciones y generar hipótesis de mecanismos y procesos que expliquen su evolución (Zink, 1986; Futuyma, 2005).

La variación geográfica puede originarse por la acción de la selección natural, ya que este mecanismo aumenta el grado al cual las poblaciones están adaptadas a las condiciones locales. Por lo tanto, presiones selectivas que varíen espacialmente pueden generar respuestas adaptativas que resulten en un patrón de diferenciación geográfica. Sin embargo, mecanismos aleatorios como la deriva génica o patrones diferenciales de flujo genético también pueden causar la aparición de variabilidad (Zink, 1986).

Gran parte de los fundamentos de la biología evolutiva se basa en inferencias extraídas del análisis de la variación geográfica y/o en sus predicciones (Gould y Johnston, 1972). De hecho, diversos estudios de patrones de diferenciación entre taxa cercanos contribuyeron al desarrollo de las primeras hipótesis sobre especiación alopátrica (Mayr, 1963) y parapátrica (Endler, 1977), así como a avances importantes en el estudio de patrones de dimorfismo sexual y procesos biológicos como adaptación y aislamiento ecológico (Johnson, 1980; Zink, 1986). En consecuencia, el análisis de la variación geográfica puede revelar aspectos importantes sobre el

origen de las diferencias del fenotipo y el genotipo entre poblaciones (Zink, 1986; Zink y Remsen, 1986).

Las aves presentan características particularmente beneficiosas para los estudios de variación geográfica. Se encuentran en la mayoría de los ambientes gracias a su alta capacidad de movimiento, la distribución de muchas especies es conocida y los patrones de variación geográfica fenotípica (p.e. tamaño, coloración, canto) han sido descritos en diversos taxa (Newton, 2003). No obstante, la mayoría de estos estudios se han realizado en especies de Norteamérica y el Viejo Mundo (Zink y Remsen, 1986; Newton, 2003), a pesar de que Suramérica es considerado el continente que alberga la mayor diversidad de estos vertebrados y de que las tasas actuales de alteración de hábitat amenazan a gran parte de las aves neotropicales (Winker y col., 1996; Rodríguez y Rojas-Suárez, 2008). Por lo tanto, resulta necesario describir los patrones de variación geográfica de las especies de aves neotropicales para brindar aportes a la taxonomía y sistemática (Bock, 1992), formular hipótesis sobre su origen y mantenimiento y tomar mejores medidas para su conservación (p.e. identificación de unidades evolutivas no reconocidas previamente, Becker y col., 2007).

Los caracteres morfológicos obtenidos de ejemplares de museo, en especial el color del plumaje y las características morfométricas, han sido protagonistas en el análisis de la variación geográfica en aves (Zink y Remsen, 1986). La coloración ha sido objeto de múltiples estudios relacionados con la variación geográfica, taxonomía, reconstrucción filogenética, camuflaje, reconocimiento de conespecíficos y selección sexual (McKay, 2013). Sin embargo, los sistemas de clasificación de color han sido tradicionalmente subjetivos, por lo que se ha hecho necesario el desarrollo de métodos de cuantificación colorimétrica que sean independientes de la percepción humana (Endler, 1990; McKay, 2013). Por su parte, los caracteres morfométricos

pueden variar en diferentes ambientes por presiones ecológicas locales, lo que podría limitar su valor al no reflejar la historia evolutiva de los taxa (Cadena y Cuervo, 2010). De cualquier forma, a través de su análisis puede encontrarse información valiosa, en particular en especies en las que hembras y machos muestran el mismo patrón de coloración (Winker y col., 1996).

En décadas recientes el avance en el desarrollo de herramientas bioquímicas y moleculares ha permitido caracterizar la variación genética entre poblaciones. Estas herramientas han permitido medir el grado de diferencia entre secuencias de fragmentos de ADN mitocondrial y/o nuclear (Newton, 2003) y reconstruir la historia evolutiva de grupos genealógicos (linajes) con base en el principio de un ancestro común (Zink y Remsen, 1986; Newton, 2003). La disciplina que estudia los principios y procesos que determinan la distribución de dichos linajes evolutivos, especialmente entre y dentro de especies cercanas, se denomina filogeografía (Avice, 2000). A través de estos análisis moleculares se han descubierto patrones de variación concordantes o discordantes con respecto a aquellos obtenidos en estudios morfológicos, con lo que se han comprobado hipótesis previas o se ha hecho necesario investigar a fondo las diferencias reveladas, encontrándose en ocasiones poblaciones sólo distinguibles por evidencias bioquímicas (i.e. filogrupos crípticos) (Newton, 2003). La información generada por marcadores moleculares es complementaria con aquella proveniente de la morfología, lo que sugiere que un enfoque integral para el estudio de la variación geográfica puede responder preguntas importantes sobre su naturaleza (Zink y Remsen, 1986; Patten y Unitt, 2002; Isler y col., 2012).

Los cucaracheros (Aves: Troglodytidae) son aves paseriformes muy activas de tamaño pequeño y de hábitos insectívoros que conforman una familia de 16 géneros y 84 especies. Los troglodítidos presentan una distribución prácticamente cosmopolita (Fig. 1) ya que la especie *Troglodytes troglodytes* se encuentra en Eurasia y África. El resto de las especies de esta familia

está restringido al Nuevo Mundo (Kroodsma y Brewer, 2005, Aleixo y Pacheco, 2006). Se le considera un grupo monofilético y aunque en la mayoría de las clasificaciones tradicionales se les ha ubicado cerca de las familias Mimidae y Cinclidae (Mayr y Greenway, 1960; Wetmore, 1960), en años recientes análisis moleculares han postulado su estrecha relación con Polioptilidae y Certhiidae (Barker, 2004; Kroodsma y Brewer, 2005).

Los cucaracheros se caracterizan por presentar barras en sus alas (rémiges) y cola (rectrices) y por su plumaje de tonos marrones o rojizos con parches de blanco y negro. También resaltan su pico delgado, cola erguida y su compleja conducta vocal y reproductiva (p.e. duetos antifonales, cría cooperativa, repertorios y dialectos vocales) (Hilty, 2003; Barker, 2004; Kroodsma y Brewer, 2005). El mayor número de especies de troglodítidos se encuentra en Centroamérica y el noroeste de Suramérica, donde habitan el sotobosque de bosques primarios y secundarios, bambusales, arbustales o pastizales (Kroodsma y Brewer, 2005). Dado que suelen frecuentar hábitats de vegetación densa, y generalmente muestran una conducta esquiva, gran parte de la historia natural y biología básica de la mayoría de las especies de la familia se desconoce (Brewer, 2001).

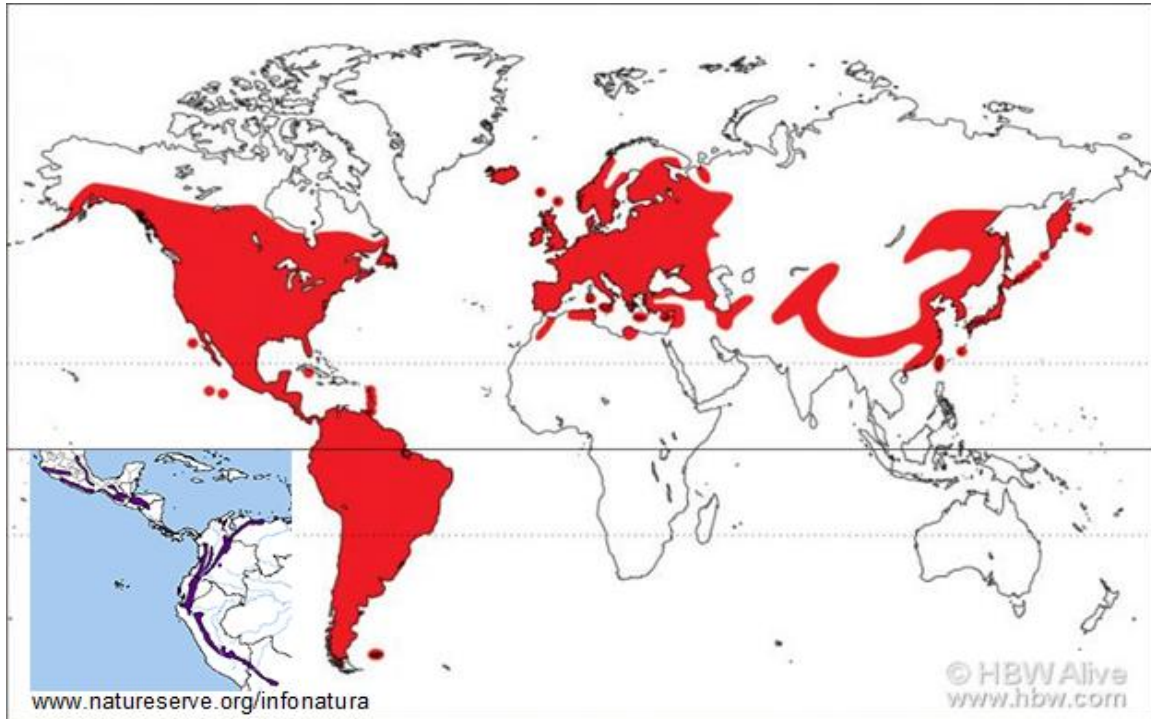


Figura 1. Distribución geográfica de la familia Troglodytidae (rojo; Kroodsma y Brewer, 2005) y de *H. leucophrys* (mapa en la esquina inferior izquierda, distribución en color azul).

El género *Henicorhina* está conformado por cuatro especies, dos de ellas de distribución restringida (*H. leucoptera* y *H. negreti*) y dos de distribución amplia: el Cucarachero Gallineta¹ (*H. leucosticta*) y el Cucarachero Selvático² (*H. leucophrys*). Este último suele reemplazar altitudinalmente a *H. leucosticta* a lo largo de su distribución. Sin embargo, en Venezuela *H. leucophrys* se encuentra al norte del río Orinoco y *H. leucosticta* se distribuye al sur (i.e. sus poblaciones son alopátricas) (Hilty, 2003; Kroodsma y Brewer, 2005; Dingle y col., 2006).

1) White-breasted Wood-wren; 2) Grey-breasted Wood-wren.

Henicorhina leucophrys es una especie sin dimorfismo sexual de plumaje, de color castaño en el dorso y gris en la región ventral, con cola recta muy corta, de características sedentarias y gran habilidad vocal, que habita el sustrato bajo de bosques montanos húmedos desde México hasta Bolivia (Hilty, 2003; Fig. 1). En Venezuela se distribuye entre los 900 y los 3000 m s.n.m. en las montañas al norte del Orinoco (Hilty, 2003). Esta especie incluye 18 subespecies, 11 de las cuales se encuentran en Suramérica y 5 han sido descritas para Venezuela (Fig. 2) (Kroodsma y Brewer, 2005), siendo el país con mayor número de estas taxa después de Colombia. Dichas subespecies han sido descritas con base en diferencias sutiles de plumaje (Brewer, 2001; Dingle y col., 2008), presentando un grado de variación morfológica individual que debe ser examinado (Hellmayr, 1903; Hellmayr y Seilern, 1912; Chapman, 1917). Adicionalmente, diferencias genéticas considerables han sido encontradas en subespecies de Ecuador y Colombia, lo que ha llevado a reconsiderar la taxonomía dentro de la especie (Dingle y col., 2006; Dingle y col., 2008; Caro y col., 2013). En general, las subespecies de *H. leucophrys* muestran patrones genotípicos y fenotípicos diversos y es probable que el género haya tenido una historia biogeográfica compleja en los Andes (Dingle y col., 2006; Caro y col., 2013). El objetivo de este trabajo es realizar un estudio integral de la variación geográfica de las poblaciones venezolanas de *H. leucophrys*, explorando su variación molecular, morfométrica y de coloración del plumaje para contribuir con el conocimiento y la taxonomía de esta ave montana.

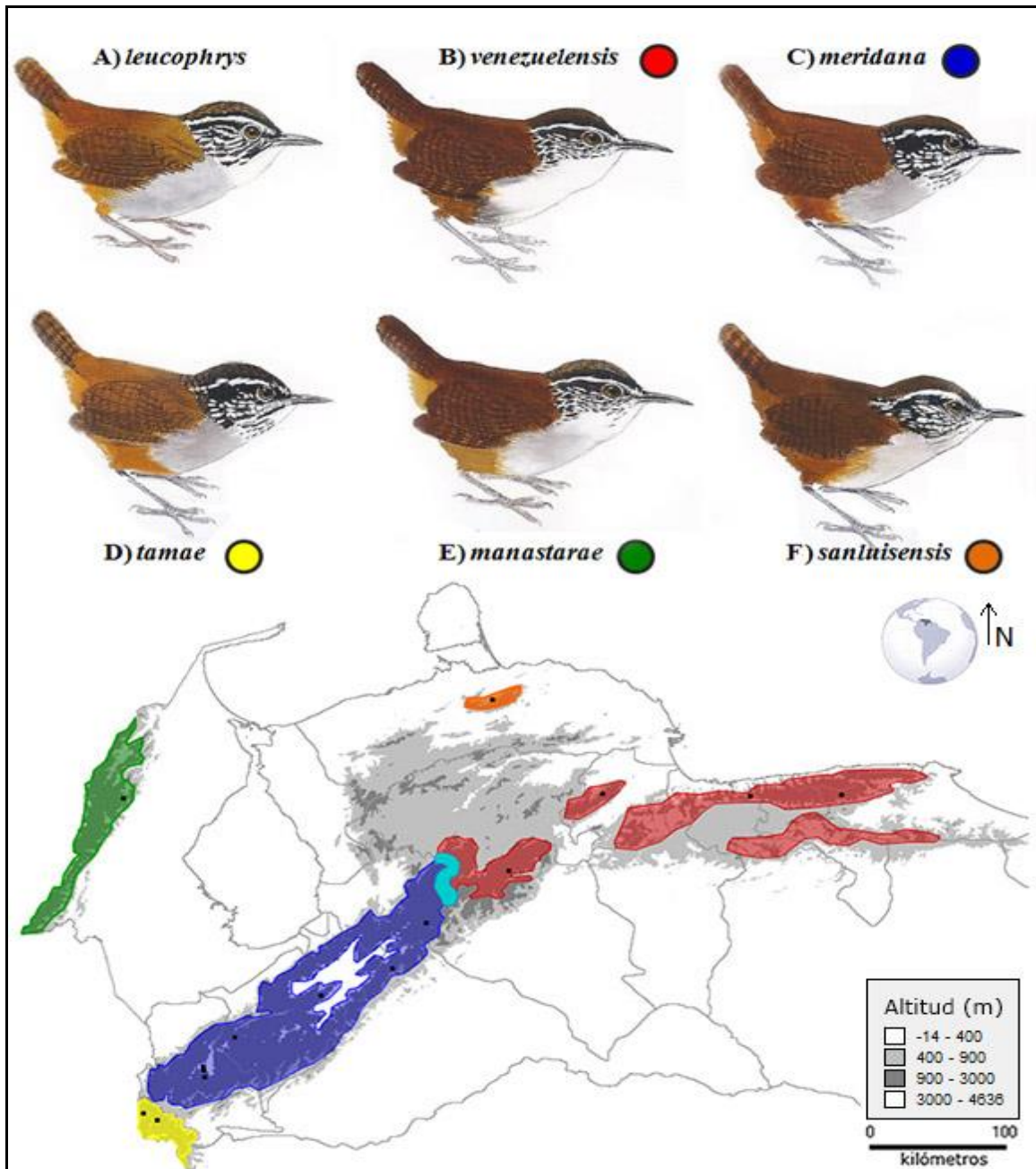


Figura 2. Ilustraciones de *H. leucophrys leucophrys* (A) [Colombia, Ecuador y Perú] y de las cinco subespecies presentes en Venezuela (B-F) (editadas de Restall y col., 2006). Se incluye la distribución de los taxa en Venezuela (intervalo altitudinal de 900-3000 m s.n.m. basado en Hilty, 2003). En la zona limítrofe de los estados Trujillo y Lara (azul claro) se desconoce si existe contacto entre las subespecies. Los puntos negros representan las localidades con muestras de tejido en este estudio.

ANTECEDENTES

El Cucarachero Selvático de Perú fue inicialmente descrito como *Troglodytes leucophrys* por Tschudi en 1844. Posteriormente, Baird (1864-1872) propone el género *Heterorhina*, en el que agrupa cinco especies (*H. prosthaleuca*, *H. leucosticta*, *H. pusilla*, *H. griseicollis* y *H. leucophrys*). Sin embargo, este nombre había sido asignado en Coleoptera por Westwood en 1845, por lo que poco después nace el género *Henicorhina* (Sclater y Salvin, 1868). En 1881, Sharpe examina la serie de ejemplares del Museo Británico, postula las especies *Henicorhina prosthaleuca*, *H. leucosticta* y *H. leucophrys* (Fig. 2A), incluye en esta última a *H. griseicollis* y *Troglodytes guttatus* (Hartlaub, 1844) y propone su distribución desde el sur de México hasta Perú y Bolivia, incluyendo a Venezuela.

Hellmayr (1903) realiza una revisión del género y reporta cierto grado de variación individual en el plumaje de los miembros de *Henicorhina*. A partir de ejemplares del norte de Venezuela, Hellmayr describe a la subespecie *H. l. venezuelensis* (Fig. 2B) y propone su distribución desde Bucarito, cerca de Tocuyo en Lara, hasta Caripe (Monagas). Distingue a *venezuelensis* de *H. l. guttata* (de Mérida y “Bogotá”) por su pecho y garganta blancos, la presencia de gris sólo hacia los lados del pecho y por el marrón de los flancos más restringido. Concluye con un listado de 11 taxa (especies y subespecies) dentro de *Henicorhina*, que posteriormente serían clasificadas como subespecies de *H. leucosticta* o *H. leucophrys* (Mayr y Greenway, 1960). En una revisión de nuevos taxa de cucaracheros en Suramérica, Todd (1932) realiza la descripción de *H. l. meridana* (Fig. 2C) a partir de ejemplares de Mérida y Colombia (Tamá y “Bogotá”). Esta nueva forma se caracteriza por flancos marrón-rojizos y por su garganta estriada de negro, encontrándose desde los Andes de Venezuela (Mérida) hasta los Andes Orientales de Colombia (vertiente Este). Este autor sinonimiza a *H. l. guttata* con la raza nominal

y extiende la distribución de *H. l. leucophrys* desde Perú hasta la vertiente oeste de los Andes Orientales de Colombia.

Hellmayr (1934) elabora notas descriptivas de las 13 subespecies de *H. leucophrys* descritas para la fecha en el Catálogo de Aves de las Américas. En este trabajo propone una nueva distribución para *venezuelensis* (i.e. desde Lara a Caracas), ya que duda de la procedencia de los ejemplares de “Caripe” colectados por A. Mocquerys. Además, destaca que el pecho de *meridana* es de un gris más oscuro¹ y la región de los flancos y plumas subcaudales más rojiza² que los de la subespecie nominal. Por último, menciona que los individuos del Páramo de Tamá (Táchira) y los Andes Orientales de Colombia forman la transición hacia *H. l. leucophrys*, pero son más cercanos a la forma de Mérida. Zimmer y Phelps (1944) cuestionan el argumento de Hellmayr y afirman que los ejemplares de la región de Tamá tienen corona marrón-olivácea³ y pueden diferenciarse de *meridana* por presentar flancos, abdomen bajo y subcaudales marrón-amarillentos y dorso más claro⁴ y de *H. l. leucophrys* por la garganta estriada. De esta manera es descrita *H. l. tamae* (Fig. 2D) para el Páramo de Tamá y la vertiente este de los Andes Orientales de Colombia.

1) Slate Gray; 2) Deep Antique Brown – Argus Brown; 3) Light Brownish-Olive; 4) Argus Brown.

Aveledo y Ginés (1952) describen a *H. l. manastarae* (Fig. 2E) para la región de Manastara del Río Negro de la Sierra de Perijá. Estos autores indican que este taxón se asemeja más a *venezuelensis*, pero presenta flancos y *crissum* (región subcaudal) más claros, caracteres que también permiten distinguirla de *meridana* y *tamae*, por su color pardo oliva¹. De dichas formas andinas difiere por mostrar un abdomen blanquecino en lugar de gris y de *H. l. bangsi*, de la Sierra de Santa Marta (Colombia), por tener la corona olivácea y el lomo pardo. Sin embargo, los autores mencionan, incorrectamente, que la garganta de esta subespecie presenta plumas blancas bordeadas de oscuro, siendo en realidad inmaculada como en *venezuelensis*. Más tarde, para 1959, Phelps y Phelps Jr. realizan la última descripción de una subespecie venezolana, *H. l. sanluisensis* (Fig. 2F) para la Sierra de San Luis (Falcón), la cual se distingue de los cuatro taxa anteriores por su dorso de color marrón oscuro². Adicionalmente, se diferencia de *venezuelensis* por el pecho y abdomen gris³, de *manastarae*, *tamae* y *meridana* por la región caudal y los flancos más oscuros, y de *tamae* y *meridana* por la garganta sin estrías.

Más recientemente se han descrito dos nuevas especies para el género. Fitzpatrick y colaboradores (1977) describieron a *H. leucoptera* (Perú), ubicándola como especie hermana de *H. leucophrys* con base en su morfología, canto y uso de hábitats similares. Igualmente, Salaman y colaboradores (2003) describen a *Henicorhina negreti* con base en diferencias de tamaño, color y canto con respecto a poblaciones parapátricas de *H. l. leucophrys* y *H. l. brunneiceps* en la Cordillera Occidental de Colombia, con lo cual postulan que dicha especie se haya derivado de *H. leucophrys* y sugieren que la monofilia de esta última se reevalúe. En estos estudios, los

1) Buckthorn Brown.2) ca. Auburn; 3) Light Mouse Gray.

autores mencionan que existe una alta variabilidad en la coloración de la corona de *H. leucophrys*, como ha sido planteado para el plumaje de *meridana* (Hellmayr, 1934). Dicha variación individual es evidente entre subespecies en más de un carácter. En general, los caracteres diagnósticos para diferenciar a las subespecies venezolanas de *H. leucophrys* han sido el patrón de estriado y color de la garganta, la coloración y extensión de la región subcaudal y flancos, y el color del pecho, abdomen, corona y manto, siendo incierto si existe variación morfométrica, por lo que su revisión puede ser relevante.

En la actualidad, los análisis de variación genética han sido protagonistas en estudios de troglodítidos. Barker (2004) elaboró la primera hipótesis filogenética de las relaciones entre los géneros de la familia usando el gen mitocondrial Citocromo-b y el cuarto intrón del gen nuclear β -fibrinógeno. Este autor establece la monofilia de la familia e identifica la parafilia del género *Thryothorus*. A partir de estos resultados, Mann y colaboradores (2006) evaluaron las relaciones filogenéticas de *Thryothorus*, utilizando los genes previamente mencionados, y proponen una nueva secuencia de cuatro taxa: *Thryothorus*, *Pheugopedius*, *Thryophilus* y *Cantorchilus*. Estos últimos tres géneros, junto con *Cinnycerthia*, *Uropsila* y *Cyphorhinus*, resultan ser los grupos más cercanos a *Henicorhina* (Fig. 3).

Dingle y colaboradores (2006) realizaron un estudio filogenético de *Henicorhina*, utilizando los genes mitocondriales ATP-sintasa 6 y ATP-sintasa 8, en el cual reportaron la parafilia de *H. leucosticta* con respecto a *H. leucoptera*, y proponen el cambio de la secuencia taxonómica dentro del género. En dicho estudio se encontraron porcentajes de divergencia considerables entre tres clados geográficos de *H. leucophrys*, Centroamérica (Panamá), Andes (Ecuador y Perú) y Mindo (Noroeste de Ecuador). Resalta la diferenciación genética de esta última población (presuntamente de *H. l. hilaris*) con respecto al resto de las poblaciones (6,9 -

8,2%), ya que se encontraba a tan sólo 12km (400m por debajo) de la localidad más cercana de *H. l. leucophrys*. Dado el bajo número de muestras de *H. leucophrys* incluidas en el estudio (n=18), los autores proponen un tratamiento taxonómico conservador y consideran necesaria la reconstrucción de las relaciones filogeográficas de las poblaciones de Centroamérica, el noroeste de Suramérica y el sur de los Andes. Dingle y colaboradores (2008) realizaron un estudio extensivo de los dos taxa de Ecuador (*hilaris* y *leucophrys*), en el que confirmaron a la población de Mindo como *hilaris*, encontrando porcentajes similares de divergencia genética entre las subespecies (6,5 - 8,0%) y ciertas diferencias en el canto.

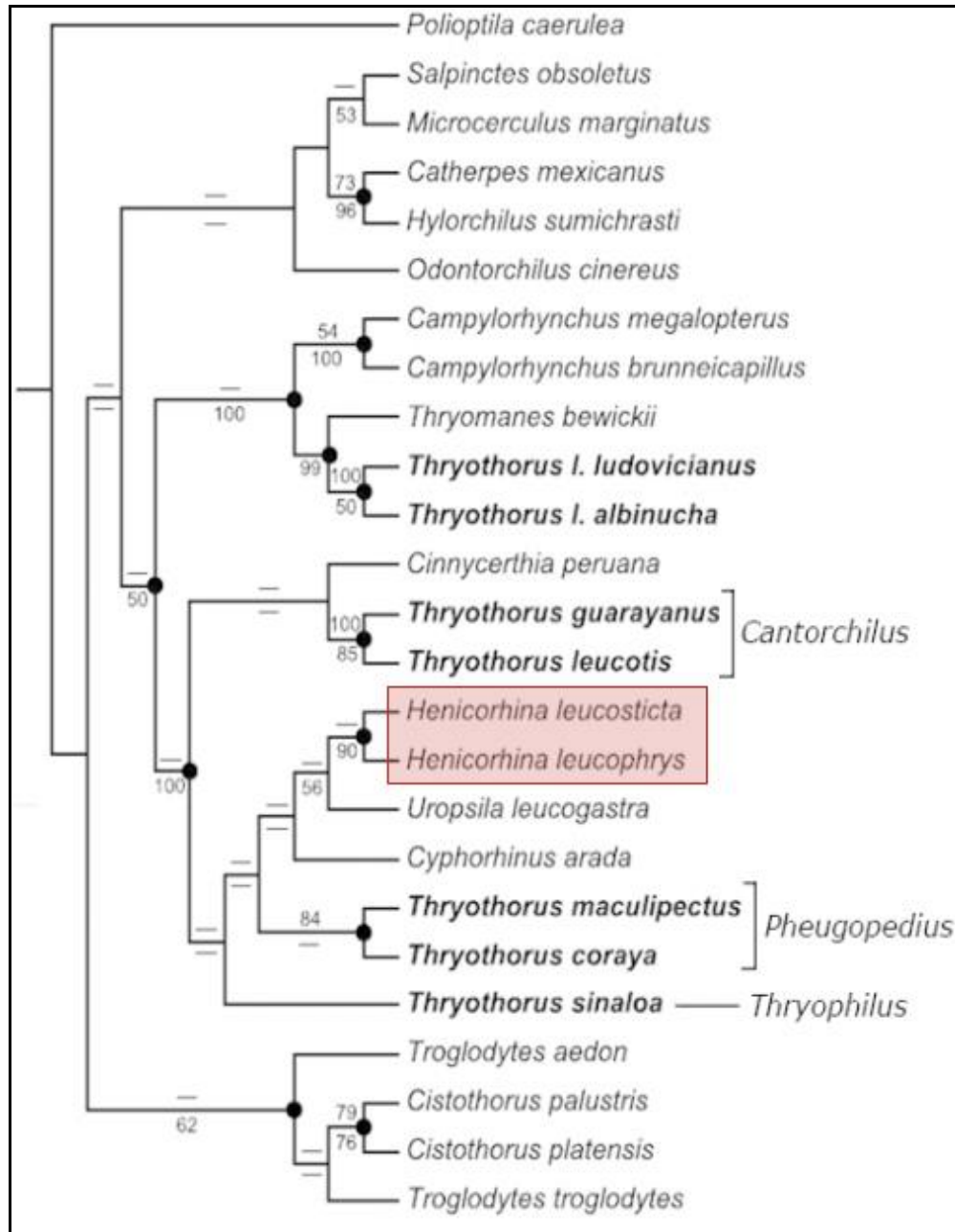


Figura 3. Hipótesis filogenética de Troglodytidae resultante del Análisis Bayesiano de la data concatenada de los genes Citocromo-b y β -fibrinógeno intrón 4 (Mann y col., 2006). Se muestran los géneros cercanos a *Henicorhina* (dentro del recuadro). Los nodos con probabilidad posterior $\geq 0,95$ se señalan con círculos negros y el soporte bootstrap del análisis de máxima parsimonia se indica arriba (Citocromo-b) y abajo (β -fibrinógeno) de cada nodo.

Un estudio de múltiples caracteres moleculares (ATP-sintasa 6y8 y β -fibrinógeno Intrón 5), vocales y morfométricos fue realizado en la Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM, Colombia) por Caro y colaboradores (2013). En esta localidad se distribuyen dos subespecies de *H. leucophrys*, *H. l. anachoreta* y *H. l. bangsi*, las cuales se reemplazan altitudinalmente en la región. Los autores encontraron diferencias en cada uno de estos caracteres, confirmando la existencia de dos poblaciones diferentes en dicho gradiente altitudinal, probablemente como resultado de un proceso de especiación alopátrica con contacto secundario posterior. Con esto proponen el reconocimiento de dos especies distintas y resaltan la importancia de establecer su estado taxonómico con respecto al resto de los taxa dentro de la especie. El linaje presente a menor altitud (“*bangsi*”) es considerado el grupo hermano de las poblaciones de la Serranía de Perijá, mientras que el clado de altitudes superiores (“*anachoreta*”) podría estar relacionado con otras poblaciones de Colombia, Ecuador y Perú. Adicionalmente, en este estudio se muestra, aunque con bajo soporte estadístico, un patrón filogeográfico complejo en las poblaciones venezolanas evaluadas (Fig. 4). Por lo tanto, se considera necesaria la revisión de las relaciones filogeográficas de las poblaciones de *Henicorhina leucophrys*, acompañada de análisis de múltiples caracteres fenotípicos, donde se incluya un mayor número de subespecies para brindar un aporte clave al conocimiento y la sistemática de la especie.

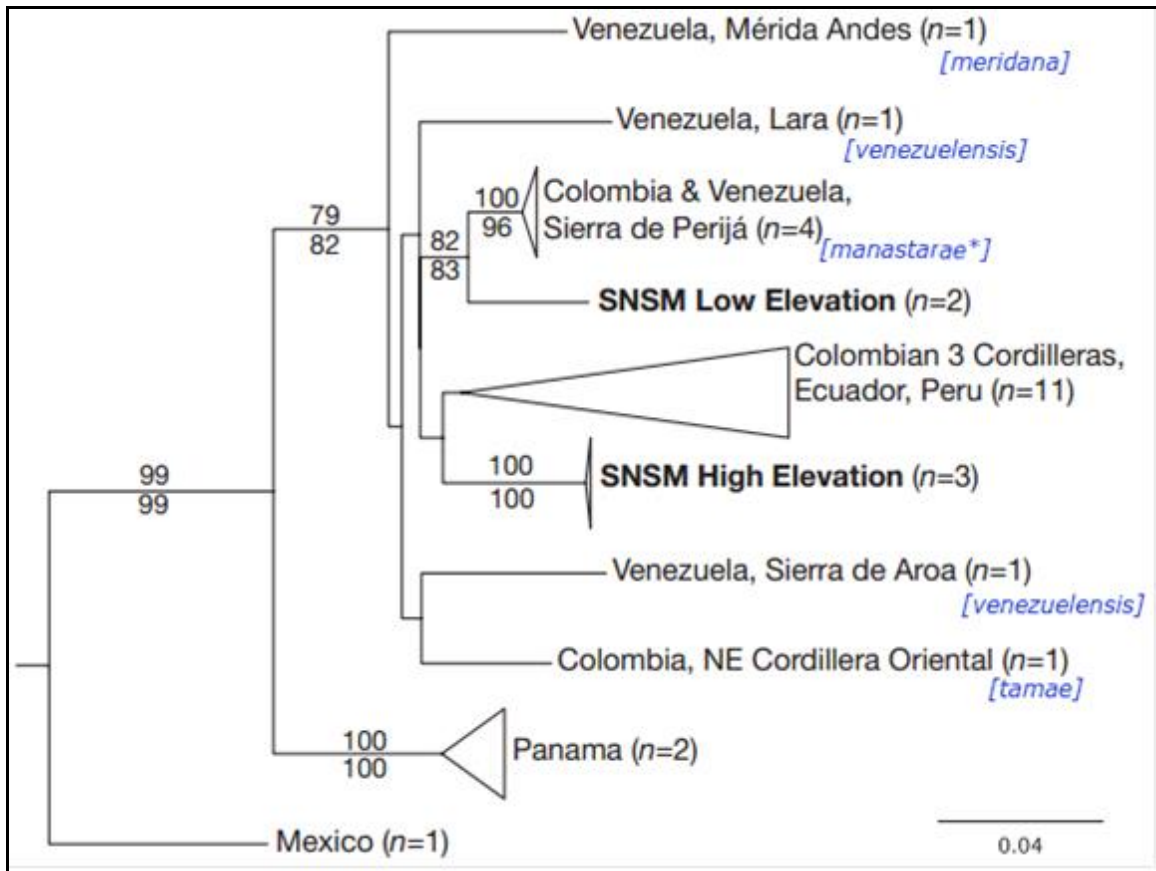


Figura 4. Vista simplificada de las relaciones filogeográficas de las subespecies de *H. leucophrys* encontrada por Caro y colaboradores (2013) con base en análisis de máxima verosimilitud de los genes ATP-sintasa 6y8. Los valores de soporte bootstrap >75% se muestran arriba (máxima parsimonia) y abajo (máxima verosimilitud) de cada nodo. En corchetes se indican subespecies venezolanas que se incluyen en este trabajo.

OBJETIVO GENERAL

Caracterizar la variación geográfica de *Henicorhina leucophrys* en Venezuela.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Caracterizar la variación genética de las poblaciones de *Henicorhina leucophrys* en Venezuela.
2. Determinar las relaciones filogeográficas entre las poblaciones de la especie.
3. Cuantificar la variación morfométrica de las poblaciones venezolanas de *Henicorhina leucophrys*.
4. Cuantificar la variación del plumaje de *Henicorhina leucophrys* en Venezuela.
5. Comparar los patrones poblacionales encontrados con la clasificación taxonómica actual.

MÉTODOS GENÉTICOS Y MOLECULARES

Muestras genéticas:

En los análisis moleculares se utilizaron muestras de tejido muscular, plumas y sangre de individuos capturados en mallas de neblina provenientes de muestreos realizados por el Laboratorio de Biología y Conservación de Aves del IZET a lo largo de las cordilleras del norte de Venezuela hasta el año 2013, amparados bajo los permisos respectivos de caza científica, investigación en parques nacionales y de acceso a recurso genético. Este muestreo representa a las cinco subespecies de *H. leucophrys* en Venezuela y a gran parte de sus poblaciones (Fig. 2; Tabla 1; Apéndice 1).

Tabla 1. Muestras utilizadas para los análisis genéticos de *H. leucophrys* de Venezuela. La asignación taxonómica fue realizada por localidad con base en Hilty (2003).

Subespecie (spp.)	Estado	Localidad (Loc.)	Número de individuos (Loc.)	Total de individuos (spp.)
<i>manastarae</i>	Zulia	Las Lajas, Sierra de Perijá	3	3
<i>meridana</i>	Barinas	Calderas	1	21
	Trujillo	P.N. Guaramacal	3	
	Mérida	La Mucuy, P.N. Sierra Nevada	2	
		Guaraque	1	
Táchira	P.N. Páramos El Batallón y La Negra	14		
<i>sanluisensis</i>	Falcón	P.N. Sierra de San Luis	3	3
<i>tamae</i>	Táchira	Delicias, P.N. El Tamá	2	7
		Río Chiquito, P.N. El Tamá	5	
<i>venezuelensis</i>	Lara	P.N. Yacambú	3	12
	Yaracuy	P.N. Yurubí	3	
	Aragua	Rancho Grande, P.N. Henri Pittier	3	
	Miranda	San Antonio de los Altos	3	
			Total	46

Trabajo de laboratorio:

De cada muestra se realizó la extracción de ADN según las especificaciones del paquete DNeasy Tissue Kit (Qiagen, Valencia, California). Se llevó a cabo la amplificación vía PCR de una región de 842 pares de bases (pb) que incluye los genes mitocondriales ATP-sintasa 8 (168 pb) y ATP-sintasa 6 (684 pb), con los pares de cebadores CO2GOL/CO3HMH (Joseph y col., 2004; Apéndice 1) en una mezcla de reacción de 50µL (Qiagen) (Tabla 2). Posteriormente se realizaron comprobaciones visuales en geles de agarosa con bromuro de etidio (electroforesis) y se purificaron con las especificaciones del kit Qiagen. Se seleccionaron ocho muestras representativas de los linajes obtenidos en la hipótesis filogenética de la unidad ATP-sintasa 6y8 y se realizó la amplificación del cuarto intrón del gen nuclear β -fibrinógeno (FGB-I4), con los cebadores FIB3/FIB4 (Chung y col., 1991; Apéndice 1), en una mezcla de reacción de 20 µL (Tabla 2). El trabajo de laboratorio y la secuenciación de los amplificados se realizaron en la Unidad de Ecología Genética (U.E.G.) del Centro de Ecología del IVIC.

Tabla 2. Composición de mezclas de reacción y fases de la amplificación para los genes estudiados. La desnaturalización inicial tuvo una duración de 5 minutos (94°C) y se realizaron 35 ciclos de desnaturalización, alineamiento y extensión. Finalmente, las muestras se mantuvieron a 72°C por 3 minutos.

ADN ATP-sintasa 6y8 (n=46)	Taq Polimerasa	MgCl₂	Buffer	CO2GOL	CO3HMH	dNTP's
1 µL	0,25 µL	3 µL	10 µL	2,5 µL	2,5 µL	1 µL
	Desnaturalización		Alineamiento		Extensión	
Tiempo (s)	30		45		60	
T (°C)	94		58		72	

ADN FGB-I4 (n=8)	Taq Polimerasa	MgCl₂	Buffer	FIB3	FIB4	dNTP's
4 µL	0,2 µL	1,2 µL	4 µL	0,4 µL	0,4 µL	0,4 µL
	Desnaturalización		Alineamiento		Extensión	
Tiempo (s)	15		30		75	
T (°C)	94		51		72	

Variación genética:

Se caracterizó la variación genética entre las poblaciones de *H. leucophrys*, determinando la riqueza de haplotipos, la probabilidad de que dos haplotipos escogidos al azar sean distintos (diversidad haplotípica, h), y el grado de diferencia promedio entre secuencias de nucleótidos (diversidad nucleotídica, π), por medio del software DnaSP v5.10 (Librado y Rozas, 2009). Adicionalmente, se calcularon las distancias genéticas p , dentro y entre linajes, y aquella que correspondiese al modelo evolutivo que se ajustara mejor a los datos, utilizando el programa MEGA5 (Tamura y col., 2011).

Análisis filogenéticos:

Se realizaron análisis de máxima parsimonia (MP) y máxima verosimilitud (MV) con MEGA5 (Tamura y col., 2011) para generar una hipótesis filogenética, que permitiese caracterizar las relaciones filogeográficas de las poblaciones. Esta hipótesis permitió examinar la concordancia del patrón filogeográfico con la taxonomía actual y establecer grupos de estudio (i.e. linajes, grupos monofiléticos con soporte estadístico, bootstrap, mayor al 70%) que fueron examinados en los análisis morfológicos posteriores. Los análisis de parsimonia se llevaron a cabo con 100 réplicas de búsqueda heurística empleando el algoritmo TBR (*Tree Bisection and Reconnection*), asignando igual peso a todos los caracteres. Para los análisis de MV se determinó el modelo evolutivo que mejor se ajustara a los datos, siendo éste aquel que tuviese menor valor de Criterio de Información Bayesiano (BIC). Seguidamente, se realizaron los análisis con 10 réplicas de búsqueda heurística, usando los algoritmos de intercambio entre vecino más cercano (NNI) (Saitou y Nei, 1987) y SPR (*Subtree pruning and regrafting*, de tipo rápido y de tipo extensivo). Taxa utilizados como grupo externo fueron *Henicorhina leucosticta*, *Cyphorhinus*

arada y *Cistothorus palustris*, con base en la filogenia de la familia (Barker, 2004; Fig. 3). La elección de estas especies también se ajustó a la disponibilidad de secuencias de FGB-I4 en GenBank. El soporte bootstrap no paramétrico de ambos análisis se hizo con 1000 pseudorélicas (Felsenstein, 1985).

MÉTODOS MORFOLÓGICOS

Muestras de museo:

Para los análisis morfológicos se revisaron ejemplares (material seco) de las principales colecciones ornitológicas del país: Colección Ornitológica Phelps (COP), Museo de la Estación Biológica de Rancho Grande (EBRG), Museo de Historia Natural La Salle (MHNLS) y Colección Adolfo Pons (PONS) (Apéndice 2). Las mediciones se realizaron en ejemplares debidamente identificados y sexados (con base en la información de catálogo), en buen estado o cuyo daño fuese mínimo. Se llevaron a cabo comparaciones entre las subespecies y entre los linajes definidos con los análisis filogenéticos. Las pruebas estadísticas fueron realizadas en el software PAST v3.01 (Hammer y col., 2001).

Variables morfométricas:

Para caracterizar la variación morfométrica se midieron los siguientes caracteres en 210 ejemplares según la metodología estándar establecida (Baldwin y col., 1931) (Fig. 5):

- Largo de Tarso (LT): desde el punto medio de la articulación entre la tibia y el metatarso (visto desde atrás) hasta el borde inferior de la última escama distal no dividida en la unión del metatarso con la base del dedo medio (visto desde adelante).

- Largo de Ala cerrada (LA): desde el punto anterior más lejano del borde anterior de la articulación de la muñeca hasta el extremo de la pluma más larga, sin aplanar la curvatura natural del ala.
- Largo de Cola (LC): desde el punto entre las bases de las dos rectrices medias hasta el extremo de la pluma más larga de la cola cerrada.
- Largo de Pico (LP, Largo de narinas): desde el extremo anterior de la narina hasta el extremo anterior de la maxila.
- Ancho de Pico (AnP): distancia entre las paredes laterales del pico a nivel del extremo anterior de las narinas.
- Altura de Pico (AIP): desde el extremo superior de la maxila hasta el extremo inferior de la mandíbula a nivel del extremo anterior de las narinas.

Adicionalmente, se determinó el Largo de Culmen expuesto (LCu) con el propósito de comparar las medidas con lo reportado en las descripciones tradicionales. Esta variable consiste en la distancia desde el punto en el que las plumas de la frente, en su posición natural, dejan de ocultar el culmen hasta el extremo anterior de la maxila. Las mediciones de cola y ala se realizaron con una regla graduada de 1 mm de precisión y el resto de los caracteres se determinaron con un vernier de 0,05mm de precisión (Somet Inox).

Error de Medida:

Para determinar la replicabilidad de las mediciones se determinó el porcentaje de error de medida del investigador (%ME, Ecuación 1) siguiendo la metodología de Yezerinac y col. (1992). Se realizaron ANOVA's anidados (modelo II) con las mediciones de 16 individuos machos (m=3, tres medidas repetidas por individuo no consecutivas) de una misma localidad de

la subespecie *tamae* (Río Chiquito, Táchira). Los individuos fueron clasificados en dos subgrupos: machos con y sin comisuras rictales engrosadas (inmaduros y adultos respectivamente). De forma equivalente se determinó el error de medida para las variables colorimétricas que se desarrollan más adelante. El porcentaje de error se determinó con la siguiente ecuación:

$$\%ME = \frac{s_{ind}^2}{s_{ind}^2 + s_{sub}^2} \times 100 \quad [1]$$

Donde s_{ind}^2 es el componente de varianza dentro de los individuos (estimado por los cuadrados medios de dicha fuente de variación, MS_{ind}) y s_{sub}^2 es el componente de varianza entre los individuos o dentro de los subgrupos, determinado por la diferencia entre los cuadrados medios sobre el número de medidas repetidas (Ecuación 2).

$$s_{sub}^2 = \frac{MS_{sub} - MS_{ind}}{m} \quad [2]$$

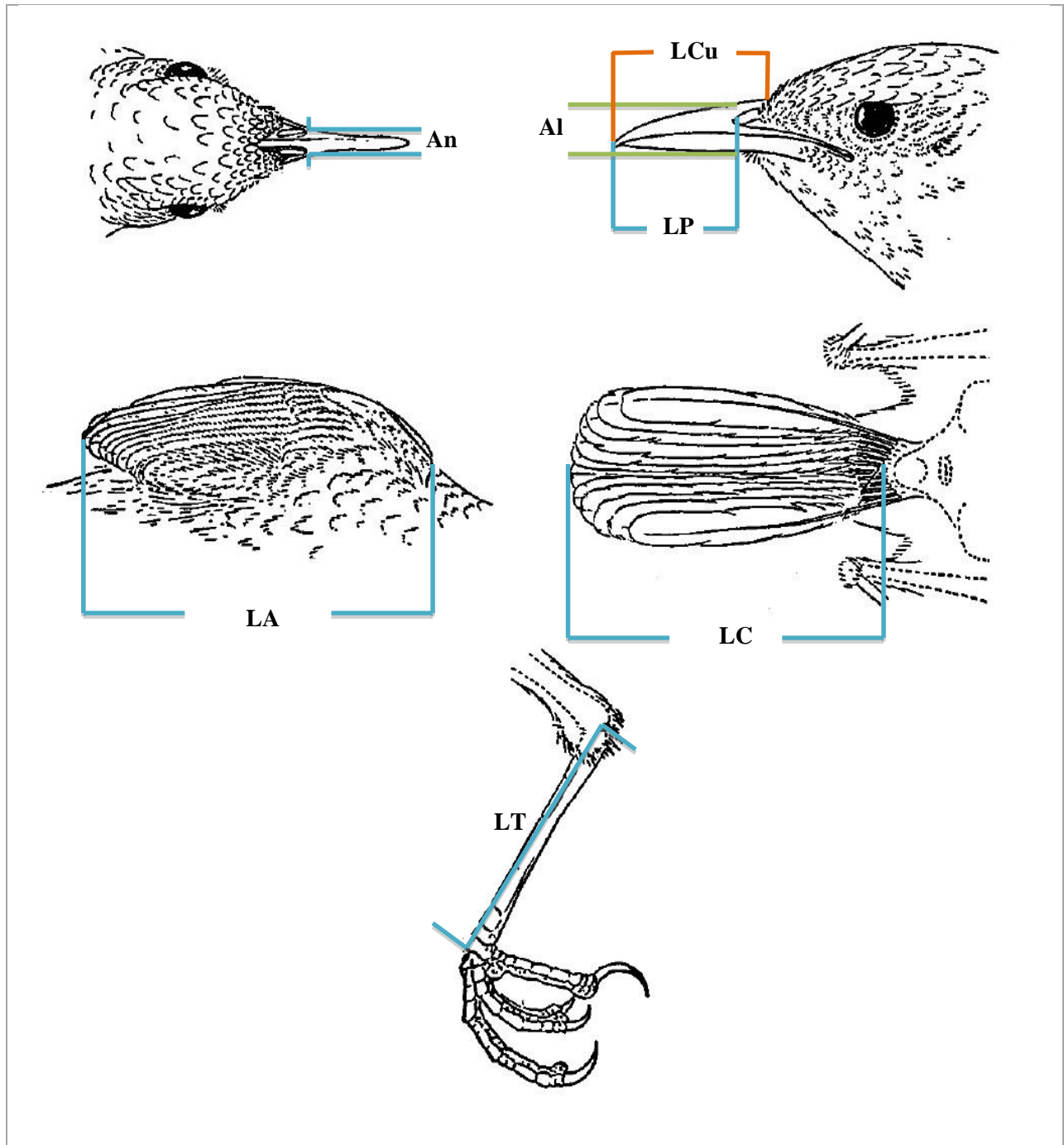


Figura 5. Variables morfométricas utilizadas en este estudio: Ancho de Pico (AnP), Alto de Pico (AlP), Largo de Pico (LP), Largo de Culmen expuesto (LCu), Largo de Ala (LA), Largo de Cola (LC) y Largo de Tarso (LT). Ilustraciones editadas de Baldwin y col. (1931).

Análisis morfométricos por edad y por sexo:

Se realizaron pruebas de hipótesis (t de Student) para determinar si existían diferencias en los promedios de las variables entre machos adultos e inmaduros dentro de cada subespecie, con el objetivo de verificar si los ejemplares de menor edad podían ser incluidos en los análisis posteriores. Estas pruebas fueron realizadas igualmente entre hembras de cada taxón y previo a cada comparación se comprobó que se cumplieran las condiciones de normalidad ($p > 0,05$; pruebas de Shapiro-Wilk o Jarque-Bera) y de igualdad de varianzas ($p > 0,05$; prueba F de Fisher). Cuando no se encontró homocedasticidad se realizaron pruebas t para varianzas desiguales y en los casos donde se rechazó la hipótesis de normalidad se utilizaron comparaciones no paramétricas de Mann-Whitney. Posteriormente, se realizaron pruebas equivalentes entre machos y hembras de un mismo linaje y subespecie para evaluar si existían diferencias entre los sexos de *H. leucoprphys* y así establecer si debían realizarse los análisis posteriores por separado según el sexo de los ejemplares.

Análisis de variación morfométrica:

Se realizaron Análisis de Varianza (ANOVA's) por cada variable morfométrica acompañados de pruebas *a posteriori* (Tukey), para poner a prueba la hipótesis de si existen diferencias entre las subespecies y entre los linajes en los valores medios de los caracteres medidos. Alternativas no paramétricas fueron consideradas en los casos en los que no se cumpliera el supuesto de normalidad (Kruskal-Wallis y Mann-Whitney). Al encontrar diferencias significativas entre los grupos se aplicó la regla del 75% para el reconocimiento de subespecies, la cual indica que 75% de un grupo de estudio (en nuestro caso, subespecies o linajes) puede diferenciarse del 99% de otro y viceversa (Amadon, 1949). Esta regla se aplicó

realizando pruebas de diagnosticabilidad pareadas donde se obtienen dos índices (D_{12} y D_{21}) que al resultar positivos simultáneamente permiten comprobar tales diferencias (Patten y Unitt, 2002). Además, como las variables podrían estar correlacionadas y no variar de forma independiente, se hicieron Análisis de Componentes Principales (PCA) con matriz varianza-covarianza para identificar las variables que aportaban mayor varianza dentro del conjunto de datos y para realizar una reducción dimensional de la información morfométrica (Gotelli y Ellison, 2004). En este análisis se obtiene un ordenamiento de las muestras que permite identificar grupos con base en las nuevas variables generadas (componentes principales). Las variables que presentaron un error de medida mucho mayor al 10% no fueron consideradas en los análisis multivariados (Lougheed y col., 1991). Para mejorar la normalidad y reducir el efecto de la escala (p.e. medidas de cola vs. medidas de pico) se llevó a cabo una transformación logarítmica de las variables. Por último, se realizó un Análisis Discriminante (DFA) para evaluar si con los caracteres morfométricos considerados se podría elaborar una clasificación adecuada de las subespecies. Con los *scores* obtenidos se elaboró un cluster con la distancia euclídea promedio (algoritmo UPGMA) para mostrar gráficamente los resultados de la matriz de confusión.

Variables de plumaje:

El color no es sólo una propiedad física, sino que es considerado el resultado de la interacción entre las condiciones lumínicas, la reflectancia y los mecanismos de recepción del observador. Una forma objetiva de cuantificar el color se basa en medir la reflectancia de los objetos, a través de la espectrofotometría o de la fotografía digital (Andersson y Parger, 2006; Stevens y col., 2007). Esta última alternativa cuenta con ciertas ventajas con respecto al uso de espectrofotómetros: la toma de datos (fotos) resulta más sencilla, requiere de menos equipos, es

menos costosa y se pueden hacer análisis de patrones completos (p.e. estriados o bandeados) sin la necesidad de reconstruir la topografía de medidas puntuales de un espectrofotómetro (Stevens y col., 2007). En este trabajo se estimó el color de los parches o regiones de plumaje diagnósticos de ejemplares de *H. leucophrys* según las descripciones originales, por medio de la cuantificación de su reflectancia (Fig. 6). Adicionalmente, se determinó el porcentaje de estriado de las gargantas de los individuos estudiados, pues éste se ha utilizado para diferenciar a algunas subespecies venezolanas. Esta caracterización se llevó a cabo con base en la metodología desarrollada por Stevens y colaboradores (2007) y aplicada en la sistemática de aves por McKay (2013).

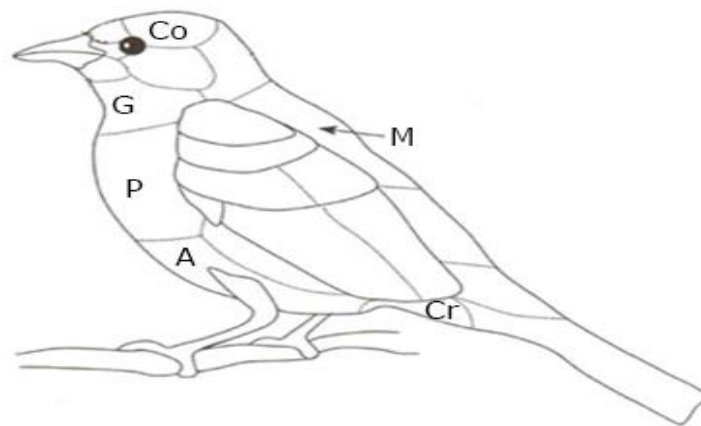


Figura 6. Parches de plumaje diagnósticos considerados para las subespecies de *H. leucophrys*. Región ventral: garganta (G), pecho (P), abdomen (A) y *crissum* (Cr). Región dorsal: corona (Co), y manto (M). Imagen editada de Andersson y Parger (2006).

Colección y calibración de los datos:

Una fotografía digital consiste en un archivo de tres canales de información, en un código que se conoce como RGB (i.e. R: rojo, G: verde y B: azul). Estos canales corresponden aproximadamente a las tres bandas de frecuencia del espectro visible (alta, media y baja, respectivamente) y consisten en matrices de píxeles que toman valores de intensidad de 0 a 255. Dichos valores son el resultado del procesamiento interno de cada cámara y son específicos de

sus sensores, es decir, son aparato-dependientes (Stevens y col., 2007). Por lo tanto, en la toma de datos sólo debe utilizarse una cámara que posea características específicas recomendadas para el análisis colorimétrico (Stevens y col., 2006), siendo éstas: alta resolución (>5 megapíxeles), control manual de blancos y control manual de exposición. En este trabajo se utilizó una Nikon D3200 (24 megapíxeles) con la capacidad de tomar fotografías en formato RAW (12bit, ca. 20Mb de peso), lo que asegura que los valores de los píxeles no sufran transformación post-captura. Los archivos RAW fueron revelados digitalmente a formato TIFF (32bit, ca. 60Mb de peso) a través de una compresión sin pérdida por medio del programa libre DCRAW v8.99 (<http://www.cybercom.net/~dcoffin/dcraw/>) con el algoritmo de interpolación adaptativa dirigida a la homogeneidad (McKay, 2013; Akkaynak, 2014). Se tomaron fotografías de los ejemplares en vista dorsal y ventral en una lámina de fondo homogéneo de 18% de reflectancia (Apéndice 3), precedidas de un control manual de blancos (DGK Color Tools). La cámara se colocó en un montaje que la mantuvo a una distancia fija de los ejemplares, iluminados por lámparas fluorescentes (McKay, 2013) (Fig. 7A). Las fotos se tomaron con la ayuda de un disparador remoto, ya que los movimientos de la mano pueden afectar la toma de datos (Stevens y col., 2007). Los valores de reflectancia obtenidos para cada canal representan al espectro visible humano, y aunque el sistema de visión de las aves es tetracromático (espectro visible + UV), es posible realizar análisis colorimétricos taxonómicos en estos organismos si no se busca explicar fenómenos como el reconocimiento entre conspecíficos, la elección de pareja o interacciones depredador-presa (Stevens y col., 2007; McKay, 2013).

Las fotografías digitales pueden mostrar valores RGB con una respuesta lineal o no lineal con respecto a los cambios en la intensidad de la luz. Esto sucede ya que muchas cámaras están diseñadas para producir imágenes que luzcan bien, pero no necesariamente que reflejen la

realidad (Stevens y col., 2007). Por lo tanto, primeramente se verificó la respuesta lineal de la cámara a los cambios lumínicos. Se tomaron fotografías de los 11 estándares de grises con mayor reflectancia conocida (valores teóricos 89% - 8,9% en Kodak Gray Scale Q13, Fig. 7B), ya que los grises presentan valores iguales para cada canal ($R = G = B$) (Stevens y col., 2007). Los valores medios por canal fueron extraídos de las fotografías (valores experimentales) haciendo una selección rectangular sobre cada estándar y aplicando la función *Histogram* en el software libre ImageJ v1.46 (Rasband, 1997–2006). Con estos datos, teóricos y experimentales, se realizó un análisis de correlación lineal (Apéndice 3).

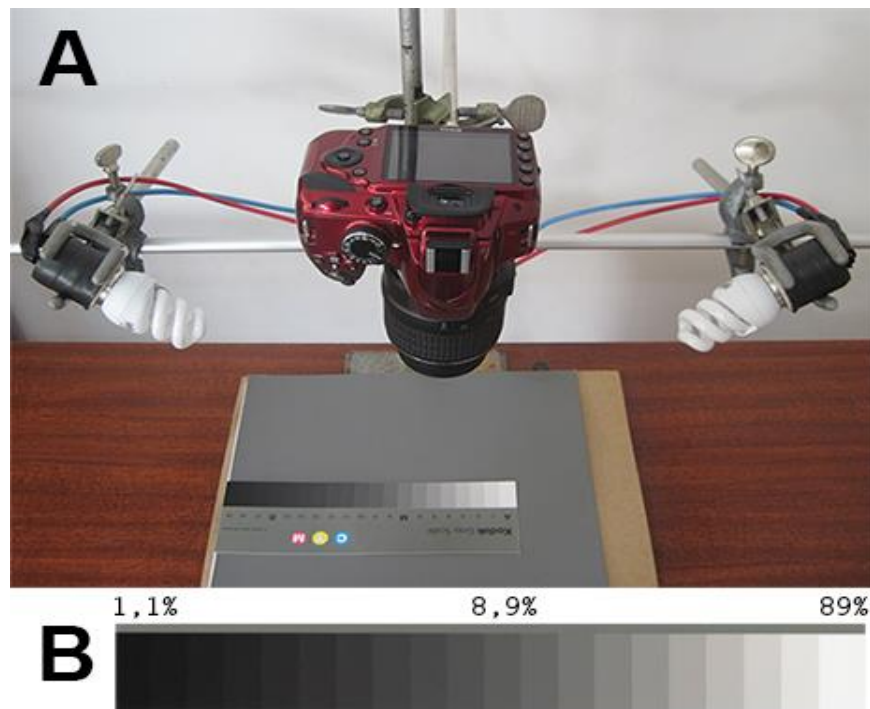


Figura 7. A) Montaje experimental utilizado en la toma de fotografías, donde la distancias entre lámparas (a 45° del punto focal) y el lente se mantuvieron constantes. Se muestra la ubicación de la carta de grises con los estándares considerados en el centro del encuadre. **B)** Escala de grises Kodak Gray Scale Q13.

Una vez verificada la respuesta no lineal de la cámara se elaboró un código en MATLAB vR2012a (The Mathworks Inc.), en el que se utilizó la función *lsqcurvefit* para calibrar la data

con una transformación cuadrática ($y = ax^2$) (Westland y Ripamonti, 2004). Dicha función permite encontrar el coeficiente “a” con el que se obtiene el mejor ajuste lineal para la transformación especificada según sus mínimos cuadrados (i.e. calibración lineal).

Transformación de los datos:

Los valores medios calibrados de las tres variables (R, G y B) de cada parche de plumaje fueron extraídos por medio del complemento *Color Histogram* del paquete ImageJ, realizando una selección circular de aproximadamente 0,5 cm² en el centro del parche de plumaje previendo que esta región no estuviese dañada o presentara plumas en posición irregular (Fig. 8A). Posteriormente, estos valores RGB fueron transformados en un espacio tridimensional independiente del dispositivo. Dicha transformación (clasificación de segmentos) fue propuesta por Endler (1990, 2012) para la interpretación de este tipo de data en el espectro visible. Las nuevas variables conforman un “espacio de colores opuestos” (McKay, 2013) y están divididas en dos variables de tono o color (Ecuaciones 3 y 4) y una variable de brillo (Ecuación 5) (Fig. 9). El error de medida de estas variables fue calculado comparando dos subespecies (*tamae* y *manastarae*, n=16) para pecho, abdomen y *crissum* y dos grupos de ejemplares adultos e inmaduros (n=8) de la subespecie *tamae* para el resto de las variables de color y el patrón de estriado.

$$A = \frac{R - G}{R + G} \quad [3]$$

$$B = \frac{G - B}{G + B} \quad [4]$$

$$C = \frac{R + G + B}{3 \times (255)} \quad [5]$$

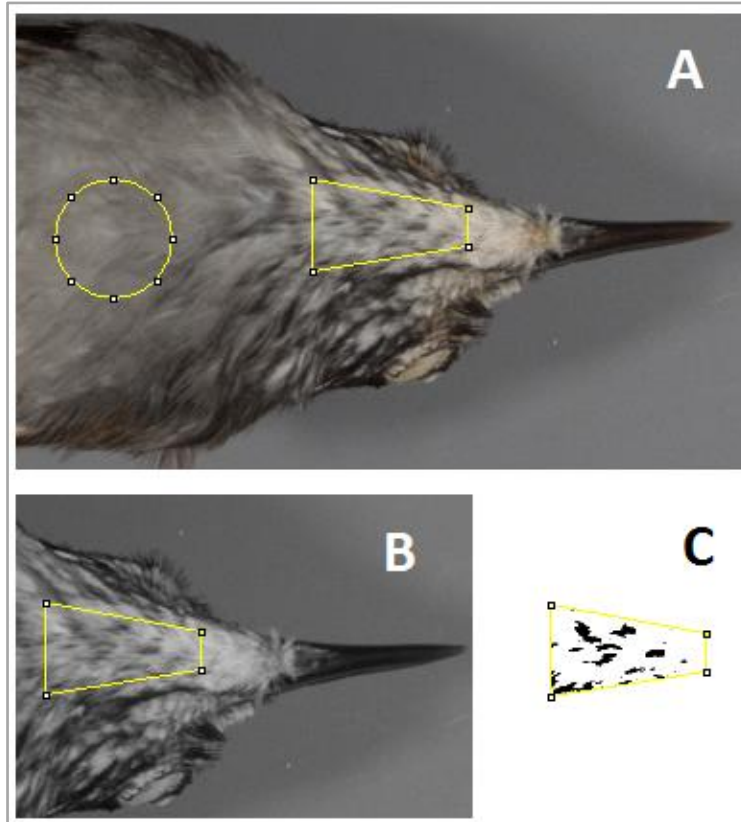


Figura 8. A) Selecciones circular y trapezoidal de 0,5 cm² realizadas en ImageJ. B) Imagen TIFF transformada a escala de grises (8 bit). C) Selección de estrías de la garganta en imagen transformada a blanco y negro con la herramienta Umbral.

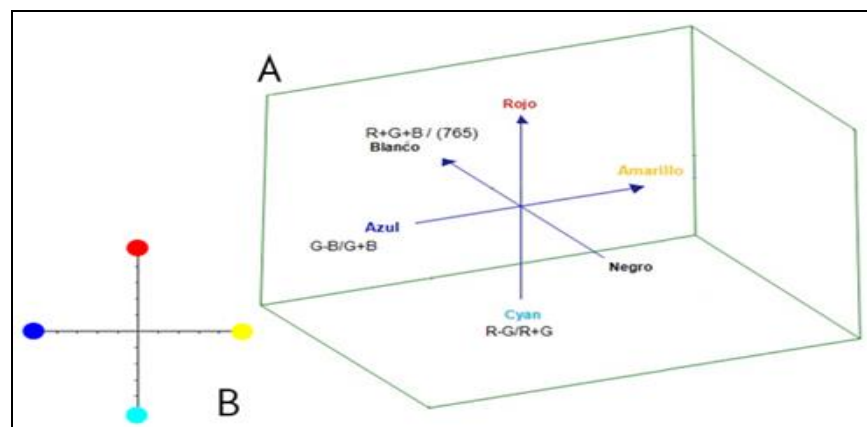


Figura 9. A) Espacio de Colores Opuestos para data en el espectro visible; B) Plano de variables de color o croma de cuatro cuadrantes, en sentido antihorario: 1) Amarillo-Rojo, 2) Rojo-Azul, 3) Azul-Cyan, 4) Cyan-Amarillo. El eje de brillo (blanco-negro) es la tercera dimensión con respecto a este plano (Endler 1990, 2012).

Análisis colorimétricos por edad y por sexo:

De forma equivalente a los análisis morfométricos, se llevaron a cabo pruebas tipo t para cada variable del espacio de colores opuestos ($\%ME < 10\%$) entre individuos adultos e inmaduros. Estas pruebas permitieron evaluar si existían diferencias asociadas a la edad relativa de los individuos, así como también comparaciones entre hembras y machos adultos. Estos análisis fueron acompañados por pruebas de diferencias entre ejemplares con plumaje gastado y no gastado y revisiones del cambio de color por envejecimiento de las pieles (*foxing*).

Análisis de variación de plumaje:

Para determinar si existían diferencias en el color de los parches entre las subespecies y entre los linajes por separado, se hizo una serie de pruebas tipo ANOVA para cada una de las tres variables en cada parche (*A*, *B* y *C*; Ecuaciones 3-5), seguidas de las pruebas *a posteriori* respectivas. Se realizaron gráficos de burbujas (Past) que permitieron interpretar el espacio de tres variables en dos dimensiones, o gráficos de envolventes convexas (MATLAB, funciones *convhulln* y *trisurf*) para mostrar superposición en tres dimensiones. Cuando se encontraron diferencias significativas entre pares de subespecies se realizaron pruebas de diagnosticabilidad del 75%. Los análisis de componentes principales y de función discriminante fueron ejecutados de la misma forma que con la data morfométrica.

Análisis de patrones de estriado:

Se cuantificó el porcentaje de estrías en la garganta de los ejemplares de *H. leucophrys*. En ImageJ se puede calcular el área de una región haciendo una selección sobre la imagen. En este estudio se determinó el área de la garganta (aprox. $0,5 \text{ cm}^2$) haciendo una selección trapezoidal que no incluyera la región malar y se extendiese desde la posición de los ojos hasta el

inicio de los hombros (Fig. 6 y 8A). Luego se transformó la fotografía RGB a escala de grises (8 bit) (Fig. 8B) y se aplicó la herramienta Umbral para obtener una imagen en blanco y negro (38px o 15%, Fig. 8C). Por último, se seleccionaron las estrías negras resultantes y se calculó su área con el objetivo de determinar el porcentaje de estriado (McKay, 2013). A dicha variable se le aplicó una transformación [$T\%E = \arcsen\sqrt{(\%E/100)}$] para llevar a cabo las pruebas de diferencias de medias ya mencionadas (Zar, 1999).

RESULTADOS

Diferenciación genética:

Se analizaron 55 secuencias de los genes ATP-sintasa 6 y ATP-sintasa 8 (842 pb), siendo 46 de *H. leucophrys*, 9 de *H. leucosticta*, una de *Cyphorhinus arada* y una de *Cistothorus palustris* (grupo externo). La matriz de 46 secuencias de la especie en estudio presentó 159 sitios variables con una riqueza de 29 haplotipos y valores altos de diversidad haplotípica ($h = 0,97$) y nucleotídica ($\pi = 0,055$) entre secuencias. Los diferentes linajes presentaron altos porcentajes de divergencia, cercanos o superiores al 6%, siendo mayores para TN93+G (6,5-9,3%) con respecto a *p* (5,6-7,7%) (Tabla 3).

El análisis de Máxima Parsimonia (MP) resultó en cinco árboles con topologías equivalentes, en las cuales se obtuvieron siete linajes geográficos con alto soporte estadístico (~100%): ZUL [Zulia], TAM [Tamá (Sur de Táchira) y P.N. Batallón y la Negra (Norte de Táchira, por debajo de 1700 m s.n.m.)], MER [Mérida y Táchira (Norte por encima de 2150 m s.n.m.)], LAR [Barinas, Trujillo y Lara], FAL [Falcón], YAR [Yaracuy] y CEN [Central: Aragua y Miranda] (Fig. 10 y 11; Apéndice 4). Las relaciones entre los clados tuvieron bajo soporte estadístico (<70%), a excepción del clado Central que se encuentra separado del resto en un 100%. Por su parte, el árbol de máxima verosimilitud presentó la misma topología encontrada en los análisis de MP, con valores similares de bootstrap. Adicionalmente, se obtuvo un soporte del 80% en el nodo en el cual Yaracuy se separa del resto de los linajes occidentales (Fig. 11). En los análisis de Máxima Verosimilitud (MV) se obtuvieron resultados equivalentes usando los tres algoritmos heurísticos (NNI, SPR rápido y SPR extensivo).

Tabla 3. Valores de divergencia genética p (matriz triangular inferior) y TN93+G (matriz triangular superior, modelo que mejor se ajustó a los datos) entre los linajes y dentro de linajes (diagonal). La desviación estándar se presenta en corchetes (1000 pseudoréplicas de bootstrap). (*Divergencia p / TN93+G).

	<i>CEN</i>	<i>YAR</i>	<i>FAL</i>	<i>LAR</i>	<i>MER</i>	<i>TAM</i>	<i>ZUL</i>
<i>CEN</i>	0,002 [0,001]	0,073 [0,012]	0,086 [0,013]	0,086 [0,012]	0,090 [0,014]	0,077 [0,012]	0,073 [0,011]
<i>YAR</i>	0,063 [0,008]	0,003 [0,001]	0,074 [0,012]	0,093 [0,014]	0,090 [0,014]	0,067 [0,011]	0,077 [0,012]
<i>FAL</i>	0,074 [0,009]	0,064 [0,009]	0,001 [0,001]	0,083 [0,012]	0,082 [0,013]	0,065 [0,010]	0,065 [0,011]
<i>LAR</i>	0,074 [0,009]	0,077 [0,009]	0,071 [0,009]	0,002 [0,001]	0,091 [0,013]	0,068 [0,011]	0,071 [0,011]
<i>MER</i>	0,074 [0,009]	0,073 [0,009]	0,069 [0,009]	0,076 [0,009]	0,006 / 0,007* [0,002]	0,065 [0,011]	0,084 [0,013]
<i>TAM</i>	0,066 [0,008]	0,058 [0,008]	0,057 [0,008]	0,059 [0,008]	0,056 [0,008]	0,004 [0,001]	0,065 [0,011]
<i>ZUL</i>	0,064 [0,008]	0,065 [0,008]	0,058 [0,008]	0,062 [0,008]	0,070 [0,009]	0,056 [0,008]	0,001 [0,001]

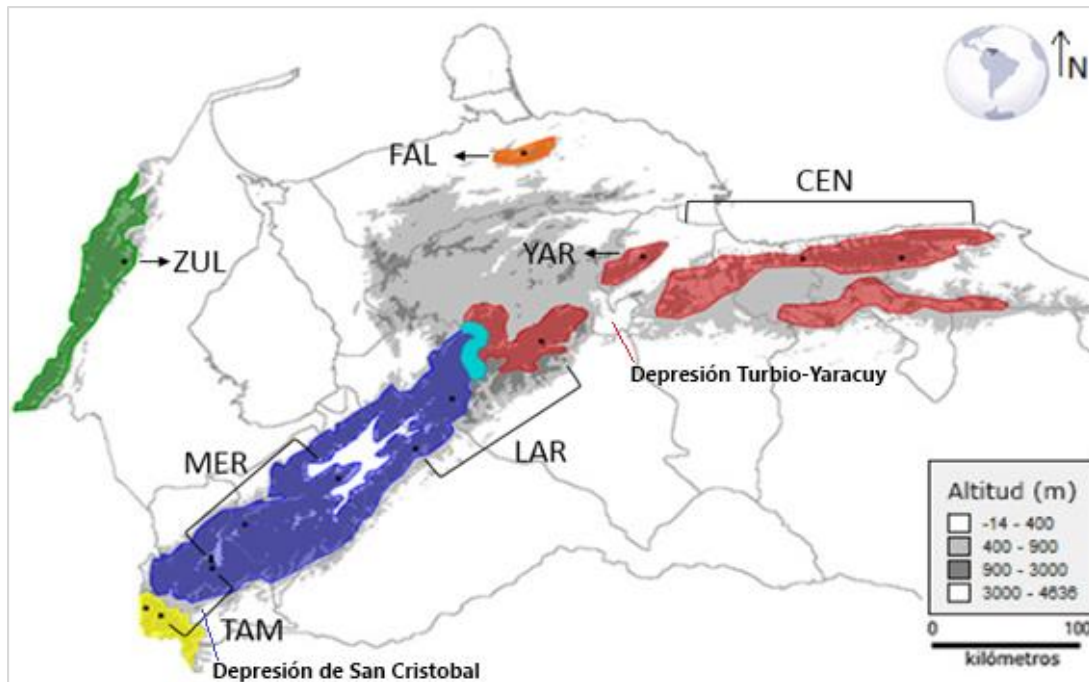


Figura 10. Distribución de los linajes de ATP-sintasa 6y8 de *H. leucophrys* encontrados con análisis de máxima verosimilitud en Venezuela (intervalo altitudinal de 900-3000 m s.n.m. basado en Hilty, 2003). En la zona limítrofe de los estados Trujillo y Lara (azul claro) se desconoce si existe contacto entre las poblaciones.

A partir de esta hipótesis filogeográfica se escogió una muestra por linaje para caracterizar la variación del marcador nuclear β -fibrinógeno intrón 4 (FGB-I4) (Apéndice 1). Para el linaje conformado por muestras de Barinas, Trujillo y Lara se escogió un individuo de esta última entidad, debido a que esta población teóricamente pertenece a *venezuelensis* y su presencia en este clado implicaría un patrón de no monofilia con respecto a *meridana*. Adicionalmente, se escogieron dos individuos para el linaje MER, uno de ellos de La Mucuy (estado Mérida) y el otro proveniente del P.N. Batallón y La Negra (Táchira), tomando en cuenta también el extremo sur de la distribución de *meridana* y la no monofilia de *tamae* (Fig. 10 y 11). Se secuenció una región de 594 pb donde se encontraron dos sitios variables y un sitio parsinomialmente informativo. Por ello, se considera que existe un único haplotipo en las poblaciones venezolanas de *H. leucophrys*. Esta poca variabilidad impidió la elaboración de hipótesis filogeográficas alternativas. Sin embargo, en la revisión de los electroferogramas se encontró que el individuo del norte de Táchira perteneciente al linaje MER era heterocigo, presentando dos alelos en uno de los sitios variables, aquellos presentes en las poblaciones de Mérida y de Tamá.

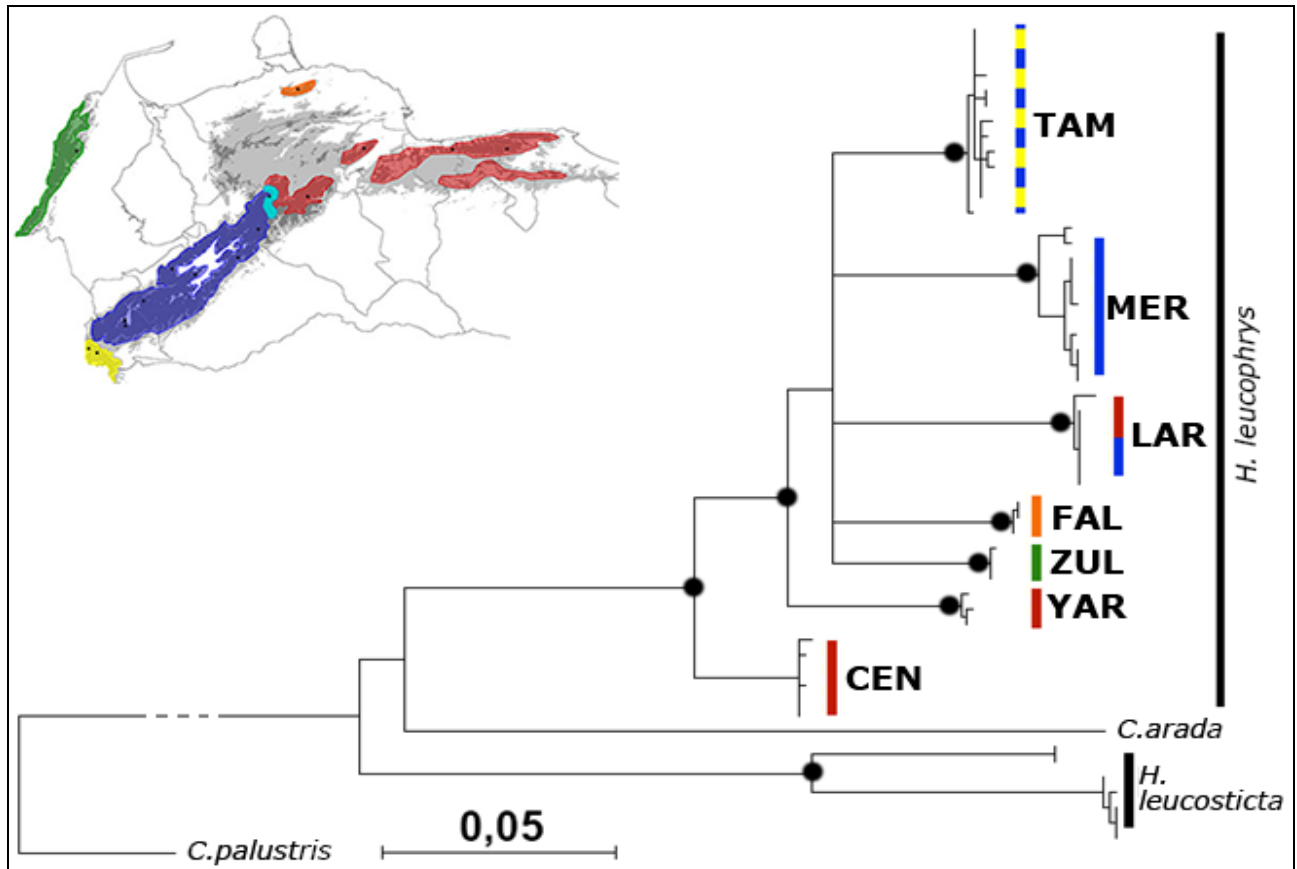


Figura 11. Hipótesis filogenética de MV de poblaciones venezolanas de *H. leucophrys* para los genes mitocondriales ATP-sintasa 6 y ATP-sintasa 8, con el algoritmo heurístico NNI y 1000 pseudoréplicas bootstrap. Se señalan los nodos con soporte bootstrap $\geq 80\%$ (círculos negros). Se muestra la distribución de las subespecies en colores en la esquina superior izquierda: *manastarae* (verde), *tamae* (amarillo), *meridana* (azul), *sanluisensis* (naranja) y *venezuelensis* (rojo), donde se puede evidenciar que varios de los clados no son recíprocamente monofiléticos.

Morfometría:

Los ejemplares analizados fueron considerados parte de una subespecie según la información de catálogo y si su localidad concordaba con la distribución reportada en la bibliografía. Para la asignación de un ejemplar a un linaje se consideró su cercanía geográfica a la localidad de la cual se analizaron muestras de tejido (Fig. 10). Se excluyeron de los análisis morfométricos a los ejemplares de la Serranía del Interior (no representada en este estudio) y a

aquellos del Norte de Táchira para los cuales no se tuviese muestras genéticas (dado el patrón de no monofilia hallado).

Se comprobó que las medidas reportadas en descripciones tradicionales concuerdan con las de este estudio para largos de Ala, Cola y Culmen (Apéndice 5). Adicionalmente, el error de medida del investigador para las variables analizadas no fue considerablemente mayor al 10%, una medida aceptable de replicabilidad, a excepción del Ancho de Pico con 15,8% (Apéndice 6). Por lo tanto, se considera que la data morfométrica obtenida es confiable. Para el Largo de Culmen no se calculó error de medida, mas los patrones obtenidos fueron similares a los resultantes de los análisis de Largo de Pico, por lo que se usa sólo esta última medida.

En los análisis de variación por edad se observaron diferencias significativas entre los machos adultos e inmaduros de *manastarae* y entre las hembras de *venezuelensis*. En general, los ejemplares inmaduros presentaron tamaños menores a aquellos sin comisuras rictales engrosadas (Apéndice 5), pero este patrón no fue consistente para todas las variables. Por ello, se consideró necesario realizar los análisis ulteriores sólo con ejemplares adultos. Por otro lado, los machos de los grupos de estudio (subespecies y linajes) presentaron tamaños superiores, con diferencias significativas, a los de las hembras para la mayoría de las variables (a excepción de AnP) (Apéndice 7). Por lo tanto, resultó necesario realizar los análisis de variación geográfica por separado. Sin embargo, el número de hembras para algunas subespecies o linajes fue muy bajo ($n < 5$), por lo que para este estudio se elaboraron las pruebas de diferencias medias sólo para ejemplares machos adultos (Tabla 4).

Tabla 4. Ejemplares machos adultos de *H. leucophrys* utilizados en análisis de variación geográfica.

Institución	Subespecie				
	<i>manastarae</i>	<i>meridana</i>	<i>sanluisensis</i>	<i>tamae</i>	<i>venezuelensis</i>
COP	7	10	4	21	22
MHNLS/PONS	5	0	0	0	2
EBRG	0	1	0	0	1
Total (73)	12	11	4	21	25

Variación geográfica morfométrica:

Al comparar tanto subespecies como linajes, las variables donde se observaron diferencias significativas entre los grupos fueron los largos de Cola, Tarso y Pico (Tablas 5 y 6). Adicionalmente, se obtuvieron diferencias significativas en los análisis de Largo de Ala y Alto de Pico entre subespecies. Por su parte, el Ancho de Pico parece ser una medida poco informativa para discernir entre poblaciones venezolanas, probablemente debido al elevado porcentaje de error de medida. En estos análisis no se pudieron incluir a los grupos de Falcón (*sanluisensis* y FAL) ni Yracuy (linaje YAR) dados los bajos tamaños muestrales.

Tabla 5. Valores morfométricos medios (mm) \pm desviación estándar de las subespecies de *H. leucophrys* y tamaño muestral [n]. Se señalan las variables en las cuales se encontraron diferencias significativas en los ANOVA's (*) o Kruskal-Wallis (~).

<i>Variable</i>	<i>manastarae</i>	<i>tamae</i>	<i>meridana</i>	<i>sanluisensis</i>	<i>venezuelensis</i>
LA (*)	55,2 \pm 1,95 [12]	53,7 \pm 1,20 [21]	54,7 \pm 1,27 [11]	56,8 \pm 3,20 [4]	54,2 \pm 1,43 [24]
LC (~)	30,1 \pm 0,83 [11]	29,0 \pm 1,60 [21]	30,7 \pm 1,74 [11]	26,5 \pm 1,29 [4]	27,8 \pm 1,28 [23]
LT (*)	22,27 \pm 0,85 [12]	22,77 \pm 0,68 [16]	24,15 \pm 0,92 [11]	23,16 \pm 0,86 [4]	22,77 \pm 0,60 [23]
LP (*)	10,99 \pm 0,73 [12]	9,84 \pm 0,33 [18]	9,80 \pm 0,37 [11]	10,51 \pm 0,36 [4]	10,83 \pm 0,73 [20]
AnP	2,94 \pm 0,17 [12]	2,98 \pm 0,19 [20]	2,92 \pm 0,15 [11]	3,05 \pm 0,12 [4]	3,06 \pm 0,16 [21]
AIP (*)	3,35 \pm 0,20 [12]	3,50 \pm 0,17 [20]	3,29 \pm 0,14 [10]	3,43 \pm 0,12 [4]	3,44 \pm 0,22 [21]

Tabla 6. Valores morfométricos medios (mm) \pm desviación estándar de los linajes de *H. leucophrys* y tamaño muestral [n]. Se señalan las variables en las cuales se encontraron diferencias significativas en los ANOVA's (*) o Kruskal-Wallis (~).

<i>Variable</i>	<i>ZUL</i>	<i>TAM</i>	<i>MER</i>	<i>FAL</i>	<i>LAR</i>	<i>YAR</i>	<i>CEN</i>
LA	55,2 \pm 1,95 [12]	53,7 \pm 1,20 [21]	55,0 \pm 1,53 [8]	56,8 \pm 3,20 [4]	54,3 \pm 1,04 [8]	54,2 \pm 1,30 [5]	54,1 \pm 1,55 [15]
LC (~)	30,1 \pm 0,83 [11]	29,0 \pm 1,60 [21]	30,9 \pm 1,35 [8]	26,5 \pm 1,29 [4]	29,5 \pm 2,07 [8]	28,0 \pm 1,23 [5]	27,5 \pm 1,34 [14]
LT (*)	22,27 \pm 0,85 [12]	22,77 \pm 0,68 [16]	24,54 \pm 0,91 [8]	23,16 \pm 0,86 [4]	22,93 \pm 0,63 [9]	23,08 \pm 1,07 [5]	22,76 \pm 0,41 [13]
LP (~)	10,99 \pm 0,73 [12]	9,84 \pm 0,33 [18]	9,81 \pm 0,35 [8]	10,51 \pm 0,36 [4]	9,74 \pm 0,37 [8]	11,09 \pm 0,13 [4]	11,12 \pm 0,55 [12]
AnP	2,94 \pm 0,17 [12]	2,98 \pm 0,19 [20]	2,96 \pm 0,17 [8]	3,05 \pm 0,12 [4]	2,86 \pm 0,09 [8]	3,20 \pm 0,14 [4]	3,08 \pm 0,12 [13]
AIP	3,35 \pm 0,20 [12]	3,50 \pm 0,17 [20]	3,34 \pm 0,12 [8]	3,43 \pm 0,12 [4]	3,31 \pm 0,23 [7]	3,51 \pm 0,03 [4]	3,43 \pm 0,25 [13]

En general, los ejemplares de *meridana* muestran tarsos más largos que el resto de las subespecies, *venezuelensis* y *manastarae* cuentan con picos más largos y *venezuelensis* presenta una cola más corta (Fig. 12; Tabla 7). Este patrón se repite en las comparaciones por linaje, pero en este caso los individuos de LAR muestran picos y colas similares a los ejemplares andinos (MER), concordando con la variación observada en el marcador mitocondrial. Los ejemplares de la subespecie *sanluisensis* son similares a los de *venezuelensis* en la mayoría de los caracteres morfométricos.

Al realizar las pruebas de diagnosticabilidad ninguna combinación de dos subespecies (o linajes) obtuvo valores D positivos simultáneamente. En esta prueba se generan dos intervalos de distribución t (con valores α de 0,25 y 0,01), obteniéndose valores D positivos cuando no existe superposición. Los resultados permiten diferenciar de forma no recíproca al linaje MER del linaje CEN (Largo de Tarso) y a este último del clado de Tamá (Largo de Pico) (Apéndice 8A).

Tabla 7. Comparaciones *a posteriori* de variables morfométricas entre subespecies y entre linajes de *H. leucophrys*. Se muestran las variables en las que se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en pruebas pareadas de Tukey o un valor de p de Mann-Whitney significativo tras la corrección de Bonferroni. Se señalan en negrita las variables que muestran el mismo patrón de diferencia entre subespecies y entre linajes.

	<i>tamae</i>	<i>meridana</i>	<i>venezuelensis</i>	
<i>manastarae</i>	LA / LP	LT / LP	LC	
<i>tamae</i>		LC / LT / AIP	LC / LP	
<i>meridana</i>			LC / LT / LP	
	<i>TAM</i>	<i>MER</i>	<i>LAR</i>	<i>CEN</i>
<i>ZUL</i>	LP	LT / LP	LP	LC
<i>TAM</i>		LT		LP
<i>MER</i>			LT	LC / LT / LP
<i>LAR</i>				LP

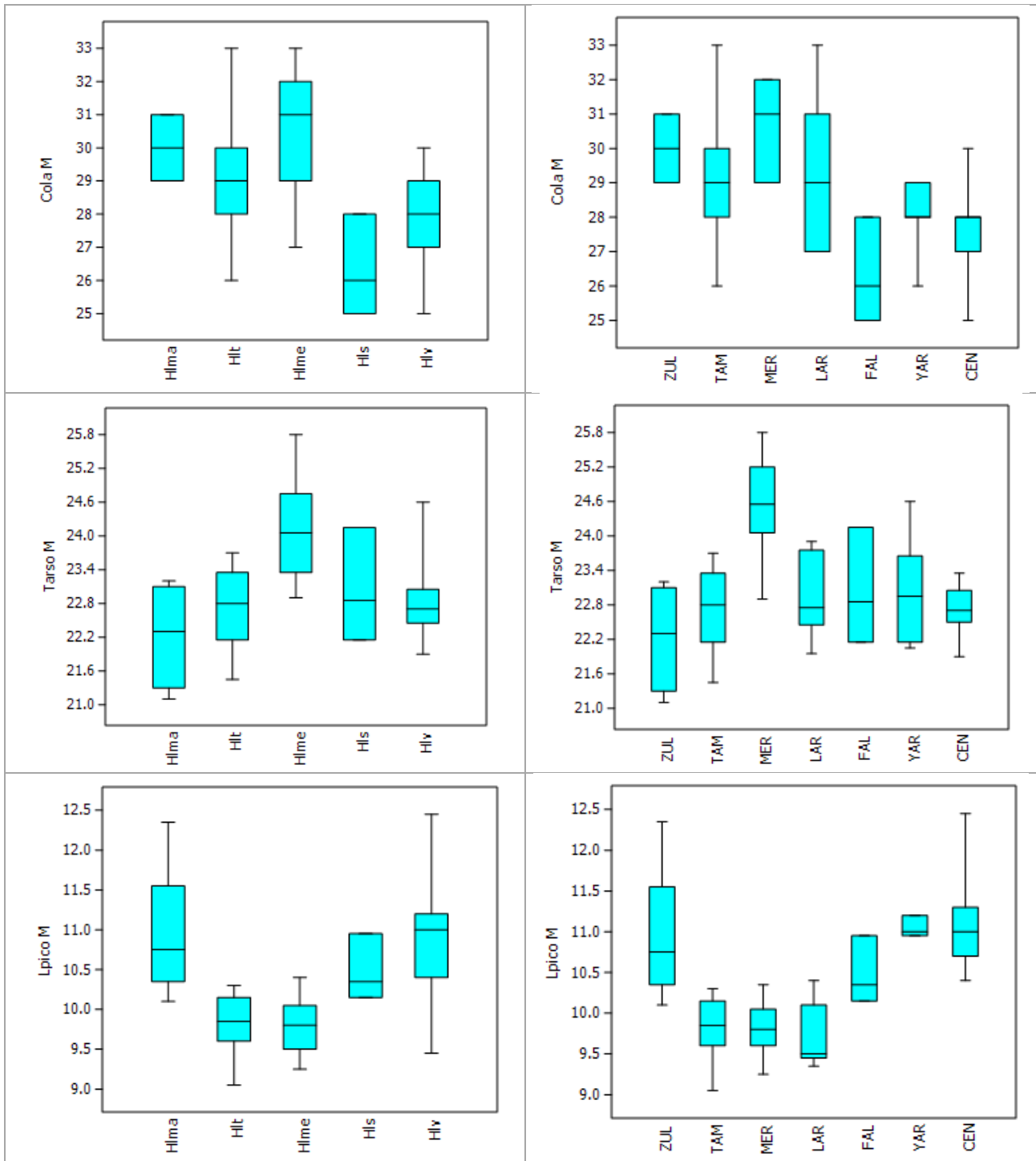


Figura 12. Gráficos de caja y bigote de largos de Cola, Tarso y Pico (mm) de machos de los grupos de estudio. Los bigotes representan los valores mínimo y máximo y se muestran los percentiles 25, 50 (línea horizontal dentro de la caja) y 75. Las subespecies se codifican de la siguiente forma: *manastarae* (Hlma), *tamae* (Hlt), *meridana* (Hlme), *sanluisensis* (Hls) y *venezuelensis* (Hlv).

Para los análisis de componentes principales no se consideraron las variables de culmen y ancho de pico (%ME>10%). El resto de las variables fue transformada logarítmicamente y se usó la matriz varianza-covarianza para obtener dos componentes principales que explicaron el 37,9% y el 26,9% de la varianza, respectivamente. El primer componente principal fue explicado por una relación inversa entre pico y cola y el segundo está asociado al tamaño general de los ejemplares (Fig. 14A). Resalta el leve solapamiento entre los polígonos de *meridana* y *venezuelensis* (Fig. 14B), superposición que desaparece en la ordenación de los linajes, donde los ejemplares de LAR y MER se agrupan de mejor forma (Fig. 14C). Al elaborar el DFA se obtuvo un porcentaje de clasificación de 72%, lo que sugiere que con estos caracteres no se pueden clasificar con certeza a las subespecies. En el cluster generado puede evidenciarse que ninguna de las subespecies se separa de manera clara (Fig. 13).

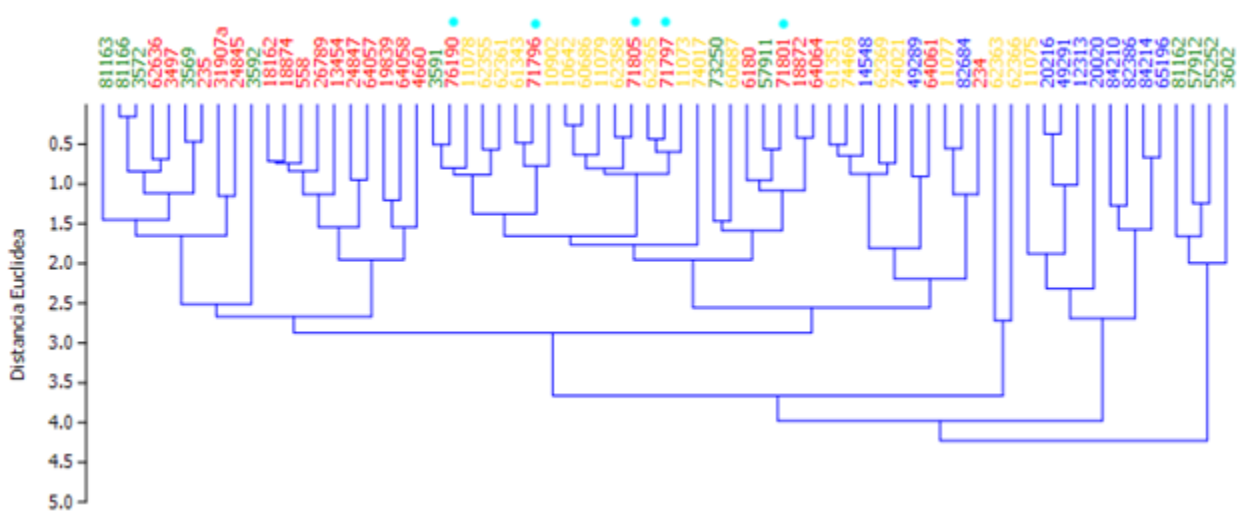


Figura 13. Diagrama de agrupamiento de individuos de *H. leucophrys* usando la distancia euclídea (UPGMA) de los scores obtenidos en el análisis discriminante morfométrico, Los colores indican las subespecies consideradas: *manastarae* (verde), *tamae* (amarillo), *meridana* (azul) y *venezuelensis* (rojo). En azul claro se señalan los individuos de la subespecie *venezuelensis* del estado Lara.

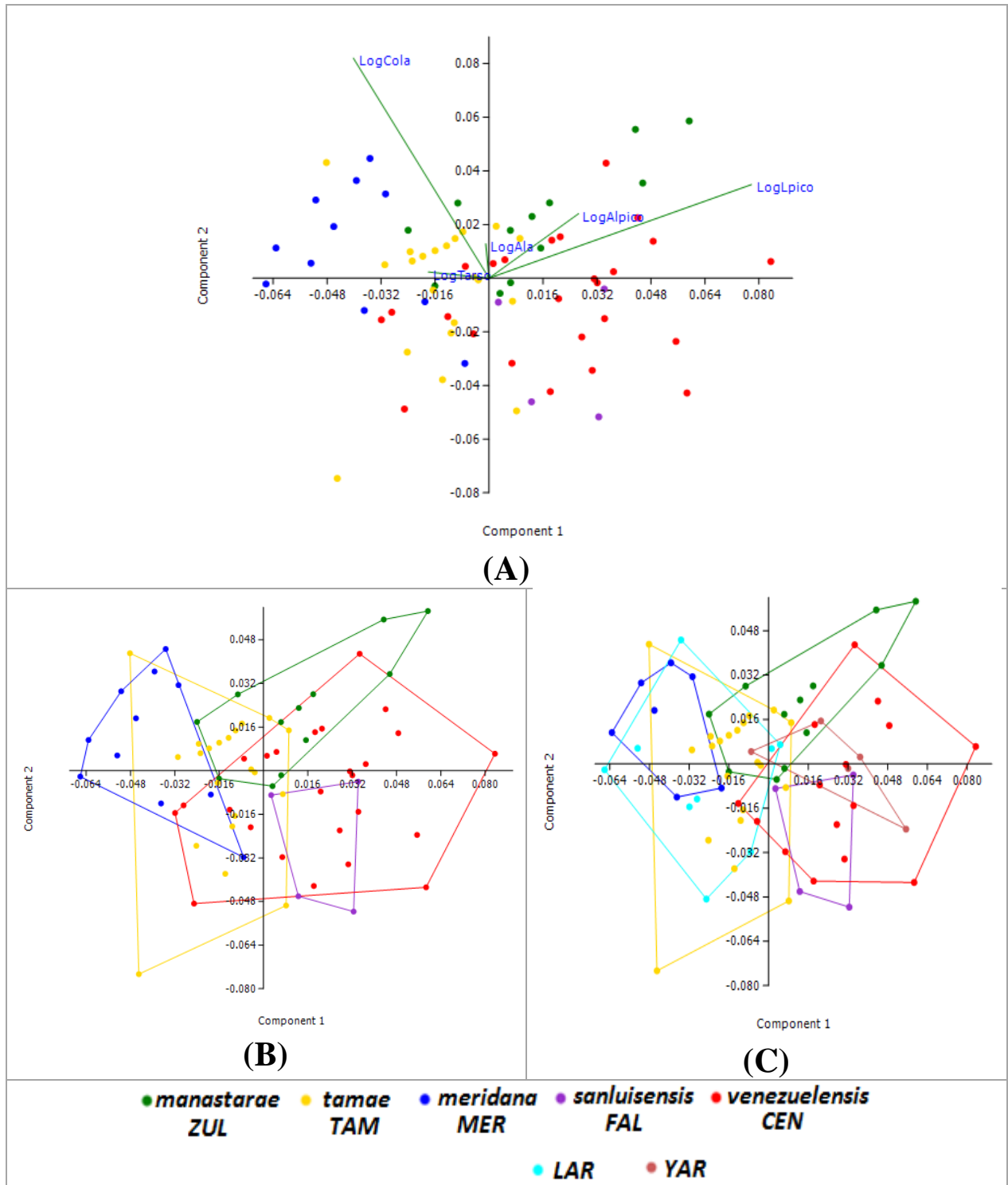


Figura 14. Gráficos del análisis de componentes principales morfométrico. A) Biplot de las variables transformadas. B) Ordenación de las subespecies. C) Ordenación de los linajes. Los polígonos representan las envolventes convexas de cada grupo de estudio con la coloración correspondiente a la leyenda inferior.

Colorimetría:

Se analizaron 398 fotografías (dorsales y ventrales) correspondientes a 199 ejemplares. Como en los análisis morfométricos, fueron excluidos los individuos de la Serranía del Interior y de localidades no visitadas del Norte de Táchira. Antes de fotografiar a los ejemplares se revisó su estado general, evitando usar aquellos con plumaje en muda y determinando si la región a evaluar se encontraba gastada (i.e. plumas con barbas ausentes o rotas). Se realizaron comparaciones entre individuos machos adultos de la misma localidad y se pudo verificar que no existen diferencias significativas por plumaje gastado. Siendo consistentes con los análisis morfológicos previos, no fueron incluidos los ejemplares inmaduros, ya que al realizar pruebas exploratorias de diferencias de edad en la subespecie *tamae* no se encontraron diferencias significativas, pero los ejemplares inmaduros mostraron desviaciones estándar mayores. En el brillo de garganta (*C*, Ecuación 5) se encontraron diferencias significativas entre machos y hembras de *tamae* (Apéndice 9), característica asociada a la proporción de estrías (ver más adelante). En el resto de las variables consideradas no se encontraron diferencias significativas entre los sexos de *H. leucophrys*, pero las hembras no fueron incluidas dados los bajos tamaños muestrales.

La mayoría de pieles de ejemplares colectados en un período mayor a 10 años presentaban plumas ligeramente amarillentas (*foxing*) en los parches ventrales (blancos y grises), condición que no se presentaba en aquellos colectados recientemente (últimos 10 años) (véase %ME de variables A y B; Apéndice 6). Como consecuencia y dado que se usó la clasificación de segmentos (Endler, 1990), donde las variables se separan en color y brillo (Fig. 9), se consideró sólo el componente *C* (brillo) para los análisis del abdomen, pecho y garganta, pues los grises y blancos se distribuyen a lo largo de dicho eje ($R = G = B$) y teóricamente no presentan valores en

el plano *A-B* (Ecuaciones 3 y 4). En análisis de espectrofotometría, Armenta y colaboradores (2008) no encontraron diferencias en saturación, croma o brillo asociadas al tiempo de almacenamiento en parches marrón-rojizos en *Sialia sialis* (Eastern Bluebird). Sin embargo, para evitar introducir posibles errores en los análisis se decidió excluir a los ejemplares colectados en los últimos 15 años de las pruebas de parches marrones (manto y *crissum*). En la determinación del error de medida (Apéndice 6) la corona y los componentes de color (*A* y *B*) de los parches ventrales tuvieron alto porcentaje de error. Por las razones explicadas anteriormente en Morfometría, estas variables no se utilizaron en las pruebas tipo ANOVA ni en los análisis multivariados. En total, se consideraron 77 ejemplares de las cinco subespecies de *H. leucophrys*, en proporciones equivalentes a los análisis morfométricos.

Diferenciación geográfica colorimétrica:

Las diferencias de color encontradas entre las subespecies concuerdan en parte con la taxonomía, particularmente en el brillo de la región ventral, desde el abdomen hasta la garganta (parches blancos o grises). Los ejemplares andinos (*tamae* y *meridana*) tienen un plumaje gris más oscuro que los ejemplares de *manastarae* y *venezuelensis*, presentando la subespecie de la Sierra de San Luis un brillo intermedio (Fig. 15). Los patrones de brillo hallados en garganta, pecho y abdomen son equivalentes, pero el de este último parche presentó mayor variabilidad (18,8%ME). Debido al bajo número de ejemplares de Falcón, éstos no fueron incluidos en las pruebas de diferencias de medias. El comportamiento de las variables ventrales de brillo fue similar en las comparaciones entre subespecies y linajes (Tabla 8), encontrándose diferencias significativas en los tres parches. Coincidiendo con los patrones morfométricos descritos anteriormente, los individuos de LAR presentaron gargantas y pechos oscuros, siendo similares al linaje MER.

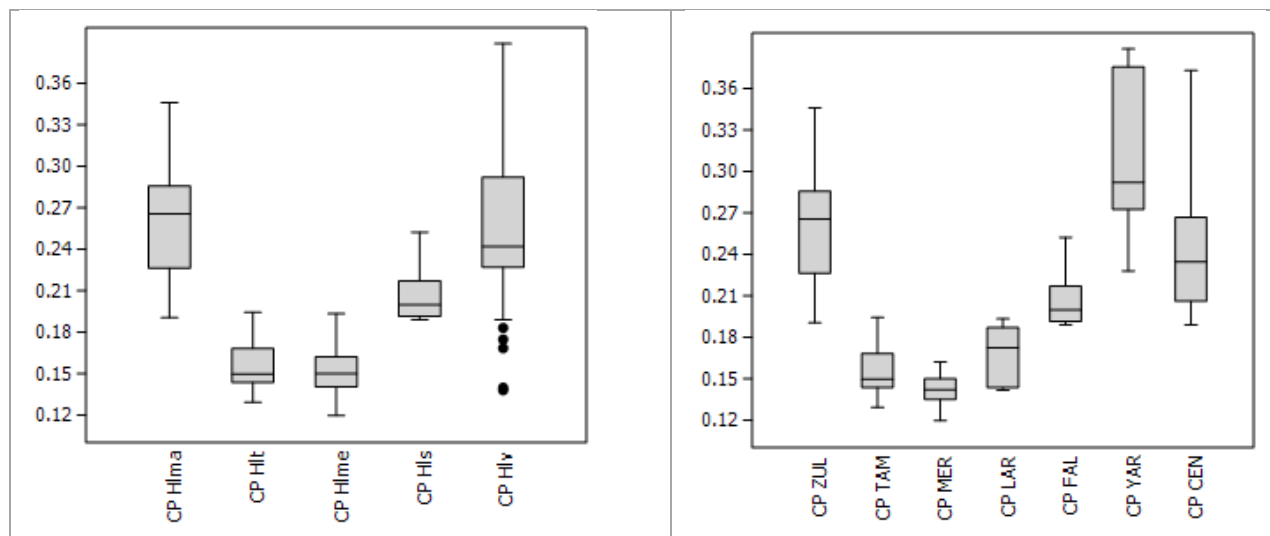


Figura 15. Gráficos de caja y bigote del Brillo de pecho (CP) de los grupos de estudio. Los bigotes representan los valores mínimo y máximo y se muestran los percentiles 25, 50 (línea horizontal dentro de la caja) y 75. Las subespecies se codifican de la siguiente forma: *manastarae* (Hlma, n=12), *tamae* (Hlt, n=21), *meridana* (Hlme, n=10), *sanluisensis* (Hls, n=5) y *venezuelensis* (Hlv, n=29). Los puntos negros en Hlv representan ejemplares de Lara (n=5).

Tabla 8. Comparaciones *a posteriori* de variables de brillo (C) entre subespecies y entre linajes de *H. leucophrys*. Se señalan las variables en las que se encontró diferencias significativas ($p < 0,05$) en pruebas pareadas de Tukey o un valor de p de Mann-Whitney significativo tras la corrección de Bonferroni. Se marcan en negrita las variables que muestran el mismo patrón de diferencia entre subespecies y entre linajes. Se coloca CV si se encontraron diferencias ventrales en conjunto en garganta (CG), pecho (CP) y abdomen (CA). (*) Para los linajes MER y YAR no fueron evaluadas diferencias en *crissum* por bajo tamaño muestral.

	<i>tamae</i>	<i>meridana</i>	<i>venezuelensis</i>		
<i>manastarae</i>	CV / CM	CV			
<i>tamae</i>		CM	CV		
<i>meridana</i>			CV		
	<i>TAM</i>	<i>MER*</i>	<i>LAR</i>	<i>YAR*</i>	<i>CEN</i>
<i>ZUL</i>	CV / CM	CV	CV	-	CCr
<i>TAM</i>		-	-	CV	CV
<i>MER</i>			-	CV	CV
<i>LAR</i>				CV	CG / CP / CCr
<i>YAR</i>					-

En el brillo del *crissum* fueron halladas diferencias significativas entre los linajes, ZUL y LAR presentaron plumajes menos opacos que los ejemplares de CEN, lo que coincide con lo reportado entre poblaciones de Zulia y la Cordillera de la Costa (Aveledo y Ginés, 1952). Sin embargo, al comparar las subespecies, *manastarae* y *venezuelensis*, estas diferencias no fueron marcadas dada la inclusión de los ejemplares de Lara en el segundo grupo. Se pudo comprobar también que la subespecie *manastarae* es diferente a *tamae* en el color del *crissum* (Tabla 9 y Fig. 16), siendo esta última de un color marrón con tonalidades más naranjas. También se pudo diferenciar a los individuos de TAM de los del linaje LAR, pero la comparación con MER no pudo realizarse, por lo que es incierto si existen diferencias en el *crissum* de *tamae* y *meridana*, como fue propuesto por Zimmer y Phelps (1944). Por otro lado, también se hallaron diferencias significativas en el color y brillo del manto entre los ejemplares de Tamá y Zulia, siendo los primeros más oscuros y rojizos y los últimos más amarillentos y claros. La única diferencia significativa encontrada entre los dorsos de *meridana* y *tamae* fue de brillo. Sin embargo, se observó una gran superposición y variabilidad individual (Fig. 17) y se encontró que en promedio los ejemplares de Mérida resultaron menos oscuros, lo que contradice las descripciones taxonómicas.

Con respecto a las pruebas de diagnosticabilidad se obtuvieron valores D positivos simultáneos para el brillo de garganta (CG) en las comparaciones entre linajes siguientes: MER-YAR, MER-CEN y TAM-CEN. En el resto de las pruebas pareadas de linajes se pudo diagnosticar al menos a un grupo de otro (Apéndice 8B), hecho que no ocurrió al comparar las subespecies.

Tabla 9. Comparaciones *a posteriori* de variables de color (A y B) entre subespecies y entre linajes de *H. leucophrys*. Se señalan las variables en las que se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en pruebas pareadas de Tukey o un valor de p de Mann-Whitney significativo tras la corrección de Bonferroni. Se marcan en negrita las variables que muestran el mismo patrón de diferencia entre subespecies y entre linajes.

	<i>tamae</i>	<i>meridana</i>	<i>venezuelensis</i>
<i>manastarae</i>	ACr / BCr / AM	-	-
<i>tamae</i>		-	BCr
<i>meridana</i>			-
	<i>TAM</i>	<i>LAR</i>	<i>CEN</i>
<i>ZUL</i>	ACr / BCr / AM	-	-
<i>TAM</i>		BCr	BCr / BM
<i>LAR</i>			-

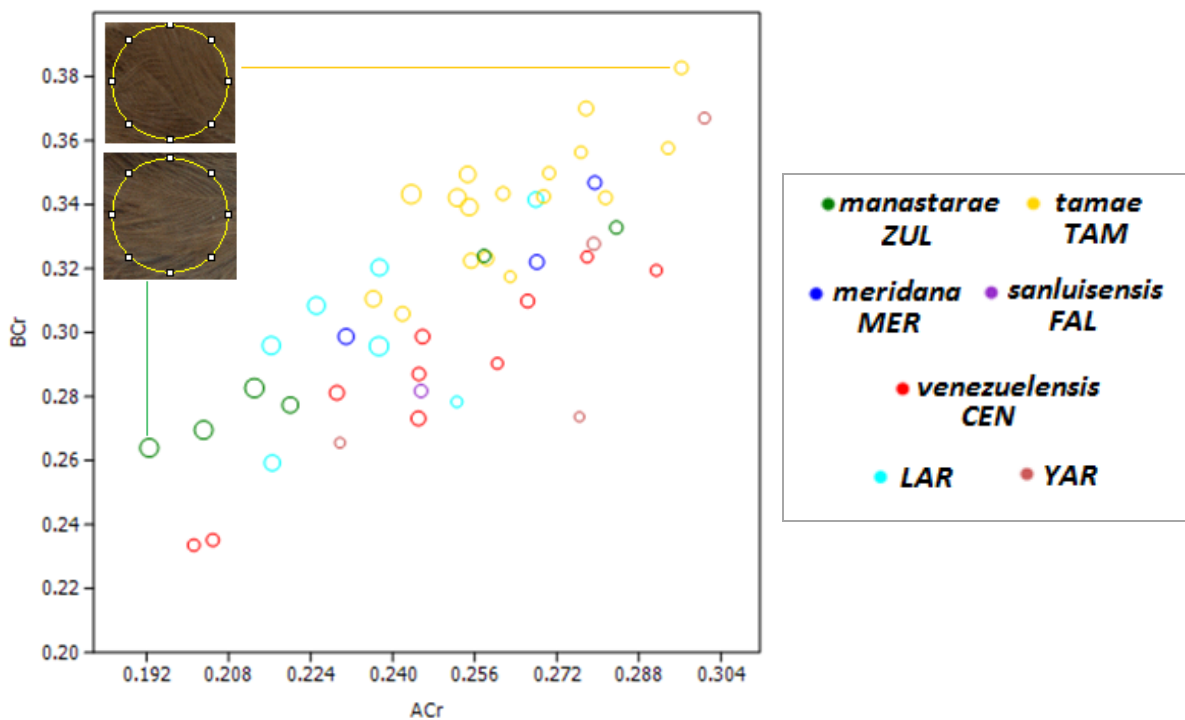


Figura 16. Gráfico de burbujas de variables de color del *Crissum* de los linajes evaluados. En el plano se muestran las dos variables de color (AB) y el tamaño de la burbuja está asociado al valor positivo en el eje de brillo (C). Los valores extremos en el plano son: Rojo (ACr=1; BCr=0) y Amarillo (ACr=0; BCr=1). Se añaden imágenes del plumaje de individuos de ZUL y TAM.

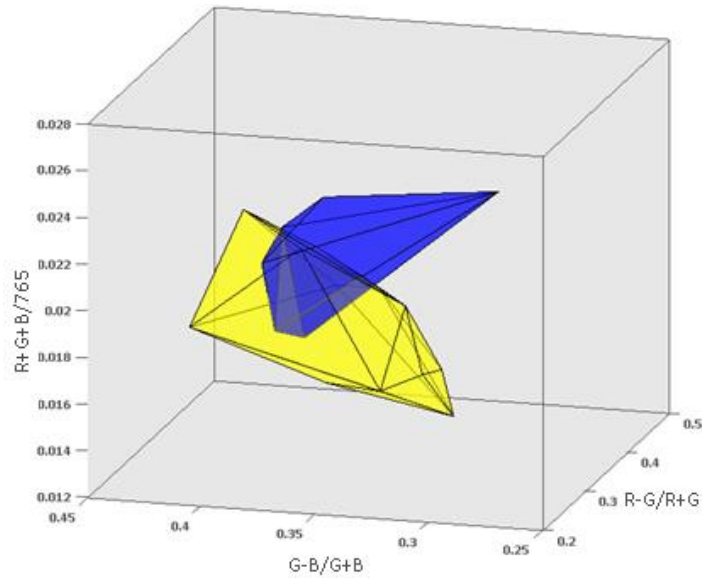


Figura 17. Envolturas convexas del Manto de los individuos de las subespecies *tamae* (amarillo) y *meridana* (azul) en el espacio de colores opuestos.

En los análisis de componentes principales se utilizó la matriz varianza-covarianza para las variables colorimétricas y se obtuvieron 2 componentes principales: el primero asociado al brillo de los parches ventrales (grises o blancos), el cual explicó el 60,8% de la varianza y el segundo, relacionado con las variables de color de los parches marrones, que explicó el 18,8% de la varianza (Fig. 18A). El patrón del primer componente principal de los análisis morfométrico y colorimétrico es concordante, agrupándose de un lado los ejemplares de *tamae*, *meridana* y Lara (linajes TAM, MER y LAR) y en el lado opuesto aquellos correspondientes a *venezuelensis*, *manastarae* y *sanluisensis* (linajes CEN, YAR, ZUL y FAL). Las subespecies *tamae* y *manastarae* no se solapan en el espacio multivariado y entre *meridana* y *venezuelensis* se observa nuevamente superposición, al igual que en los análisis morfométricos, la cual desaparece al considerar los linajes (Fig. 18B-C). El análisis discriminante permitió una mejor clasificación de las subespecies (84%), lo que se refleja en el agrupamiento construido con distancia euclídea (Fig. 19).

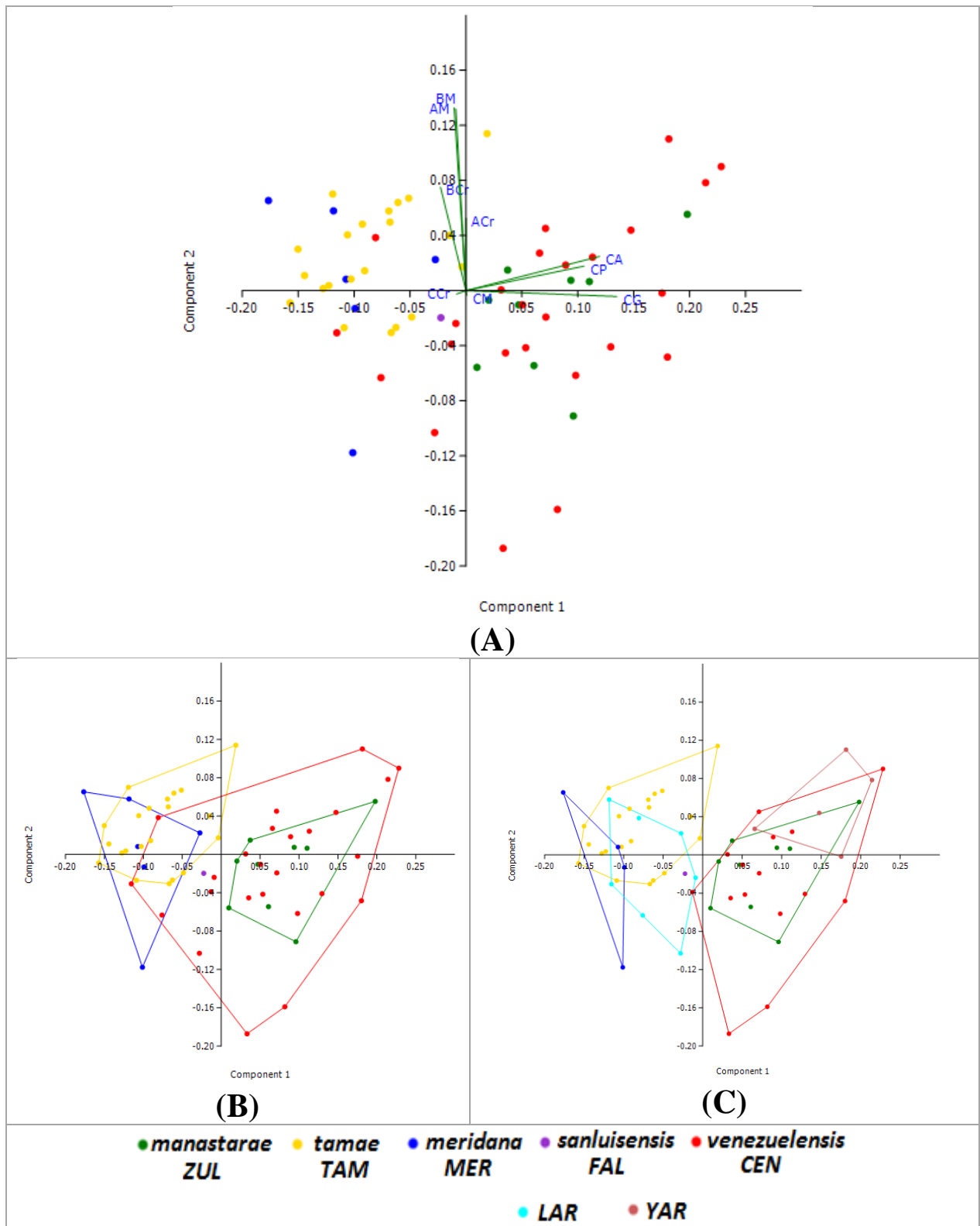


Figura 18. Gráficos del análisis de componentes principales colorimétrico. A) Biplot de las variables. B) Ordenación de las subespecies. C) Ordenación de los linajes. Los polígonos representan las envolventes convexas de cada grupo de estudio con la coloración correspondiente a la leyenda inferior.

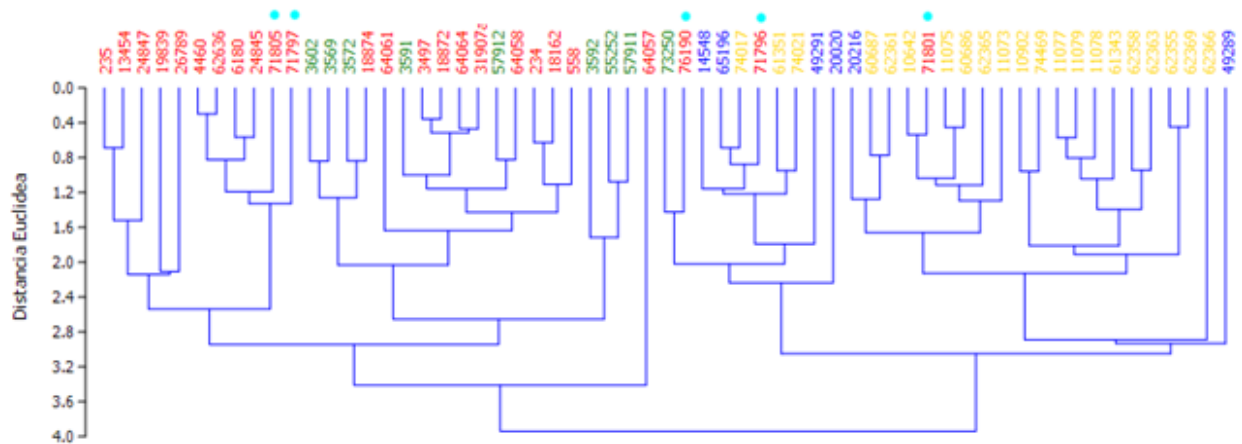


Figura 19. Diagrama de agrupamiento de individuos de *H. leucophrys* usando la distancia euclídea (UPGMA) de los scores obtenidos en el análisis discriminante colorimétrico. Los colores indican las subespecies consideradas: *manastarae* (verde), *tamae* (amarillo), *meridana* (azul) y *venezuelensis* (rojo). En azul claro se señalan los individuos de la subespecie *venezuelensis* del estado Lara.

En este gráfico de agrupamiento se puede diferenciar claramente entre un conglomerado principalmente andino y otro constituido por ejemplares de las cordilleras ubicadas al norte de Venezuela, ubicándose más individuos del estado Lara (n=3) con el primer conglomerado que con el segundo (n=2).

Patrones de plumaje:

Así como en el brillo de garganta (CG), también se encontraron diferencias significativas entre machos y hembras de *tamae* en el porcentaje de estriado (transformado), aunque con cierta variabilidad y solapamiento (Apéndice 9). Adicionalmente, el 24,7% de machos adultos (n=19) presentó un patrón de barras oscuras en plumas del abdomen, desde tenue hasta marcado. Estos machos pertenecen a las subespecies *tamae* (4), *meridana* (4), *sanluisensis* (1) y *venezuelensis* (10). Dicho patrón también ha sido reportado en *H. negreti* y en las subespecies nominal y *boliviana* (Todd, 1932; Salaman y col, 2003).

Variación geográfica del patrón de estriado:

Las subespecies *manastarae* y *venezuelensis* se diferencian de las dos subespecies andinas en la proporción de estrías de la garganta, comprobando que los ejemplares de Perijá tienen gargantas inmaculadas como *venezuelensis* (Fig. 20). Estas diferencias fueron significativas en las pruebas de Kruskal-Wallis y Mann-Whitney para subespecies y linajes. Además, se pudo evidenciar que los machos de Lara presentaron estrías en porcentajes variables, pero que en el resto de los miembros de *venezuelensis* la proporción fue siempre menor y no superó el 2%. Dicha subespecie no fue diagnosticable con respecto a las andinas al incluir ejemplares de Lara, pero en el resto de las pruebas del 75% al menos una subespecie (o linaje) pudo diferenciarse de otra (pero no de manera recíproca) y en la comparación TAM-YAR se obtuvieron valores D positivos recíprocos (Apéndice 8B).

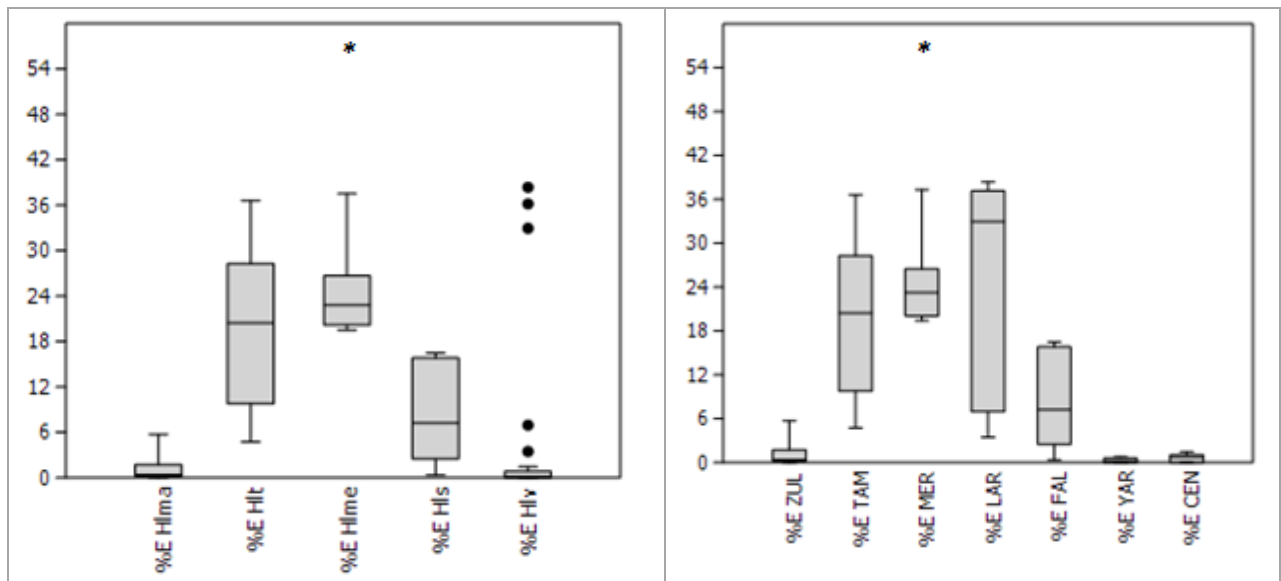


Figura 20. Gráficos de caja y bigote del porcentaje de estrías de garganta (%E) de los grupos de estudio. Los bigotes representan los valores mínimo y máximo y se muestran los percentiles 25, 50 (línea horizontal dentro de la caja) y 75. Las subespecies se codifican de la siguiente forma: *manastarae* (Hlma, n=9), *tamae* (Hlt, n=19), *meridana* (Hlme, n=8), *sanluisensis* (Hls, n=5) y *venezuelensis* (Hlv, n=21). Los puntos negros en Hlv representan ejemplares de Lara (n=5) y el asterisco en Hlme-MER un valor extremo.

DISCUSIÓN

La descripción de patrones de diferenciación geográfica, tanto genética como morfológica, es el punto de partida para identificar los procesos asociados con el origen y mantenimiento de la alta biodiversidad presente en el Neotrópico. En este estudio describimos la variación geográfica presente en el cucarachero *Henicorhina leucophrys*, para el cual han sido descritas cinco subespecies para el país con base en caracteres morfológicos. Sin embargo, nuestros resultados muestran una alta variación individual y poca consistencia en diversos caracteres para diferenciar poblaciones a nivel subespecífico. Este patrón contrasta con la alta diferenciación mostrada por los marcadores moleculares mitocondriales, lo que sugiere un papel importante del aislamiento geográfico en la diversidad, incluso críptica, de este cucarachero en el país.

Análisis filogenéticos basados en caracteres moleculares revelaron una mayor diversidad a la descrita taxonómicamente para *H. leucophrys* en Venezuela. Siete linajes evolutivos (i.e., clados) describen la estructura filogenética encontrada en el análisis de 13 poblaciones que representan a las cinco subespecies de *H. leucophrys* descritas para el país. Sin embargo, las relaciones filogenéticas entre los diferentes clados no se pudieron establecer resultando en una gran politomía, con la excepción de las poblaciones de la Cordillera de la Costa que se separaron del resto con alto soporte estadístico. Es importante resaltar que las poblaciones venezolanas no constituyen un grupo monofilético, ya que *manastarae* está más relacionada con la subespecie *bangsi* de la Sierra Nevada de Santa Marta en Colombia (Caro y col., 2013). En el análisis se encontró, igualmente, que ciertas subespecies no son recíprocamente monofiléticas: individuos de la subespecie *meridana* del norte de Táchira (P.N. Batallón y La Negra, 1700 m s.n.m.) fueron

agrupados con las poblaciones de *tamae* e individuos de la población de *venezuelensis* de Lara se ubicaron en el mismo clado al que pertenecen poblaciones de Trujillo y Barinas (*meridana*).

Los porcentajes de divergencia genética encontrados fueron altos (6,5-9,3%) y similares a los reportados entre otras poblaciones de la especie en Ecuador y Colombia (Dingle y col., 2008; Caro y col., 2013). Estos trabajos mostraron una divergencia genética alta en subespecies con reemplazamiento altitudinal: *leucophrys* – *hilaris* (6,5-8,0%) en Ecuador y *bangsi* – *anachoreta* (6%) en Colombia. Valores de divergencia genética de esta magnitud también han sido observados en otros géneros de la familia Troglodytidae. Un estudio de la especie más diversa de la familia (*Troglodytes troglodytes* con 44 subespecies *sensu* Kroodsma y Brewer, 2005), en el que se consideraron 12 subespecies de distribución paleártica o neártica, reveló seis clados con porcentajes de divergencia entre 3 y 8,8% (Drovetski y col., 2004), valores mucho mayores a otros tres taxa con similar distribución Holártica. De igual manera, Galen y Witt (2014) estudiaron cuatro subespecies de *Troglodytes aedon* de Perú encontrando siete linajes con valores de divergencia promedio no corregidos menores a los reportados en este estudio (3,4-5,7%). Estos últimos dos trabajos fueron realizados con el gen mitocondrial ND2, que presenta una tasa evolutiva similar a la de ATP-sintasa 6 en paseriformes de Hawaii (Drepanidiidae; Lerner y col., 2011).

La estimación del tiempo de divergencia con base en el reloj molecular sitúa el origen de la estructura filogeográfica actual de esta especie a principios del Pleistoceno. Utilizando estimados de un millón de años por valores de divergencia de 4% en ATP-sintasa 6 (Lerner y col. 2011), las poblaciones de *H. leucophrys* correspondientes a los linajes evolutivos encontrados han estado aisladas desde hace aproximadamente 1,6 - 2,3 millones de años (valores de divergencia 6,5-9,3%, distancia TN93+G). Este patrón temporal sugiere que procesos como

cambios climáticos asociados con las glaciaciones y su potencial asociación con la topografía montana pueden haber derivado en el patrón de diferenciación geográfica actual de la especie.

La estructura filogeográfica de *H. leucophrys* encontrada sugiere un papel de las barreras geográficas en la diferenciación geográfica de la especie. La distribución de la especie está restringida a bosques montanos que suelen estar separados por valles o depresiones de ambientes más secos (Fig. 11). La mayoría de los linajes obtenidos están aislados geográficamente en mayor o menor grado. Las subespecies *sanluisensis* y *manastarae* se encuentran apartadas de otras poblaciones por distancias considerables, con poblaciones de *venezuelensis* están separadas por barreras como la depresión Turbio-Yaracuy (linajes YAR y LAR), que han sido relevantes en los procesos de diferenciación de otras aves montanas como *Arremon torquatus* (Cadena y Cuervo, 2010) y *Basileuterus tristriatus* (Gutiérrez-Pinto y col., 2012). Sin embargo, la vicarianza no parece ser el único proceso que explica la distribución y diferenciación en esta especie. Aunque la Depresión del Táchira está asociada con patrones de diferenciación en otras especies (subespecies *B. t. meridanus* y *B. t. aricularis*; Gutiérrez-Pinto y col., 2012), en *Henicorhina leucophrys* dicho valle no parece haber representado una barrera. Nuestros resultados sugieren que individuos de las poblaciones de los Andes Orientales de Colombia (linaje TAM) colonizaron la Cordillera de Mérida con poblaciones indistinguibles a nivel genético en las laderas bajas del norte de Táchira. Este patrón es similar al obtenido para las poblaciones de la Sierra Nevada de Santa Marta (Caro y col., 2013), donde las poblaciones de las zonas montanas de menor altitud están más relacionadas con aquellas de la Sierra de Perijá que con aquellas que las reemplazan altitudinalmente.

El uso de más de un marcador molecular, así como marcadores tanto nucleares como mitocondriales, permite generar hipótesis evolutivas de la especie y no de un gen particular. En

este estudio obtuvimos secuencias de un marcador nuclear, el intrón 4 del β -fibrinógeno (FGB-I4), para cada uno de los linajes que describen la diversidad de la especie en Venezuela. No obstante, este marcador no proporcionó información filogenética de utilidad para resolver las relaciones filogeográficas entre las diferentes poblaciones. Se ha estimado que el ADN mitocondrial evoluciona de cinco a diez veces más rápido que el material genético nuclear (Avise, 2000; Lerner y col., 2011). Esto permitiría explicar la poca variabilidad observada en este gen. Sin embargo, la presencia de un individuo heterocigo en la posible zona de contacto de los linajes TAM y MER al norte de Táchira, sugiere que el uso de este marcador puede ser de importancia para esclarecer posibles escenarios evolutivos de estos clados andinos en Venezuela.

En este estudio encontramos concordancia entre los patrones morfológicos evaluados. Los linajes andinos o las poblaciones de las subespecies *tamae* y *meridana* se agrupan de forma similar en plumaje y morfometría, contrastando con un agrupamiento entre los linajes del norte (Perijá y Cordillera de la Costa) como pudo verificarse en los análisis multivariados. El linaje de Falcón mostró características morfométricas similares a las de ejemplares de ZUL, YAR y CEN, pero el único individuo considerado en los análisis multivariados de color presentó un fenotipo intermedio. Sin embargo, el solapamiento entre los grupos de estudio fue evidente, reflejando un gran variación individual en las poblaciones de *H. leucoprphys*. Caracteres como el largo de pico, el color de *crissum* y el brillo de los parches ventrales (garganta, pecho y abdomen) son concordantes con la caracterización general. Por otra parte, las diferencias encontradas en manto no mostraron una tendencia general clara y en caracteres morfométricos como largos de cola y tarso se evidenciaron patrones que permiten diferenciar sólo a *venezuelensis* y *meridana*, respectivamente.

Nuevas diferencias entre las subespecies fueron encontradas al caracterizar la variación morfométrica. Diferencias medias en el largo de cola permitieron diferenciar a dos subespecies similares en plumaje, *manastarae* y *venezuelensis*. También se determinó que la subespecie *meridana* cuenta con tarsos más largos que el resto de las poblaciones (2 mm aprox.). Becker y col. (2007) encontraron que las poblaciones andinas de Ecuador de *H. leucophrys* tenían tarsos un milímetro más largos que las poblaciones costeras. Estas diferencias podrían ser el resultado de factores estocásticos, fijándose de forma no direccional ciertos fenotipos en poblaciones diferentes. Sin embargo, los caracteres morfométricos asociados al pico, por ejemplo, pueden estar determinados por el entorno acústico, la competencia y la selección sexual (Seddon, 2005).

Los caracteres de plumaje en los que se encontraron diferencias significativas y con mayores valores de diagnosticabilidad fueron el brillo de pecho, brillo de garganta y el porcentaje de estriado. Sin embargo, sólo se encontraron cuatro pares de valores positivos simultáneos en estas comparaciones colorimétricas asociados con los linajes pero no a nivel subespecífico (Apéndice 8B). La baja diagnosticabilidad probablemente se deba a que el tamaño de los intervalos generados es dependiente de los grados de libertad y los mismos suelen ser más amplios al usar tamaños muestrales pequeños. Otros caracteres de color no parecen ser adecuados para la diagnosis de algunas subespecies. Las poblaciones de *meridana* y *tamae* no pudieron distinguirse consistentemente en ninguno de los componentes del espacio de colores opuestos de manto o *crissum* siendo la dispersión en estas variables bastante amplia (Fig. 18, PC2). Para el par *venezuelensis* – *manastarae* sólo se encontraron diferencias en el brillo de la región subcaudal entre los linajes ZUL y CEN, pero es necesario hacer comparaciones estadísticas que incluyan al linaje de Yaracuy.

El patrón de ausencia o presencia de estrías en la garganta resalta dentro de la variación de este carácter en otras subespecies en el continente. Existe una alternancia en la presencia de estrías negras en la garganta a lo largo de los Andes desde Bolivia hasta el norte de Suramérica (Fig. 21). Este patrón llamado *leapfrog*, consiste en la existencia de una población diferenciada entre dos poblaciones similares de la misma especie y ha sido encontrado en cerca del 20% de aves andinas estudiadas, presentándose en más de la mitad de especies con más de seis subespecies descritas (Remsen, 1984). Cadena y col. (2010) sugieren que en el complejo de especies incluido en *Arremon torquatus* estos fenotipos probablemente surgieron por evolución convergente, apareciendo en poblaciones que no comparten un ancestro común. Este estudio parece indicar un patrón similar pero no exclusivo, ya que las subespecies *manastarae* y *bangsi*, las cuales conforman un grupo monofilético (Caro y col., 2013), comparten este carácter. Una revisión de este carácter a lo largo de la distribución de la especie puede revelar información de interés para entender los procesos de diferenciación en la especie, prestando especial interés en la variación individual (p.e. los pocos ejemplares analizados de *sanluisensis* presentan porcentajes variables de estrías; n=4) y el significado del dimorfismo sexual en este carácter y su potencial papel en fases del proceso reproductivo como el cortejo.

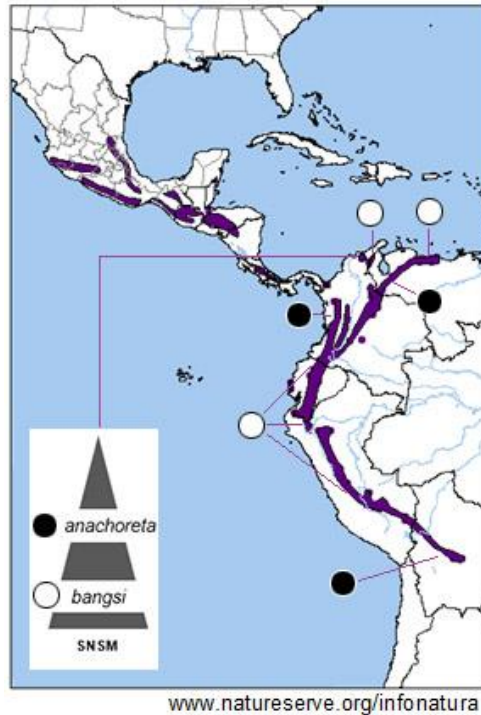


Figura 21. Patrón de *leapfrog* en el estriado de garganta de subespecies suramericanas de *H. leucophrys*. Los círculos negros representan poblaciones con estrías y los círculos blancos poblaciones con gargantas immaculadas. Se muestran también las subespecies de la Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM) en su gradiente altitudinal. La subespecie nominal incluye poblaciones de Colombia, Ecuador y Perú.

La variación morfológica es la base para la diagnosis de grupos taxonómicos, en nuestro caso, de subespecies. Sin embargo, este estudio no permitió identificar ningún carácter, morfométrico o de coloración, que fuera diagnóstico para ninguna de las subespecies descritas (bajo reglas del 75%). La alta variación individual y el bajo número de muestras pueden explicar la falta de diagnosticabilidad de estas poblaciones. De hecho, algunos caracteres mostraron diferencias significativas entre poblaciones coincidiendo o no con los caracteres diagnósticos utilizados para su descripción. Estudios posteriores deben enfocarse en incrementar los tamaños de muestra para evaluar estas alternativas, así como analizar la variación geográfica considerando ejemplares inmaduros y hembras para estimar de forma integral la variación natural de las poblaciones.

La falta de congruencia entre los patrones de diferenciación morfológica y molecular permite especular sobre los procesos asociados con dicha variación. Diferencias en el fenotipo pueden estar asociadas a procesos de selección natural, deriva génica y flujo génico en poblaciones alopátricas. Los primeros tienden a diferenciar a las poblaciones mientras el flujo génico a homogeneizar dicha variación. Por otra parte, la variación molecular en un marcador neutral, como el ADN mitocondrial, no está sujeta a selección (ver Ballard y Whitlock, 2004, para una discusión sobre la estricta neutralidad de estos marcadores), por lo que la diferenciación puede surgir de manera gradual por el proceso de aislamiento geográfico o mutaciones a largo plazo. Los patrones encontrados en este estudio parecen sugerir que la diferenciación genética presente en poblaciones de *H. leucophrys* de Venezuela responde más a un proceso de aislamiento geográfico. Las diferencias morfológicas pudieran estar asociadas a procesos de deriva génica, aunque los procesos de flujo génico (a nivel geográfico, entre poblaciones andinas o entre aquellas cercanas a la Cordillera de la Costa) o selección natural (asociadas a condiciones climáticas locales) no pueden ser descartados.

El análisis filogenético con caracteres moleculares permitió identificar poblaciones que constituyen filogrupos crípticos que no presentan una diferenciación morfológica marcada. Los linajes definidos podrían ser considerados especies bajo el concepto filogenético, dado que sus individuos conforman unidades evolutivas con una historia y un ancestro en común (Cracraft, 1983). Por su parte, las subespecies constituyen una serie de poblaciones diagnosticables a nivel fenotípico que se separan geográficamente (Patten y Unitt, 2002), concepto que ha recibido múltiples críticas pero que utilizado de forma rigurosa (i.e. índices de diagnosticabilidad) puede brindar información relevante sobre los procesos de diferenciación de las especies. En nuestro caso, la falta de diagnosticabilidad entre estos grupos (sea linajes o subespecies) limita su

reconocimiento como subespecies o especies. Sin embargo, estos filogrupos crípticos pueden ser considerados unidades evolutivas significativas o ESU's. Las ESU's son poblaciones recíprocamente monofiléticas en frecuencias alélicas mitocondriales y muestran diferencias importantes en las frecuencias de alelos nucleares (Moritz, 1994). La aplicación de este concepto tiene su fortaleza en el reconocimiento de poblaciones que han tenido suficiente tiempo, a nivel evolutivo, para diferenciarse de manera natural (Fraser y Bernatchez, 2001). Los linajes definidos en este estudio pueden ser clasificados de esta forma, aunque la información sobre genes nucleares es inconclusa. Esta clasificación permite resaltar el valor de estas poblaciones (en particular aquellos linajes identificados dentro de la distribución de *H. leucophrys venezuelensis*) para la conservación de la diversidad genética de la especie. Un patrón similar fue encontrado para poblaciones costeras de *H. leucophrys* de Colonche en Ecuador, las cuales mostraron divergencias considerables en la región control del ADN mitocondrial (Becker y col., 2007).

La congruencia en patrones de variación geográfica de múltiples caracteres sugiere un cambio taxonómico para las poblaciones presentes en el estado Lara. Los patrones de variación molecular, morfométrica y de plumaje sugieren que dichas poblaciones (reconocidas hoy en día como *venezuelensis*) son diferenciables del resto de las que conforman en la actualidad a *venezuelensis*, presentes en la Cordillera de la Costa. Sin embargo, la localidad tipo para esta subespecie son las montañas cerca de Bucarito, "Tucuyo" (Hellmayr, 1903), visitadas únicamente por el explorador Albert Mocquerys en 1893. La proveniencia de ejemplares colectados en Venezuela por este colector es controversial (Zimmer y Phelps, 1954) y hasta ahora no se ha encontrado localidad alguna con dicho nombre en los alrededores de El Tucuyo en el estado Lara. En 1912, Hellmayr y Seilern mencionan que la localidad se encuentra en esta

entidad federal y Paynter asigna las coordenadas de Bucarito a un caserío al norte del estado cerca de los pueblos de Siquisique y Río Tocuyo (Mayr y Greenway, 1960). Sin embargo, parece dudoso que para ambientes bajos y secos como los que se encuentran en esta región larense, Mocquerys haya colectado especies de zonas altas como *Mecocerculus leucophrys*, *Atlapetes semirufus* y *Henicorhina leucophrys* y la identificación subespecífica de algunas de estas especies sugiere que las mismas no fueron colectadas en regiones montañas del estado Lara y coinciden con aquellas presentes en la Cordillera de la Costa (datos no publicados). Este patrón es congruente con los patrones genéticos encontrados. Las decisiones taxonómicas o modificaciones de localidad tipo en el futuro dependerán de la revisión de los holotipos de éstas y otras especies colectadas en Bucarito, almacenados en el American Museum of Natural History de New York.

CONCLUSIONES

- *Henicorhina leucophrys* en Venezuela se caracteriza por una diversidad críptica asociada con la geografía, con altas divergencias genéticas entre los diferentes linajes evolutivos identificados.
- Las poblaciones de *H. leucophrys* se caracterizan por presentar una alta variación individual con un patrón morfológico que sugiere que las poblaciones de los Andes se diferencian de las poblaciones de la Serranía de Perijá y de la Cordillera de la Costa.
- Los patrones fenotípicos encontrados no permiten diagnosticar las poblaciones venezolanas de *H. leucophrys* a nivel subespecífico, dado el solapamiento y la considerable variación individual de los diferentes caracteres analizados.

BIBLIOGRAFÍA

- Akkaynak, D., Treibitz, T. Xiao, B., Gürkan, U.A., Allen, J.J., Demirci, U., Hanlon, R.T. 2014. Use of commercial off-the-shelf digital cameras for scientific data acquisition and scene-specific color calibration. *J. Opt. Soc. Am. A.* **31**: 312-321.
- Aleixo, A., Pacheco, J.F. 2006. A family name for the monotypic oscine passerine genus *Donacobius*. *Revista Brasileira de Ornitologia* **14**: 172-173.
- Amadon, D. 1949. The seventy-five per cent rule for subspecies. *Condor* **51**: 250-258.
- Andersson, S., Parger, M. 2006. Quantifying Colors. Págs. 41–89 en: G.E. Hill y K.J. McGraw (eds.), *Bird Coloration, Mechanisms and Measurements Vol. 1*. Harvard University Press, Estados Unidos de América.
- Armenta, J.K., Dunn, P.O., Whittingham, L.A. 2008. Effects of specimen age on plumage color. *The Auk* **125**: 803-808.
- Aveledo, R.H., Gines, Hno. 1952. Cuatro aves nuevas y dos extensiones de distribución para Venezuela, de Perijá. *Novedades Científicas, Contribuciones Ocasionales del Museo de Historia Natural La Salle* **6**: 3-15.
- Avise, J.C. 2000. *Phylogeography, the history and formation of species*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, Estados Unidos de América.
- Baird, S.F. 1864-1872. *Review of American Birds in the Museum of the Smithsonian Institution*. Smithsonian Miscellaneous Collections 181, Washington, Estados Unidos de América.
- Baldwin, S.P., Oberholser, H.C., Worley, L.G. 1931. *Measurements of birds. Vol. II*. Scientific Publications of the Cleveland Museum of Natural History, Cleveland, Estados Unidos de América.

- Ballard, J.W.O., Whitlock, M.C. 2004. The incomplete natural history of mitochondria. *Molecular Ecology* **13**: 729-744.
- Barker, F.K. 2004. Monophyly and relationships of wrens (Aves: Troglodytidae): a congruence analysis of heterogeneous mitochondrial and nuclear DNA sequence data. *Mol. Phylogenet. Evol.* **31**: 486-504.
- Becker, C.D., Richardson, E.A., Brown, S.J. 2007. MtDNA haplotypes, sequence divergence, and morphological variation in Gray-breasted Wood Wrens (*Henichorina leucophrys*) and their conservation implications. *J. Field Ornithol.* **78**: 117-123.
- Bock, W.J. 1992. Methodology in avian macrosystematics. *Bull. Brit. Orn. Club.* **112A**: 53-72.
- Brewer, D. 2001. Wrens, dippers and thrashers. A&C Black, Londres, Inglaterra.
- Cadena, C.D., Cheviron, Z.A., Funk, W.C. 2010. Testing the molecular and evolutionary causes of a 'leapfrog' pattern of geographical variation in coloration. *J. Evol. Biol.* **24**: 402-414.
- Cadena, C.D., Cuervo, A.M. 2010. Molecules, ecology, morphology, and songs in concert: how many species is *Arremon torquatus* (Aves: Emberizidae)? *Biol. J. Linn. Soc.* **99**: 152-176.
- Caro, L.M., Caycedo-Rosales, P.C., Bowie, R.C.K., Slabbekoorn, H., Cadena, C.D. 2013. Ecological speciation along an elevational gradient in a tropical passerine bird? *J. Evol. Biol.* **26**: 357-374.
- Chapman, F.M. 1917. The distribution of bird-life in Colombia: a contribution to a biological survey of South America. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.* **36**: 1-729.

- Chung, D.W., Harris, J.E., Davie, E.W. 1991. Nucleotide sequences of the three genes coding for human fibrinogen. Págs. 39–48 en: C.Y. Liu y S. Chen (eds.), *Fibrinogen, Thrombosis, Coagulation, and Fibrinolysis*. Plenum Press, New York, Estados Unidos de América.
- Cracraft, J. 1983. Species concepts and speciation analysis. *Curr. Ornithol.* **1**: 159-187.
- Dingle, C., Lovette, I. J., Canaday, C., Smith, T. B. 2006. Elevational zonation and the phylogenetic relationships of the *Henicorhina* wood-wrens. *The Auk* **123**: 119-134.
- Dingle, C., Halfwerk, W., Slabbekoorn, H. 2008. Habitat-dependent song divergence at subspecies level in the grey-breasted wood-wren. *J. Evol. Biol.* **21**: 1079-1089.
- Drovetski, S.V., Zink, R.M., Rohwer, S., Fadeev, I.V., Nesterov, E.V., Karagodin, I., Koblik, E.A., Red'kin, Y.A. 2004. Complex biogeographic history of a Holarctic passerine. *Proc. R. Soc. Lond. B* **271**: 545-551.
- Endler, J.A. 1977. Geographic variation, speciation and clines. Princeton University Press, New Jersey, Estados Unidos de América.
- Endler, J.A. 1990. On the measurement and classification of colour in studies of animal colour patterns. *Biol. J. Linn. Soc.* **41**: 315-352.
- Endler, J.A. 2012. A framework for analysing colour pattern geometry: adjacent colours. *Biol. J. Linn. Soc.* **107**: 233-253.
- Eldredge, N., Cracraft, J. 1980. Phylogenetic patterns and the evolutionary process. Method and theory in comparative biology. Columbia Univ. Press, New York, Estados Unidos de América.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* **39**: 783-791.

- Fitzpatrick, J.W., Terborgh, J.W., Willard, D.E. 1977. A new species of wood-wren from Peru. *The Auk* **94**: 195-201.
- Fraser, D.J., Bernatchez, L. 2001. Adaptive evolutionary conservation: towards a unified concept for defining conservation units. *Molecular Ecology* **10**: 2741-2752.
- Futuyma, D.J. 2005. Evolution. Sinauer Associates Inc., Sunderland, Massachusetts, Estados Unidos de América.
- Galen, S.C., Witt, C.C. 2014. Diverse avian malaria and other haemosporidian parasites in Andean house wrens: evidence for regional co-diversification by host-switching. *J. Avian Biol.* **45**: 1-13.
- Gotelli, N.J., Ellison, A.M. 2004. A primer of Ecological Statistics. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, Estados Unidos de América.
- Gould, S.J., Johnston, R.F. 1972. Geographic variation. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* **3**:457-498.
- Gutiérrez-Pinto N., Cuervo, A.M., Miranda, J., Pérez-Emán, J.L., Brumfield, R.T., Cadena, C.D. 2012. Non-monophyly and deep genetic differentiation across low-elevation barriers in a Neotropical montane bird (*Basileuterus tristriatus*; Aves: Parulidae). *Mol. Phylogenet. Evol.* **64**: 156-165.
- Hammer, Ø., Harper, D.A.T., Ryan, P.D. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* **4(1)**: 1-9.
- Hartlaub, G. 1844. Systematisches verzeichniss der natur-historischen sammlung der gesellschaft museum. Abt. 1. Vögel. Bremen, Alemania.
- Hellmayr, C.E. 1903. Bemerkungen über neotropische vogel. *J. Ornithol.* **51**: 527-532.
- Hellmayr, C.E. 1934. Catalogue of birds of the Americas, Pt. VII. Field Museum of Natural History, Zoological Series Vol. XIII, 330. Chicago, Estados Unidos de América.

- Hellmayr, C.E., Seilern, J.G.V. 1912. Beiträge zur Ornithologie von Venezuela. *Archiv für Naturgeschichte* (Abteilung A) **78(5-8)**: 34-167.
- Hilty, S.L. 2003. Birds of Venezuela. Princeton University Press, Segunda Edición, New Jersey, Estados Unidos de América.
- Isler, M.L., Cuervo, A.M., Bravo, G.A., Brumfield, R.T. 2012. An integrative approach to species-level systematics reveals the depth of diversification in an Andean thamnophilid, the Long-tailed Antbird. *The Condor* **114**: 571-583.
- Johnson, N.K. 1980. Character variation and evolution of sibling species in the *E. difficilis-flavescens* complex (Aves: Tyrannidae). *Univ. Calif. Publ. Zool.* **112**: 1-151.
- Joseph, L., Wilke, T., Bermingham, E., Alpers, D., Ricklefs, R. 2004. Towards a phylogenetic framework for the evolution of shakes, rattles, and rolls in *Myiarchus* tyrant-flycatchers (Aves: Passeriformes: Tyrannidae). *Mol. Phylogenet. Evol.* **31**:139-152
- Kroodsma, D.E., Brewer, D. 2005. Family Troglodytidae (Wrens). Págs. 356–447 en: J.D. Hoyo, A. Elliott y D.A. Christie (eds.), Handbook of the Birds of the World Vol. 10 Cuckoo-Shrikes to Thrushes. Lynx Edicions, Barcelona, España.
- Lerner, H.R.L., Meyer, M, James, H.F., Hofreiter, M., Fleischer, R.C. 2011. Multilocus resolution of phylogeny and timescale in the extant adaptive radiation of Hawaiian Honeycreepers. *Current Biology* **21**: 1838-1844.
- Librado, P., Rozas, J. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* **25**: 1451-1452.
- Loughheed, S.C., Arnold, T.W., Bailey, R.C. 1991. Measurement error of external and skeletal variables in birds and its effect on principal components. *The Auk* **108**: 432-436.

- Mann, N.I., Barker, F.K., Graves, J.A., Dingess-Mann, K.A., Slater, P.J.B. 2006. Molecular data delineate four genera of “*Thryothorus*” wrens. *Mol. Phylogenet. Evol.* **40**: 750-759.
- Mayr, E. 1963. *Animal Species and Evolution*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, Estados Unidos de América.
- Mayr, E., Greenway Jr., J.C. 1960. Check-list of the Birds of the World. Vol. 9. *Memoirs of the Museum of Comparative Zoology*, Cambridge, Massachusetts, Estados Unidos de América.
- McKay, B.D. 2013. The use of digital photography in systematic. *Biol. J. Linn. Soc.* **110**: 1-13.
- Moritz, C. 1994. Defining 'evolutionarily significant units' for conservation. *Trends Ecol. Evol.* **9(10)**: 373-375.
- Newton, I. 2003. *Speciation and biogeography of birds*. Academic Press, Amsterdam, Holanda.
- Patten, M.A., Unitt, P. 2002. Diagnosability versus mean differences of Sage Sparrow subspecies. *The Auk* **119**: 26-35.
- Phelps, W.H., Phelps, W.H. Jr. 1959. Two new subspecies of birds from the San Luis Mountains of Venezuela and distributional notes. *Proc. Biol. Soc. Wash.* **72**: 121-126.
- Remsen, J.V., Jr. 1984. High incidence of “leapfrog” pattern of geographic variation in Andean birds: implications for the speciation process. *Science* **224(17)**: 171-173.
- Restall, R., Rodner, C., Lentino, M. 2006. *Birds of Northern South America. An Identification Guide, Vol. 2: Plates and Maps*. Yale University Press, Estados Unidos de América.

- Rasband, W.S. 1997–2006. Image J. Bethesda, Maryland: National Institutes of Health, Estados Unidos de América. Disponible en <http://rsb.info.nih.gov/ij/>
- Rodríguez J.P., Rojas-Suárez, F. 2008. Libro Rojo de la Fauna Venezolana. Tercera Edición, Provita y Shell Venezuela S.A., Caracas, Venezuela.
- Saitou, N., Nei, M., 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* **4**: 406–425.
- Salaman, P., Coopmans, P., Donegan, T.M., Mulligan, M., Cortés, A., Hilty, S.L., Ortega, L.A. 2003. A new species of wood-wren (Troglodytidae: *Henicorhina*) from the western Andes of Colombia. *Ornitologia Colombiana* **1**: 4-21.
- Selater, P.L., Salvin, O. 1868. On Venezuelan birds collected by Mr. A. Goering. *Proc. Zool. Soc. Lond.* **Pt1**: 170.
- Seddon, N. 2005. Ecological adaptation and species recognition drives vocal evolution in neotropical suboscine birds. *Evolution* **59**: 200-215.
- Sharpe, R.B. 1881. Catalogue of the Birds in the British Museum. Vol. 6. Londres, Inglaterra.
- Stevens, M., Párraga, C.A., Cuthill, I.C., Partridge, J.C., Troscianko, T.S. 2007. Using digital photography to study animal coloration. *Biol. J. Linn. Soc.* **90**: 211-237.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., Kumar, S. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Mol. Biol. Evol.* **28**: 2731-2739.
- Todd, W.E.C. 1932. New South American Wrens. *Proc. Biol. Soc. Wash.* **45**: 9-14.
- Tschudi, J.J. 1844. Avium Conspectus. *Archiv Für Naturgeschichte* **13**: 282-283.

- Westland, S., Ripamonti, C. 2004. Computational Color Science using MATLAB. John Wiley & Sons Ltd, Sussex, Inglaterra.
- Wetmore, A. 1960. A classification for the birds of the world. *Smithson. Misc. Coll.* **139**: 1–37.
- Winker, K., Klicka, J.T., Voelker, G. 1996. Sexual size dimorphism in birds from southern Veracruz, Mexico. II. *Thryothorus maculipectus* and *Henicorhina [leucosticta] prosthaleuca*. *J. Field Ornithol.* **67**: 236-251.
- Yezerinac, S.M., Loughheed, S.C., Handford, P. 1992. Measurement error and morphometric studies: statistical power and observer experience. *Syst. Biol.* **41**: 471-482.
- Zar, J.H. 1999. Biostatistical Analysis. Prentice Hall, New Jersey, Estados Unidos de América.
- Zimmer, J.T., Phelps, W.H. 1944. New species and subspecies of birds from Venezuela. *Am. Mus. Novit.* **1270**: 13-14.
- Zimmer, J.T., Phelps, W.H. 1954. A new flycatcher from Venezuela, with remarks on the Mocquerys Collection and the Piculet, *Picumnus squamulatus*. *Am. Mus. Novit.* **1657**: 1-7.
- Zink, R.M. 1986. Patterns and evolutionary significance of geographic variation in the *Schistacea* group of the Fox Sparrow (*Passerella iliaca*). *Ornithol. Monogr.* **40**: 1-119.
- Zink, R.M., Remsen, J.V., Jr. 1986. Evolutionary patterns and processes of geographic variation in birds. *Curr. Ornithol.* **4**: 1-69.

APÉNDICES

Apéndice 1. Códigos de campo (COP) o de acceso (GenBank) de los ejemplares con muestras de tejidos usadas en los análisis moleculares. Se señalan con asterisco muestras de J. Klicka de datos no publicados (grupos externos). Se añaden las secuencias de los cebadores utilizados.

Subespecie (spp.)	Localidad (Loc.)	Código / N° de acceso (GenBank)	ATP-sintasa 6y8	FGB-I4
<i>H.l.manastarae</i>	Las Lajas, Sierra de Perijá	IC807	x	x
		IC827	x	
		IC815	x	
<i>H.l.meridana</i>	Calderas P.N. Guaramacal	ML1233	x	
		JM91	x	
		JM94	x	
	La Mucuy, P.N. Sierra Nevada	JM98	x	
		07NO443	x	
	Guaraque P.N.P.B.N 1700 m s.n.m.	07NO446	x	x
		AMC1052	x	
		AMC1254	x	
		AMC1257	x	
		AMC1258	x	
		JM1017	x	
		KCC124	x	
		YPL145	x	
	P.N.P.B.N 2150-2300 m s.n.m.	YPL78	x	x
		KCC75	x	
		KCC88	x	
		P.N.P.B.N 2750 m s.n.m.	JEM205	x
JEM238		x		
P.N. Sierra de San Luis	AMC1129	x		
	YPL22	x		
	AMC1129	x		
	IC941	x		
<i>H.l.sanluisensis</i>	P.N. Sierra de San Luis	IC942	x	
		IC975	x	x
		KCC287	x	
<i>H.l.tamae</i>	Delicias, P.N. El Tamá	AMC1351	x	x
		Río Chiquito, P.N. El Tamá	YPL200	x
	YPL204	x		
	YPL216	x		
	KCC260	x		
	KCC265	x		
	<i>H.l.venezuelensis</i>	P.N. Yacambú	07NO195	x



Continuación Ap. 1

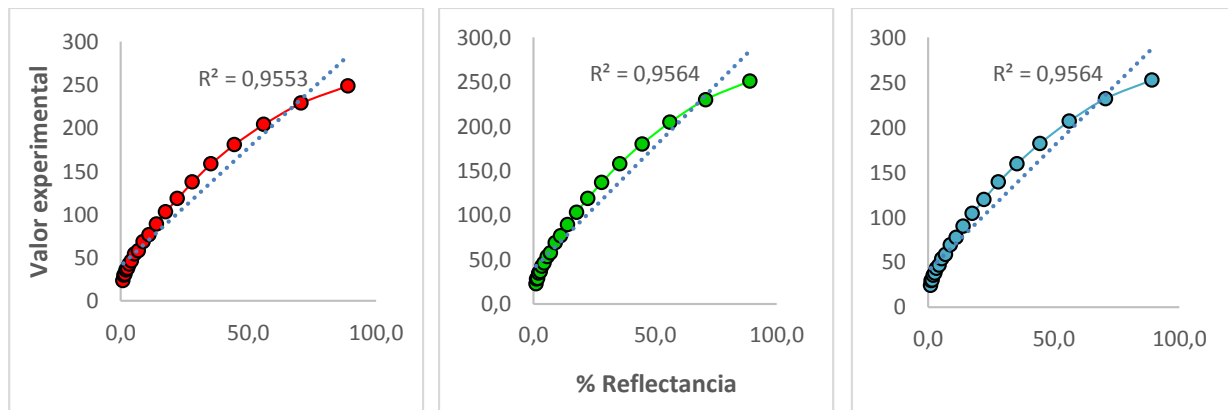
<i>H.l.venezuelensis</i>	P.N. Yacambú	07NO289	x	x
		07NO353	x	
	P.N. Yurubí	JP408	x	x
		JP409	x	
		JP465	x	
	Rancho Grande, P.N. Henri Pittier	07NO130	x	
		07NO131	x	
		JM070	x	
	San Antonio de los Altos	07NO004	x	
		JM005	x	x
JM006		x		
			<i>H.leucophrys</i> (total)	46
<i>H.leucosticta</i>	Estado Bolívar, Venezuela	ML1078	x	
		ML1079	x	
	Veracruz, México	343275*	x	
		343276*	x	
		BTS07300*	x	
		BTS07321*	x	
		BTS07430*	x	
<i>C.arada</i>	Napo, Loreto, Ecuador	AY304300	x	
<i>C.palustris</i>		JK02545*	x	
CO2GOL	5'-GGACAATGCTCAGAAATCTGCGG-3'			
CO3HMH	5'-CATGGGCTGGGGTTRACTATGTG-3'			
FIB3	5'-CTGTAATATCCCGGTGGTTTCAGG-3'			
FIB4	5'-ATTTCAGATGTTTCACCTCCCTTTC-3'			

Apéndice 2. Códigos de catálogo de los ejemplares utilizados en los análisis morfológicos.

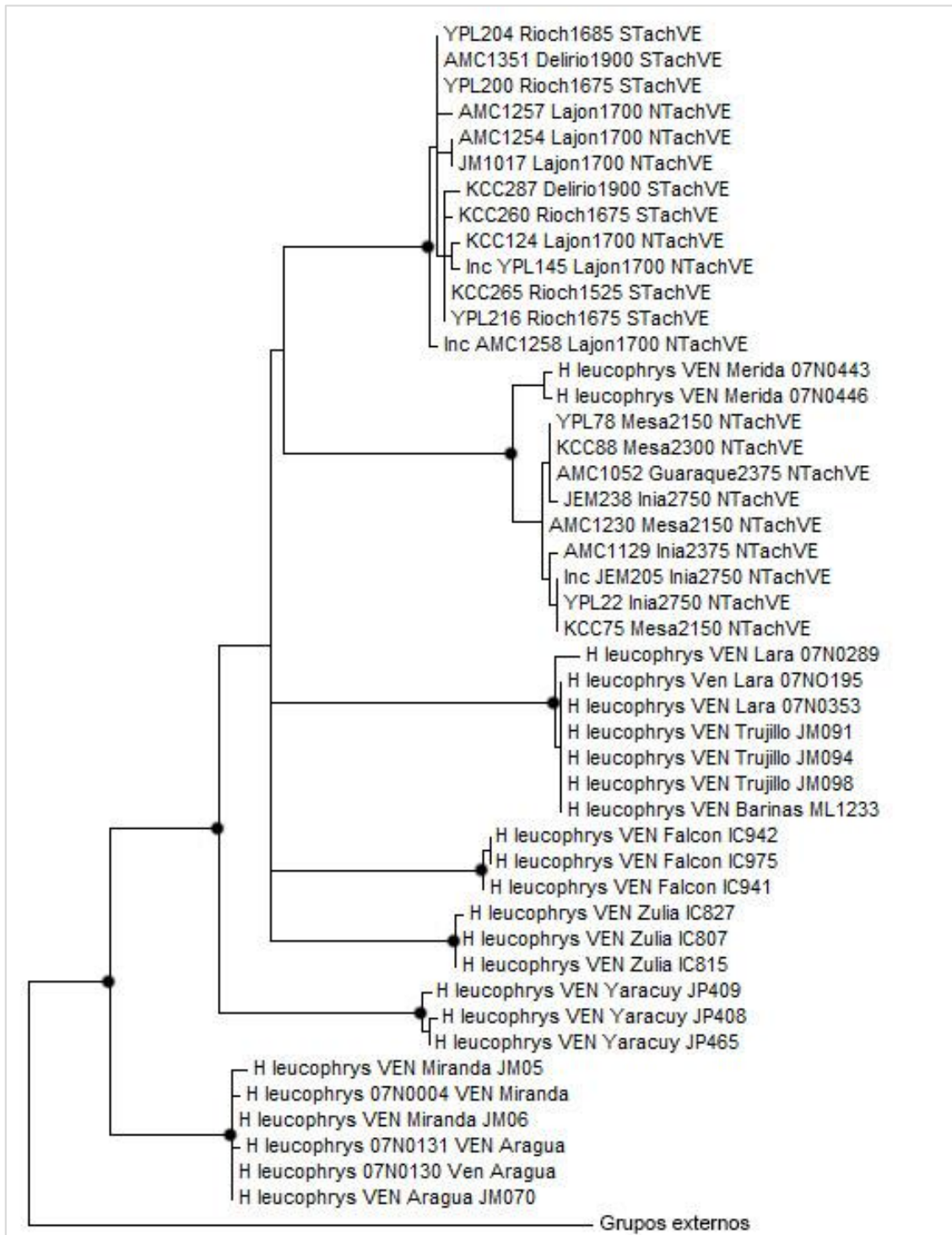
Subespecie (spp.)	Colección	Código / N° de acceso (<i>GenBank</i>)									
<i>manastarae</i>	COP	55239	55244	55245	55249	55252	55253	55254	57911		
		57912	57913	72947	72948	73250	73251	81162	81163		
		81164	81165	81166	81167	81168					
	MHNLS	1589	1591	1592	1593	1594	1596				
	PONS	3568	3569	3571	3572	3573	3574	3575	3576		
		3577	3578	3579	3580	3581	3582	3583	3584		
		3585	3586	3588	3589	3590	3591	3592	3593		
		3594	3595	3597	3598	3599	3600	3601	3602		
		4078									
<i>meridana</i>	COP	9187	9188	14411	14412	14547	14548	14549	14635		
		14685	20020	20216	20218	20219	24616	24619	24620		
		49289	49290	49291	49292	65196	65197	65437	65438		
		65441	82386	82684	84209	84210	84211	84212	84214		
		84291	84292	AMC1230		JM113	JM990				
	EBRG				7331	12313					
<i>sanluisensis</i>	COP	63459	63460	63463	63464	81346	81347	81348	81349		
		81350									
	EBRG					12013					
	MHNLS					10834					
<i>tamae</i>	COP	10640	10640a	10641	10642	10643	10902	11071	11072		
		11073	11075	11077	11078	11079	60686	60687	61343		
		61344	61349	61351	61354	61355	61356	61357	61359		
		61360	62355	62358	62359	62360	62361	62363	62364		
		62365	62366	62367	62368	62369	70168	70169	70170		
		74017	74018	74019	74020	74021	74022	74468	74469		
		74470	KCC0287								
			EBRG					3309			
			MHNLS					8838			
<i>venezuelensis</i>	COP	234	235	3497	13453	13454	13456	18162	18871		
		18872	18873	18874	19331	19335	19336	19337	19339		
		19839	24845	24847	26789	26790	31907a	31908a			
		31909a	62636	64057	64058	64059	64060	64061	64064		
		71796	71797	71799	71801	71802	71803	71804	71805		
		71806	71807	72123	76190	83365	83613	83893	83937		
		84011									
			EBRG	557	558	978	979	2851	2919	2989	6268
				11111	13465	13497					
	MHNLS	4464	4460	6180							

Apéndice 3. Parámetros de las fotografías de la cámara Nikon D3200 en modo manual sobre un fondo de 18% de reflectancia. Relación entre los porcentajes de reflectancia teóricos de los tres canales RGB versus los valores experimentales en imágenes TIFF sin transformar (A). Se determinó que la respuesta de la cámara no era lineal con respecto a la data teórica, a pesar de presentar coeficientes de correlación de Pearson elevados y significativos ($r > 0,97$; $p < 0,05$) para los tres canales, por lo que se realizó una calibración (cuadrática) para obtener fotografías más oscuras no saturadas (B) donde no fue necesaria ecualización alguna.

Tamaño (megapíxeles): 24Mp	
Apertura de diafragma (control de exposición): f/4.0	
Tiempo de exposición (control de exposición): 1/80s	
Medición de la exposición: matricial	
Enfoque: automático	
Flash: No	
Zoom óptico (lente Nikkor): 18mm	



Apéndice 4. Hipótesis filogenética de máxima verosimilitud de poblaciones de *H. leucophrys* para ATP-sintasa 6y8. Se muestran con círculo negro valores de soporte bootstrap mayores o iguales a 80%.



Apéndice 5. Valores morfométricos medios (mm) \pm desviación estándar de las subespecies de *H. leucophrys* y tamaño muestral [n] según la edad relativa de machos y hembras. Se señalan en negrita las variables en las cuales se encontraron diferencias significativas. Se añaden los valores reportados en descripciones originales.

<i>Variable</i>	<i>manastarae</i>	<i>tamae</i>	<i>meridana</i>	<i>sanluisensis</i>	<i>venezuelensis</i>
Machos adultos					
LA	55,2 \pm 1,95 [12]	53,7 \pm 1,20 [21]	54,4 \pm 1,24 [9]	56,8 \pm 3,20 [4]	54,1 \pm 1,46 [23]
LC	30,1 \pm 0,83 [11]	29,0 \pm 1,60 [21]	30,7 \pm 1,66 [9]	26,5 \pm 1,29 [4]	27,6 \pm 1,33 [22]
LT	22,27 \pm 0,85 [12]	22,77 \pm 0,68 [16]	23,95 \pm 0,86 [8]	23,16 \pm 0,86 [4]	22,68 \pm 0,38 [22]
LP	10,99 \pm 0,73 [12]	9,84 \pm 0,33 [18]	9,84 \pm 0,43 [9]	10,51 \pm 0,36 [4]	10,84 \pm 0,74 [20]
AnP	2,94 \pm 0,17 [12]	2,98 \pm 0,19 [20]	2,92 \pm 0,14 [9]	3,05 \pm 0,12 [4]	3,06 \pm 0,15 [20]
AIP	3,35 \pm 0,20 [12]	3,50 \pm 0,17 [20]	3,27 \pm 0,15 [9]	3,43 \pm 0,12 [4]	3,45 \pm 0,23 [20]
Culmen	14,02 \pm 0,65 [12]	13,14 \pm 0,89 [18]	13,08 \pm 0,51 [9]	13,38 \pm 0,67 [4]	14,05 \pm 0,95 [21]
Machos inmaduros					
LA	51,9 \pm 1,21 [14]	52,8 \pm 1,47 [12]	53,6 \pm 1,19 [8]	57 [1]	53,1 \pm 1,36 [9]
LC	28,1 \pm 1,73 [14]	28,5 \pm 2,02 [12]	30,3 \pm 1,67 [8]	27 [1]	27,0 \pm 1,63 [10]
LT	22,40 \pm 0,90 [14]	22,45 \pm 0,98 [13]	24,11 \pm 1,30 [8]	23,50 [1]	22,88 \pm 0,66 [8]
LP	10,18 \pm 0,70 [14]	9,57 \pm 0,50 [12]	9,75 \pm 0,37 [4]	9,65 [1]	10,38 \pm 1,09 [10]
AnP	2,85 \pm 0,14 [14]	2,97 \pm 0,16 [12]	2,88 \pm 0,06 [7]	3,00 [1]	3,03 \pm 0,16 [10]
AIP	3,28 \pm 0,30 [14]	3,45 \pm 0,20 [13]	3,32 \pm 0,17 [7]	3,55 [1]	3,43 \pm 0,11 [10]
Culmen	12,87 \pm 0,85 [14]	12,96 \pm 0,46 [12]	13,46 \pm 0,39 [5]	12,00 [1]	13,51 \pm 0,77 [10]
Intervalos reportados en descripciones originales					
LA	[51-53]	[54-57]	[54-59]	[54-58]	[56-58]
LC	[27-28]	[25-31]	[30-35]	[24]	[26-30]
Culmen	[18-19]	[16,5-18,5]	[13,5-15]	[18]	[14-16]

<i>Variable</i>	<i>manastarae</i>	<i>tamae</i>	<i>meridana</i>	<i>sanluisensis</i>	<i>venezuelensis</i>
Hembras adultas					
LA	52,0 ± 1,48 [11]	51,7 ± 1,55 [13]	52,9 ± 1,97 [10]	51 [1]	52,5 ± 1,29 [11]
LC	27,8 ± 1,33 [11]	26,2 ± 1,27 [12]	28,8 ± 1,64 [9]	25 [1]	26,0 ± 1,26 [11]
LT	21,94 ± 0,70 [12]	21,85 ± 0,55 [12]	23,26 ± 0,75 [8]	-	21,86 ± 0,68 [10]
LP	10,36 ± 0,61 [11]	9,22 ± 0,35 [13]	9,31 ± 0,56 [10]	9,55 [1]	10,11 ± 0,66 [11]
AnP	2,86 ± 0,10 [12]	3,22 ± 0,30 [13]	2,85 ± 0,10 [10]	3,10 [1]	3,03 ± 0,21 [11]
AlP	3,23 ± 0,17 [12]	3,32 ± 0,20 [11]	3,15 ± 0,21 [8]	3,35 [1]	3,44 ± 0,19 [11]
Culmen	13,16 ± 0,53 [10]	12,47 ± 0,51 [13]	13,45 ± 0,71 [9]	12,60 [1]	13,18 ± 0,79 [11]
Hembras inmaduras					
LA	52,0 ± 1,96 [13]	51,4 ± 0,89 [5]	58 [1]	55 [1]	51,2 ± 1,47 [6]
LC	27,9 ± 1,24 [12]	27,0 ± 0,82 [4]	31 [1]	26 [1]	25,8 ± 1,17 [6]
LT	21,87 ± 0,98 [12]	21,86 ± 0,38 [5]	23,60 [1]	23,20 [1]	21,29 ± 1,05 [7]
LP	10,23 ± 0,31 [13]	9,34 ± 0,59 [4]	9,65 [1]	9,75 [1]	9,73 ± 0,18 [5]
AnP	2,82 ± 0,15 [13]	2,96 ± 0,39 [4]	2,70 [1]	2,95 [1]	2,98 ± 0,18 [7]
AlP	3,20 ± 0,16 [12]	3,23 ± 0,40 [3]	3,30 [1]	3,15 [1]	3,17 ± 0,14 [7]
Culmen	13,47 ± 0,77 [13]	12,46 ± 0,54 [5]	12,75 [1]	12,35 [1]	12,51 ± 0,46 [5]
Intervalos reportados en descripciones originales					
LA	[50-52]	[51-54]	[53-54]	-	[53-55]
LC	[27-29]	[23-25]	[27-30]	-	[24-28]
Culmen	[18-19]	[15,5-17]	-	-	-

Apéndice 6. Porcentajes de error de medida (%ME) para variables morfológicas.

Variab les	Tamaño muestral (N)	%Error de Medida
Morfométricas	16	
Largo de Ala (mm)		5,4
Largo de Cola (mm)		3,5
Largo de Tarso (mm)		10,9
Largo de Pico (mm)		2,3
Ancho de Pico (mm)		15,8
Alto de Pico (mm)		8,9
Colorimétricas		
Crissum	16	
A		3,3
B		3,9
C		8,5
Abdomen	16	
A		32,6
B		39,0
C		18,8
Pecho	16	
A		23,9
B		24,4
C		8,3
Garganta	8	
A		0,3
B		0,2
C		5,2
Corona	8	
A		10,0
B		15,9
C		27,3
Manto	8	
A		0,6
B		0,3
C		4,3
Patrón de plumaje	8	
% Estriado		6,7

Apéndice 7. Valores morfométricos medios (mm) \pm desviación estándar de las subespecies de *H. leucophrys* y tamaño muestral [n] según el sexo de los ejemplares. Se señalan en negrita las variables en las cuales se encontraron diferencias significativas.

<i>Variable</i>	<i>manastarae</i>	<i>tamae</i>	<i>meridana</i>	<i>sanluisensis</i>	<i>venezuelensis</i>
Machos					
LA	55,2 \pm 1,95 [12]	53,7 \pm 1,20 [21]	54,4 \pm 1,24 [9]	56,8 \pm 3,20 [4]	54,1 \pm 1,46 [23]
LC	30,1 \pm 0,83 [11]	29,0 \pm 1,60 [21]	30,7 \pm 1,66 [9]	26,5 \pm 1,29 [4]	27,6 \pm 1,33 [22]
LT	22,27 \pm 0,85 [12]	22,77 \pm 0,68 [16]	23,95 \pm 0,86 [8]	23,16 \pm 0,86 [4]	22,68 \pm 0,38 [22]
LP	10,99 \pm 0,73 [12]	9,84 \pm 0,33 [18]	9,84 \pm 0,43 [9]	10,51 \pm 0,36 [4]	10,84 \pm 0,74 [20]
AnP	2,94 \pm 0,17 [12]	2,98 \pm 0,19 [20]	2,92 \pm 0,14 [9]	3,05 \pm 0,12 [4]	3,06 \pm 0,15 [20]
AIP	3,35 \pm 0,20 [12]	3,50 \pm 0,17 [20]	3,27 \pm 0,15 [9]	3,43 \pm 0,12 [4]	3,45 \pm 0,23 [20]
Culmen	14,02 \pm 0,65 [12]	13,14 \pm 0,89 [18]	13,08 \pm 0,51 [9]	13,38 \pm 0,67 [4]	14,05 \pm 0,95 [21]
Hembras					
LA	52,0 \pm 1,48 [11]	51,7 \pm 1,55 [13]	52,9 \pm 1,97 [10]	51 [1]	52,5 \pm 1,29 [11]
LC	27,8 \pm 1,33 [11]	26,2 \pm 1,27 [12]	28,8 \pm 1,64 [9]	25 [1]	26,0 \pm 1,26 [11]
LT	21,94 \pm 0,70 [12]	21,85 \pm 0,55 [12]	23,26 \pm 0,75 [8]	-	21,86 \pm 0,68 [10]
LP	10,36 \pm 0,61 [11]	9,22 \pm 0,35 [13]	9,31 \pm 0,56 [10]	9,55 [1]	10,11 \pm 0,66 [11]
AnP	2,86 \pm 0,10 [12]	3,22 \pm 0,30 [13]	2,85 \pm 0,10 [10]	3,10 [1]	3,03 \pm 0,21 [11]
AIP	3,23 \pm 0,17 [12]	3,32 \pm 0,20 [11]	3,15 \pm 0,21 [8]	3,35 [1]	3,44 \pm 0,19 [11]
Culmen	13,16 \pm 0,53 [10]	12,47 \pm 0,51 [13]	13,45 \pm 0,71 [9]	12,60 [1]	13,18 \pm 0,79 [11]

Apéndice 8. A) Índices de diagnosticabilidad morfológica para subespecies y linajes.

Largo de Cola			
Subespecies	D ₁₂ / D ₂₁	Linajes	D ₁₂ / D ₂₁
<i>Hlt / Hlme</i>	-4,22 / -3,57	<i>CEN / ZUL</i>	-0,64 / -1,55
<i>Hlv / Hlma</i>	-0,87 / -1,48	<i>CEN / MER</i>	-1,80 / -1,17
<i>Hlv / Hlt</i>	-3,65 / -3,04		
<i>Hlv / Hlme</i>	-2,73 / -1,48		
Largo de Tarso			
Subespecies	D ₁₂ / D ₂₁	Linajes	D ₁₂ / D ₂₁
<i>Hlma / Hlme</i>	-1,25 / -1,06	<i>ZUL / MER</i>	-1,19 / -0,69
<i>Hlt / Hlme</i>	-1,63 / -1,02	<i>TAM / MER</i>	-1,57 / -0,65
<i>Hlv / Hlme</i>	-1,58 / -0,77	<i>CEN / MER</i>	-1,38 / 0,02
Largo de Pico			
Subespecies	D ₁₂ / D ₂₁	Linajes	D ₁₂ / D ₂₁
<i>Hlt / Hlma</i>	-1,06 / -0,21	<i>TAM / ZUL</i>	-1,06 / -0,21
<i>Hlme / Hlma</i>	-1,06 / -0,35	<i>MER / ZUL</i>	-1,05 / -0,42
<i>Hlt / Hlv</i>	-1,10 / -0,36	<i>LAR / ZUL</i>	-0,99 / -0,36
<i>Hlme / Hlv</i>	-1,09 / -0,51	<i>TAM / CEN</i>	-0,45 / 0,05
		<i>MER / CEN</i>	-0,43 / -0,17
		<i>LAR / CEN</i>	-0,38 / -0,10
Largo de Ala		Alto de Pico	
Subespecies	D ₁₂ / D ₂₁	Subespecies	D ₁₂ / D ₂₁
<i>Hlt / Hlma</i>	-4,61 / -2,88	<i>Hlme / Hlt</i>	-0,32 / -0,31

Apéndice 8. B) Índices de diagnosticabilidad de plumaje para subespecies y linajes.

Manto			
Subespecies	D ₁₂ / D ₂₁	Linajes	D ₁₂ / D ₂₁
AM		AM	
<i>Hlma / Hlt</i>	-0,051 / -0,086	<i>ZUL / TAM</i>	-0,051 / -0,086
CM		BM	
<i>Hlt / Hlma</i>	-0,009 / -0,005	<i>CEN / TAM</i>	-0,060 / -0,091
<i>Hlt / Hlme</i>	-0,011 / -0,006	CM	
		<i>TAM / ZUL</i>	-0,009 / -0,005
		<i>TAM / MER</i>	NE
Crissum			
Subespecies	D ₁₂ / D ₂₁	Linajes	D ₁₂ / D ₂₁
ACr		ACr	
<i>Hlma / Hlt</i>	-0,034 / -0,094	<i>ZUL / TAM</i>	-0,034 / -0,094
BCr		BCr	
<i>Hlma / Hlt</i>	-0,025 / -0,063	<i>ZUL / TAM</i>	-0,025 / -0,063
<i>Hlv / Hlt</i>	-0,026 / -0,049	<i>LAR / TAM</i>	-0,031 / -0,058
CCr		<i>CEN / TAM</i>	-0,019 / -0,046
<i>Hlv / Hlma</i>	-0,050 / -0,031	CCr	
		<i>CEN / ZUL</i>	-0,043 / -0,012
		<i>CEN / LAR</i>	-0,033 / -0,011

Abdomen (CA)			
Subespecies	D ₁₂ / D ₂₁	Linajes	D ₁₂ / D ₂₁
<i>Hlt / Hlma</i>	-0,044 / -0,025	<i>TAM / ZUL</i>	-0,044 / -0,025
<i>Hlme / Hlma</i>	-0,046 / -0,020	<i>MER / ZUL</i>	-0,031 / 0,001
<i>Hlt / Hlv</i>	-0,084 / -0,047	<i>LAR / ZUL</i>	-0,071 / -0,053
<i>Hlme / Hlv</i>	-0,087 / -0,041	<i>TAM / YAR</i>	-0,052 / 0,007
		<i>MER / YAR</i>	-0,039 / 0,033
		<i>LAR / YAR</i>	-0,079 / -0,021
		<i>TAM / CEN</i>	-0,084 / -0,048
		<i>MER / CEN</i>	-0,072 / -0,022
Pecho (CP)			
Subespecies	D ₁₂ / D ₂₁	Linajes	D ₁₂ / D ₂₁
<i>Hlt / Hlma</i>	-0,037 / 0,024	<i>TAM / ZUL</i>	-0,037 / 0,024
<i>Hlme / Hlma</i>	-0,036 / 0,015	<i>MER / ZUL</i>	-0,020 / 0,045
<i>Hlt / Hlv</i>	-0,087 / -0,001	<i>LAR / ZUL</i>	-0,051 / 0,002
<i>Hlme / Hlv</i>	-0,086 / -0,011	<i>TAM / YAR</i>	-0,041 / 0,066
		<i>MER / YAR</i>	-0,024 / 0,086
		<i>LAR / YAR</i>	-0,055 / 0,043
		<i>TAM / CEN</i>	-0,055 / 0,008
		<i>MER / CEN</i>	-0,038 / 0,028
		<i>LAR / CEN</i>	-0,070 / -0,015
Garganta (CG)			
Subespecies	D ₁₂ / D ₂₁	Linajes	D ₁₂ / D ₂₁
<i>Hlt / Hlma</i>	-0,038 / -0,021	<i>TAM / ZUL</i>	-0,038 / -0,021
<i>Hlme / Hlma</i>	-0,007 / 0,008	<i>MER / ZUL</i>	-0,009 / -0,009
<i>Hlt / Hlv</i>	-0,118 / -0,042	<i>LAR / ZUL</i>	-0,046 / -0,026
<i>Hlme / Hlv</i>	-0,087 / -0,014	<i>TAM / YAR</i>	-0,013 / 0,023
		<i>MER / YAR</i>	0,016 / 0,035
		<i>LAR / YAR</i>	-0,003 / -0,002
		<i>TAM / CEN</i>	0,011 / 0,022
		<i>MER / CEN</i>	0,040 / 0,034
		<i>LAR / CEN</i>	0,022 / -0,004
% Estriado de Garganta (transformado)			
Subespecies	D ₁₂ / D ₂₁	Linajes	D ₁₂ / D ₂₁
<i>Hlma / Hlt</i>	-0,051 / 0,056	<i>ZUL / TAM</i>	-0,051 / 0,056
<i>Hlma / Hlme</i>	-0,001 / 0,165	<i>ZUL / MER</i>	-0,110 / 0,145
<i>Hlv / Hlt</i>	-0,212 / -0,350	<i>ZUL / LAR</i>	-0,261 / 0,069
<i>Hlv / Hlme</i>	-0,163 / -0,241	<i>YAR / TAM</i>	0,022 / 0,179
		<i>YAR / MER</i>	-0,037 / 0,267
		<i>YAR / LAR</i>	-0,188 / 0,192
		<i>CEN / TAM</i>	-0,003 / 0,156
		<i>CEN / MER</i>	-0,063 / 0,245
		<i>CEN / LAR</i>	-0,214 / 0,169

Apéndice 9. Gráficos de caja y bigote del brillo (CG) y del porcentaje de estrías (%E) de garganta de machos (M; n=19) y hembras (F; n=13) de la subespecie *tamae*. Los bigotes representan los valores mínimo y máximo y se muestran los percentiles 25, 50 (línea horizontal dentro de la caja) y 75. Para ambas variables se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$).

