

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



## **Trabajo Especial de Grado**

¿Son los géneros monotípicos *Hylonympha* y *Sternoclyta* parte del linaje de los brillantes? Un estudio de sus relaciones filogenéticas

Br. Marialejandra Castro Farías

Tutor: Prof. Jorge Luis Pérez Emán

Caracas, mayo 2017



Universidad Central de Venezuela  
Facultad de Ciencias  
Escuela de Biología

### ACTA

Los abajo firmantes, miembros del jurado designado por el Consejo de la Escuela de Biología para examinar el Trabajo Especial de Grado de la bachiller Marialejandra Castro, C.I. 18.750.854, titulado “**¿Son los géneros monotípicos *Hylonympha* y *Sternoclyta* parte del linaje de los brillantes? Un estudio de sus relaciones filogenéticas**”, nos hemos reunido hoy, 24 de mayo de 2017 en el salón de conferencias “Jesús María Pacheco” del Instituto de Zoología y Ecología Tropical, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, para atender a la defensa pública de dicho trabajo, después de lo cual consideramos que amerita ser aprobado. Certificamos así, que este Trabajo Especial de Grado cumple con los requisitos exigidos por esta Magna Casa de Estudio para optar al título de Licenciado en Biología.

Jorge Luis Pérez Emán  
Instituto de Zoología y Ecología Tropical  
Tutor

Miguel Lentino  
Colección Ornitológica Phelps  
Jurado

Diego Griffón  
Instituto de Zoología y Ecología Tropical  
Jurado

*A Conchita y a mis números infinitos.*

## **Agradecimientos**

Muchas personas me acompañaron en este viaje, que particularmente para mí, significó descubrirme en un mundo de muchas preguntas maravillosas con poco tiempo para responder. Algunas me acompañaron con palabras de ánimo, otras con palabras de sabiduría, otras con abrazos y cariños y otras con sonrisas de felicidad al verme construir este trabajo. A todos les agradezco inmensamente sus buenos deseos, los cafecitos, los chocolates y los ratitos de distracción con risas para recargarme el alma.

Estoy especialmente agradecida con Jorge, mi tutor y mentor, que con mucha paciencia y amor, me acompañó en cada pasito, no solo durante este trabajo, sino durante mi carrera llena de huequitos. Contigo tuve la suerte de conseguir una persona que veía más allá de mis desaciertos y apostó a una futura Malé que yo no encontraba; bienaventurada el alma noble que riega y ama su fruto sin esperar recompensa de su sabor.

A Daniela, por darme su apoyo y amor incondicional de hermana, a Pedro por amarme siempre entre acuerdos y desacuerdos, y a la hermosa Mariana, por ser el polvo de estrellas y la luz combustible de mi alma: gracias por su paciencia y apoyo entre todas las adversidades, ustedes son y serán siempre mis amados números infinitos.

Finalmente, quisiera también agradecer a mis compañeros estudiantes, hombres, mujeres, jóvenes y viejos que mientras yo escribía mi tesis, estaban en las calles exigiendo nuestros derechos y cambiando el rumbo de la historia de nuestro país; les agradezco el temple y el fuego que me alimentaban el alma de esperanza de futuro.

## Resumen

La familia Trochilidae, se caracteriza por presentar una alta diversidad de formas y colores. Los brillantes *sensu stricto* representan un grupo monofilético conformado por el género *Heliodoxa* y el género monotípico *Clytolaema*. El género *Heliodoxa* ha sido vinculado con varios géneros monotípicos, entre ellos *Sternoclyta* e *Hylonympha*; sin embargo, las relaciones filogenéticas de ambos géneros son desconocidas. Actualmente, ambos géneros están incluidos dentro del linaje de las gemas de montaña, como resultado de la hipótesis filogenética de Renner y Schuchmann (2004) que relacionan a estos géneros con el género *Eugenes* basado en caracteres morfológicos, patrones de coloración y distribución geográfica. El objetivo de este trabajo fue determinar las relaciones filogenéticas de los géneros monotípicos *Sternoclyta* e *Hylonympha* usando datos moleculares (genes nucleares y mitocondriales). Utilizamos métodos de máxima verosimilitud y de inferencia bayesiana para estimar las relaciones filogenéticas y estimamos el tiempo de divergencia de ambos géneros para proponer un escenario biogeográfico. Obtuvimos que los géneros monotípicos *Sternoclyta* e *Hylonympha* conforman un grupo monofilético con el clado de los brillantes *sensu stricto*; sin embargo, las relaciones filogenéticas entre los miembros de este clado resultaron en una politomía. Los géneros *Sternoclyta* e *Hylonympha*, así como los brillantes *sensu stricto*, tuvieron su origen y diversificaron a partir del Mioceno Medio-Tardío (aproximadamente hace 10 millones de años). Sugerimos una propuesta taxonómica en donde todas las especies que conforman el clado de los brillantes *sensu stricto* sean incluidos dentro del género *Heliodoxa*.

**Palabras clave:** análisis filogenético, Trochilidae, colibríes, *Sternoclyta*, *Hylonympha*, brillantes, géneros monotípicos.

## **Índice de Contenidos**

<b>Introducción</b> .....	1
<b>Antecedentes</b> .....	11
<b>Objetivos</b> .....	21
<b>Métodos</b> .....	22
<b>Resultados</b> .....	34
<b>Discusión</b> .....	41
<b>Conclusiones</b> .....	54
<b>Referencias Bibliográficas</b> .....	55

## Índice de Figuras

<b>Fig. 1.</b> Distribución de los brillantes basada en la distribución de las especies que conforman este linaje .....	4
<b>Fig. 2.</b> Distribución de las especies que conforman el clado de los brillantes <i>sensu stricto</i> . .....	5
<b>Fig. 3.</b> Distribución de las especies <i>Sternoclyta cyanopectus</i> e <i>Hylonympha macrocerca</i> .....	8
<b>Fig. 4.</b> Árbol consenso resultante del análisis de hibridación de ADN de la familia Trochilidae presentado por Bleisweiss y col. (1997) .....	14
<b>Fig. 5.</b> Hipótesis filogenética de la familia Trochilidae basada en inferencia bayesiana obtenida por Altshuler y col. (2004) .....	16
<b>Fig. 6.</b> Cladograma obtenido por Renner y Schuchmann (2004) basado en patrones de plumaje de los géneros <i>Heliodoxa</i> , <i>Hylonympha</i> , <i>Eugenes</i> y <i>Sternoclyta</i> .....	19
<b>Fig. 7.</b> Hipótesis filogenética obtenida en los análisis de máxima verosimilitud e inferencia bayesiana .....	40
<b>Fig. 8.</b> Cronograma generado por BEAST para el grupo de los brillantes <i>sensu stricto</i> .....	41
<b>Fig. 9.</b> Escenarios taxonómicos planteados para los brillantes <i>sensu stricto</i> . Los nombres de cada grupo se asignan por prioridad de descripción (autor y año al lado de cada grupo reconocido)....	53

## Índice de Tablas

<b>Tabla 1.</b> Muestras de tejidos seleccionadas para este estudio.....	23
<b>Tabla 2.</b> Cebadores empleados en este estudio para la amplificación de los genes NADH subunidad 2 y subunidad 4 (ND2 y ND4), Bfib, AK1, MUSK, ODC y la temperatura de alineamiento utilizada para amplificar cada gen .....	25
<b>Tabla 3.</b> Esquema de particiones utilizadas en este estudio.....	30
<b>Tabla 4.</b> Secuencias obtenidas por cada gen con las muestras empleadas en este estudio.....	35
<b>Tabla 5.</b> Divergencia genética (distancia- <i>p</i> ) expresada en porcentaje entre las secuencias del gen ND2 de <i>Sternoclyta cyanopectus</i> utilizadas en este estudio.....	35
<b>Tabla 6.</b> Esquema de particiones evaluadas en PartitionFinder (1 y 2) y resultados obtenidos (PF1 y PF2) acompañado de los modelos de evolución molecular seleccionados para los análisis de inferencia bayesiana y máxima verosimilitud.....	37

## Índice de Anexos

<b>Anexo 1.</b> Lista de las secuencias de los genes de las especies empleadas en este estudio, con su identificación (ID), linaje al que pertenecen y código de acceso e identificación en GenBank.....	62
<b>Anexo 2.</b> Árboles de máxima verosimilitud (MV) e inferencia bayesiana (IB) empleando las matrices de genes nucleares (AK1, BFib, ODC, Musk) mitocondriales (ND2 y ND4) .....	65
<b>Anexo 3.</b> Tablas de divergencia genética obtenida (distancia- <i>p</i> ) en porcentaje para las secuencias de los genes mitocondriales ND2 (2.1) y ND4 (2.2) y los genes nucleares AK1 (2.3), BFib (2.4) ODC (2.5) y Musk (2.6) .....	66
<b>Anexo 4.</b> Cronograma generado por BEAST. Las barras en los nodos representan los intervalos de confianza del 95% del tiempo de divergencia. La escala inferior muestra el tiempo en millones de años (Ma). Valores de probabilidades posteriores para las hipótesis filogenética: <i>Urochroa</i> con el clado de los brillantes <i>sensu stricto</i> (1); clado de los brillantes <i>sensu stricto</i> (0.99); <i>Sternoclyta</i> con el grupo de <i>H. gularis</i> , <i>H. branickii</i> y <i>H. xanthogonys</i> (0.93); <i>Hylonympha</i> con el grupo <i>H. aurescens</i> , <i>C. rubricauda</i> , <i>H. rubinoides</i> , <i>H. imperatrix</i> , <i>H. leadbeateri</i> , <i>H. jacula</i> (0.96).....	69

## Introducción

Los miembros de la familia Trochilidae, conocidos como colibríes, se caracterizan por ser aves pequeñas con patrones de coloración iridiscentes muy llamativos y complejos, y por poseer picos delgados extremadamente variables en forma y longitud (Schuchmann y Bonan, 2017). Es una familia ecológicamente diversa y con una gran riqueza de especies producto de una dramática radiación adaptativa (McGuire y col., 2014). Esta familia, endémica de América, y que se distribuye desde Alaska a Tierra del Fuego, es una de las más numerosas en el Nuevo Mundo con 363 especies reconocidas actualmente, habitando una gran diversidad de ambientes y diversos pisos altitudinales desde el nivel del mar hasta 5.000 metros sobre el nivel del mar (Schuchmann y Bonan, 2017).

La gran variación de los patrones de plumaje y coloración, así como una morfología asociada a una anatomía altamente modificada para el vuelo y la alimentación, han sido algunos de los obstáculos más evidentes en los estudios taxonómicos y evolutivos de este grupo. A nivel de subfamilia, Gould (1861) describió que no observaba una “división marcada” que le permitiera diferenciar grupos dentro de la familia, por lo que solo pudo reconocer a las subfamilias Phaethornithinae y Trochilinae (una división tradicional que reconoce la diferenciación en colibríes de pico recto y de pico curvo). Esta clasificación simplificaba tratamientos previos de otros autores, como por ejemplo los de Gray (1849), Reichenbach (1855) y Cabanis y Heine (1860), que incluían entre tres y diez subfamilias. Por otra parte, Elliot (1879) consideraba que no se podía establecer ninguna distinción entre las subfamilias establecidas para la familia Trochilidae y no incluyó esta categoría en su tratamiento taxonómico. Tratados taxonómicos posteriores fueron igualmente variables con

clasificaciones que incluyeron hasta 18 familias considerando a los colibríes como un Orden (Trochili, Boucard, 1894), otras que coincidieron en la dificultad de clasificar géneros en subfamilias y no consideraron esta categoría (Hartert, 1900), o aquellas que adicionaron la categoría de subgéneros dentro de algunos géneros ~~diversos~~ (Simon, 1921).

A nivel de género la situación taxonómica no es más sencilla en esta familia de aves. La ausencia de caracteres derivados compartidos evidentes dentro de la familia Trochilidae es expresada en un 50% de géneros monotípicos descritos (Schuchmann, 1999). Los géneros considerados como monotípicos normalmente exhiben un plumaje y caracteres morfológicos que parecen ser distintivos; sin embargo, están asociados a plesiomorfías, divergencia extrema o convergencia evolutiva potencialmente producto de la selección natural o sexual (Gerwin y Zink, 1989). Ya Elliot, en 1879, destacaba que las divisiones a nivel de género se habían llevado a un extremo como en ningún otro grupo de aves, indicando que eran pocas las especies que en algún momento no habían sido descritas dentro de un género único. Hoy en día podemos decir que los esfuerzos por reconstruir las relaciones filogenéticas dentro de la familia Trochilidae utilizando caracteres morfológicos, anatómicos y los patrones de plumaje y coloración (Zusi y Bentz, 1982; Schuchmann, 1999; Zusi 2013) han presentado limitaciones, aunque han aportado información parcial para clasificar algunos grupos, por lo que ha sido necesario explorar caracteres más informativos que permitan dilucidar las relaciones filogenéticas entre los colibríes.

El desarrollo tecnológico y la aplicación de herramientas a nivel bioquímico y molecular en estudios filogenéticos de la familia Trochilidae ha permitido determinar y corroborar relaciones evolutivas a nivel de grupos taxonómicos superiores como a nivel de

especies y géneros. Bleiweiss y colaboradores, en 1997, presentaron relaciones evolutivas de la familia utilizando técnicas de hibridación de ADN. Aunque las técnicas de hibridación están asociadas a matrices de distancia que vinculan taxa por similitud, los autores presentaron su estudio bajo un contexto filogenético. Estos autores reconocieron a las subfamilias Phaethornithinae (ermitaños) y Trochilinae (no ermitaños) como grupos monofiléticos hermanos e identificaron seis linajes dentro del grupo de los no ermitaños, que de manera informal nombraron de acuerdo a la inclusión de géneros característicos: mangos, coquetas, esmeraldas, gemas de montañas, abejas y brillantes. Posterior a los trabajos de Bleiweiss, varios autores (Altshuler y col., 2004; McGuire y col., 2007; McGuire y col., 2014) han complementado el estudio filogenético de los colibríes con base en caracteres moleculares. La inclusión de más géneros y especies ha permitido entender cada vez más la sistemática y la historia evolutiva del grupo. Como resultado de estos trabajos, actualmente son reconocidas seis subfamilias para la familia Trochilidae: Florisuginae, conformada por las especies del linaje de las topazas; Phaethornithinae, conformada por las especies pertenecientes al linaje de los ermitaños; Potytminae, conformada por las especies del linaje de los mangos; Lesbiinae, representada por dos tribus, Heliantheni (linaje de los brillantes) y Lesbiini (linaje de las coquetas); Patagoninae conformada por el género *Patagona* y la subfamilia Trochilinae representada por tres tribus, Trochilini (linaje de las esmeraldas), Lampornithini (linaje de gemas de montaña) y Mellisugini (linaje de las abejas) (Cracraft, 2013; Winkler y col., 2015).

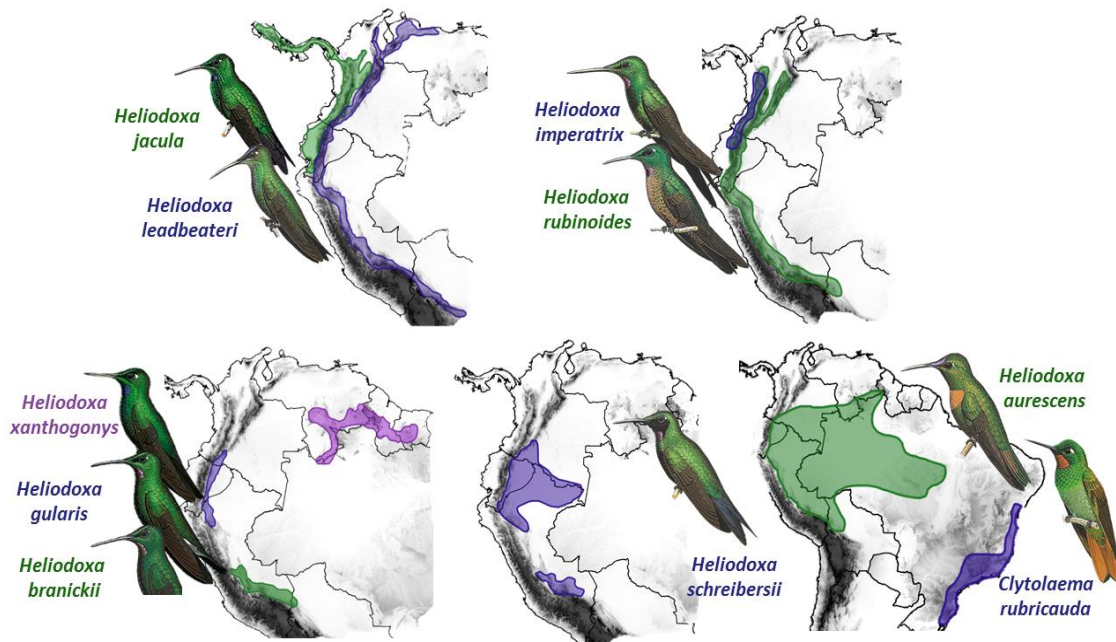
El grupo taxonómico denominado brillantes, tribu Heliantheni de la subfamilia Lesbiinae, habita en una gran variedad de ambientes y tiene una distribución altitudinal muy amplia (Figura 1). Están presentes en tierras bajas tropicales hasta en las montañas

más altas de los Andes desde 0 m s. n. m. hasta 4.800 m s. n. m (Bleiweiss, 1998; Schuchmann y Bonan, 2017). Los brillantes poseen picos largos y rectos con alas finas y estrechas (Stiles, 2008) y, junto con el clado de las abejas, conforman el clado de los Andes representando el 30% de la diversidad dentro de la familia (McGuire y col., 2014). La gran mayoría de los miembros de este último linaje, que habita en los Andes, ha desarrollado adaptaciones compensatorias relacionadas a la estructura de la hemoproteína hemoglobina, potencialmente como consecuencia de la baja densidad de aire y poca disponibilidad de oxígeno en altas elevaciones (Proyecto-García y col., 2013; McGuire y col., 2014). Actualmente el grupo de los brillantes está conformado, con base en los estudios moleculares, por 14 géneros: *Haplophaedia*, *Eriocnemis*, *Lodiggesia*, *Lafresnaya*, *Aglaeactis*, *Pterophanes*, *Ensifera*, *Boissonneaua*, *Urosticte*, *Ocreatus*, *Urochroa*, *Coeligena*, *Clytolaema*, y *Heliodoxa* (McGuire y col., 2014).



**Figura 1.** Distribución de los brillantes basada en la distribución de las especies que conforman este linaje.

El género *Heliodoxa* y el género monotípico *Clytolaema*, dentro del linaje de los brillantes, conforman un grupo monofilético (McGuire y col., 2014). Los miembros de este clado tienen picos rectos y gruesos, con una longitud mayor a la de sus cabezas, alas largas y puntiagudas y las narinas cubiertas por plumas frontales (Gould, 1861; Elliot, 1879). Las especies de estos dos géneros (nueve en el género *Heliodoxa*) habitan tanto en regiones bajas tropicales (entre los 150 m s. n. m. hasta los 1.500 m s. n. m) como en la Cordillera de los Andes (entre los 500 m s. n. m. hasta los 2.600 m s. n. m) (Schuchmann y Bonan, 2017; Figura 2). Debido a que el nombre del linaje de los brillantes surge por el nombre común de las especies que pertenecen al género *Heliodoxa* (Bleiweiss y col., 1997), este clado en particular (*Heliodoxa* más *Clytolaema*) lo consideramos como los brillantes estrictos o *sensu stricto*.



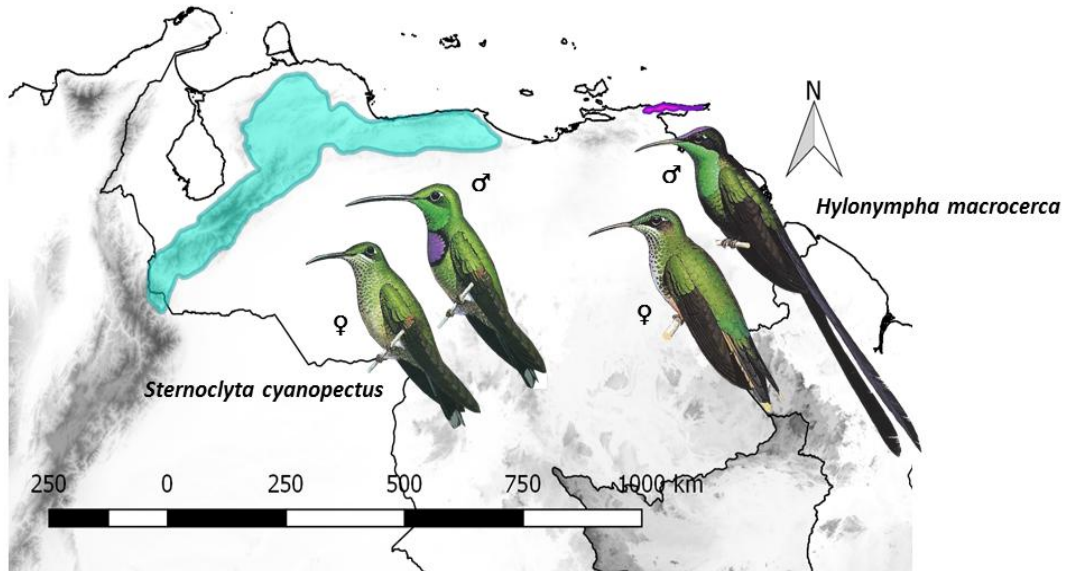
**Figura 2.** Distribución de las especies que conforman el clado de los brillantes *sensu stricto*. Los polígonos se elaboraron con base a los registros disponibles en la base de datos libre GBIF (<http://www.gbif.es>). Ilustraciones de las especies tomadas del libro “*Handbook of Birds of the World*” Vol. 5 Barn-owls to Hummingbirds (del Hoyo y col., 1999).

La diversidad del género *Heliodoxa* ha estado íntimamente ligada con la problemática taxonómica que ha resultado en un sinnúmero de géneros monotípicos en la familia. Muchas de las especies hoy en día incluidas en este género han sido reconocidas como géneros monotípicos (p.e. *Polyplancta*, *Iolaima*, *Phaiolaima*, *Lampraster*, entre otros). Sin embargo, características morfológicas y de patrones de coloración (Simon, 1921; Zimmer, 1951), así como estudios de aloenzimas y de secuencias de ADN (Gerwin y Zink, 1989; McGuire y col., 2014), han permitido generar una hipótesis más congruente de la conformación del género *Heliodoxa*. Otros dos géneros monotípicos que han sido vinculados a este género son *Sternoclyta* e *Hylonympha*.

Los géneros *Sternoclyta* e *Hylonympha* han sido relacionados con los brillantes o el género *Heliodoxa*. Esta cercanía evolutiva ha sido reflejada en la secuencia lineal de la clasificación de la familia mostrada por diferentes tratados taxonómicos (Boucard, 1894; Hartert, 1900; Cory, 1918; Simon, 1921; Peters, 1945). Las secuencias lineales intentan reflejar la cercanía filogenética (o, en su defecto, similitud morfológica) de los diferentes organismos (taxa) incluidos en una clasificación. Schuchmann (1999) concuerda con esta hipótesis y propone que debido a semejanzas en sus patrones de coloración y plumaje, así como aspectos de distribución y ecológicos, estos dos géneros podrían ser incluidos como miembros de los brillantes, junto con el género *Heliodoxa*. Posteriormente, en un estudio desarrollado junto a Renner, en el 2004, estos autores proponen una hipótesis filogenética relacionando al género *Eugenes* (considerado un género relacionado con los brillantes y cercano a *Heliodoxa* y los géneros *Sternoclyta* e *Hylonympha* Simon, 1921; Peters, 1945) con los géneros *Sternoclyta* e *Hylonympha*, basándose en patrones de coloración, distribución geográfica y datos morfológicos. Estos resultados llevan a estos autores a

sinonimizar estos dos géneros con el género *Eugenes*, considerándolo cercano al género *Heliodoxa* e ignorando resultados moleculares previos que indicaban que los géneros *Eugenes* y *Heliodoxa* no eran cercanos filogenéticamente (Bleiweiss y col., 1997; Renner y Schuchmann, 2004). Ningún otro estudio filogenético se ha realizado con estos géneros y los mismos son considerados hoy gemas de montaña (relacionados filogenéticamente con *Eugenes* pero considerando a este género como una gema de montaña; McGuire y col., 2009; Cracraft, 2013; Winkler y col., 2015; pero ver Remsen y col., 2017 para un arreglo diferente).

El colibrí pechiazul, *Sternoclyta cyanopectus* (Gould, 1846), habita en los bosques húmedos y bosques secundarios en zonas subtropicales bajas desde el nivel del mar hasta 1.900 metros sobre el nivel del mar. Se distribuye principalmente en Venezuela en los Andes y la Cordillera de la Costa (Hilty, 2003), siendo registrada recientemente en Colombia por Córdoba-Córdoba y Echeverry (2006), cerca de la frontera con Venezuela en el Parque Nacional Tamá (Figura 3). Esta especie tiene un pico negro largo (comparado con su cuerpo), ligeramente curvo, y presenta dimorfismo sexual en caracteres morfométricos y patrones de coloración (Hilty, 2003; Malpica, 2015). El macho de *Sternoclyta cyanopectus* se caracteriza por presentar el cuerpo de color verde iridiscente con un parche en el pecho color azul violáceo profundo brillante, mientras que la hembra es menos conspicua, con las partes inferiores del cuerpo de color grisáceo con discos verdosos brillantes y presenta una mancha malar o bigote (Hilty, 2003; Figura 3).



**Figura 3.** Distribución de las especies *Sternoclyta cyanopectus* e *Hylonympha macrocerca*. Ilustraciones de las especies tomadas del libro “*Handbook of Birds of the World*” Vol. 5 Barn-owls to Hummingbirds (del Hoyo y col., 1999).

*Sternoclyta cyanopectus* fue descrito inicialmente por Gould, en 1846, bajo el género *Trochilus*. La especie fue colectada por David Dyson ese mismo año en Naiguatá, cerca de Camurí Grande, en las costas del norte de Venezuela (Gould, 1861). Gould (1846) destaca que es una especie que no parece tener relación alguna con las especies conocidas hasta el momento; sin embargo, la asigna al subgénero *Lampornis*. La inestabilidad taxonómica que caracterizó a la familia Trochilidae desde la época de Linneo (donde todos los colibríes fueron asignados al género *Trochilus*) hasta gran parte del siglo XIX, como consecuencia de diferentes intentos de agrupar la diversidad de colibríes en grupos (subfamilias o géneros), llevó a la especie a ser considerada dentro de los géneros *Polytmus* (Gray, 1849), *Campylopterus* (Bonaparte, 1854) y *Saepiopterus* (Reichenbach, 1853). No fue sino hasta 1858 que Gould, en uno de los trabajos más completos realizado para la familia de los colibríes (Monografía de Trochilidae), designa el género monotípico *Sternoclyta* para esta especie basado en las características conspicuas únicas de patrones de

coloración y la longitud del pico que lo hacen diferenciarse de los otros miembros de la familia. Renombrados e importantes taxónomos y naturalistas como Elliot (1879), Salvin (1892), Simon (1921) y Peters (1945) siguieron la propuesta de Gould en la asignación del género monotípico para esta especie, por lo cual su historia taxonómica (con ligeros cambios en la forma de escribir el epíteto específico) se ha mantenido estable hasta el presente.

El colibrí tijereta, *Hylonympha macrocerca* (Gould, 1873), es una especie endémica de Venezuela con una distribución restringida al bosque nublado del noreste de la Península de Paria en el estado Sucre, Venezuela, observándose en linderos y parches en bosques entre los 900 y 1200 metros sobre el nivel del mar (Hilty, 2003; Figura 3). El macho de *Hylonympha macrocerca* es muy llamativo debido a su larga cola negra horquillada y una corona azul violeta intensa iridiscente en la cabeza, mientras que la hembra tiene la cola ligeramente ahorquillada, no posee la corona iridiscente violeta y la parte inferior del abdomen o barriga es de color canela grisáceo (Hilty, 2003; Figura 3).

La taxonomía del género *Hylonympha* ha sido menos compleja, si la comparamos con el género anterior. Gould, en 1873, describe la especie por primera vez basado en el análisis de un ejemplar macho. Este autor expresó que si no fuera por la cola larga y oscilante la especie presentaría un cierto parecido con *Thalurania glaucopis*; sin embargo, era lo suficientemente distinta como para proponer y garantizar la creación de un nuevo género monotípico. Posteriormente, en el suplemento a su obra de la monografía de la familia (Gould y Sharpe, 1880), este autor indicaría que la especie está realmente relacionada con *Heliodoxa* más que con *Thalurania*. La piel del ejemplar usada para su descripción llegó a la colección personal de Gould gracias al Sr. Whitely, el cual tenía

pieles provenientes de Brasil, razón por la cual se asignó este país como la localidad de colecta para la especie. No fue sino hasta 1912 que Brabourne y Chubb (Phelps y Phelps, 1948) asocian a la especie con Venezuela designando la localidad tipo como el “interior de Venezuela”. Peters, en 1945, basado en la relación que podría existir entre *Hylonympha* y *Heliodoxa*, propone que la especie podría encontrarse en las montañas de Venezuela, pero sería Ramón Urbano, colector de la Colección Ornitológica Phelps, quien en el año 1948 colectaría la especie en las montañas de Cerro Azul en la Península de Paria del estado Sucre en Venezuela (Phelps y Phelps, 1948).

El estudio de las relaciones filogenéticas de los géneros *Sternoclyta* e *Hylonympha* es básico para abordar problemas taxonómicos y preguntas evolutivas y biogeográficas. Su asignación a las gemas de montaña o los brillantes tiene implicaciones sobre la evolución de caracteres morfológicos de estos linajes de colibríes, así como de sus patrones biogeográficos. Igualmente, en caso de confirmarse su inclusión dentro del grupo de los brillantes *sensu stricto* y, en efecto, dentro del linaje de los brillantes, nuestros resultados permitirán explorar a fondo (siendo el muestreo exhaustivo a nivel de especies dentro de este grupo) hipótesis sobre procesos de diversificación y especiación específicas de los brillantes, dada la extensa distribución geográfica así como la diversidad de hábitats y adaptaciones fisiológicas a la altura que caracteriza a este linaje (Graham y col., 2009; Proyecto-García y col., 2013; McGuire y col., 2014). Como consecuencia, en este trabajo nos hemos planteado utilizar datos moleculares para determinar las relaciones filogenéticas de los géneros *Hylonympha* y *Sternoclyta* y, con ello, realizar una contribución a la sistemática y taxonomía de estos dos géneros, así como generar hipótesis biogeográficas específicas a estos taxa y, de manera general, al linaje al que pertenecen.

## **Antecedentes**

La taxonomía de los miembros de la familia Trochilidae se ha caracterizada por ser complicada desde sus orígenes. El creciente conocimiento de la diversidad de esta familia de aves producto del trabajo de los naturalistas de los siglos XVIII y XIX trajo consigo la necesidad de generar una taxonomía congruente con la diversidad de formas y colores de estas aves. Los tratamientos taxonómicos reflejaban la relación entre especies basándose fundamentalmente en los patrones y coloración del plumaje, así como algunos caracteres morfológicos como el pico y alas. Así, pasamos de 22 y 69 especies de colibríes incluidas en las ediciones 12 y 13 del *Sistema Naturae* de Linneo, hasta 400 especies reconocidas por Gould (Gmelin, 1788; Gould, 1861). Las primeras especies fueron incluidas en su totalidad en un solo género (*Trochilus*), contrastando con clasificaciones a principios del siglo XX que incluían hasta 18 familias para la familia Trochilidae (p.e. Boucard, 1894). Es interesante notar, igualmente, que el número de especies indicado por Gould (1861) en su *Introducción a la familia Trochilidae* es mayor que el reconocido hoy día (Schuchmann y Bonan, 2017), producto de un alto número de sinonimias asociado a la descripción de especies.

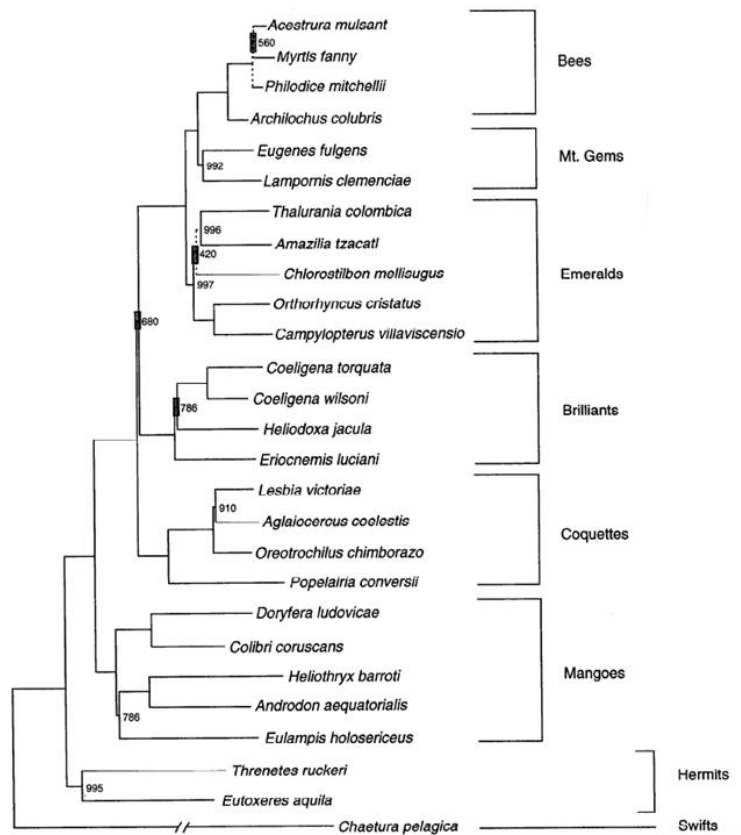
Diferencias en criterios de valoración de caracteres morfológicos (principalmente morfología externa, incluyendo el plumaje) con el objetivo de establecer relaciones de parentesco entre especies caracterizó una clasificación de la familia Trochilidae muy variable en el siglo XIX. Gray (1849) propuso la división de la familia en tres subfamilias, Grypinae, Trochilinae y Mellisuginae, con base en características del plumaje pero,

principalmente la morfología del pico y alas. Bonaparte (1850), por el contrario, reconoce solo una subfamilia, Trochilinae. Reichenbach, en 1855, propone un nuevo ordenamiento taxonómico para el grupo, que corresponde a cuatro grandes grupos, Nymphae, Fayae, Sylphae y Gnomidae, que incluyen 16 subfamilias: Mellisuginae, Lesbiinae, Metallurinae, Heliantheinae, Hylocharinae, Ochrurae, Polytminae, Campylopterinae, Orthorhynchinae, Microrhamphinae, Trochilinae, Petasophorinae, Docimastinae, Oreotrochilinae, Glaucidinae y Phaethorninae. Cabanis y Heine (1860) reconoce diez subfamilias, algunas similares a las propuestas por Reichenbach y otras diferentes. Gould, en 1861, considera que la familia Trochilidae usando caracteres morfológicos, similitudes en patrones de coloración, distribución y hábitat, solo puede ser agrupada en dos grandes subfamilias, Trochilinae y Phaethornithinae, mientras que Elliot (1879) consideró que la familia no debería ser agrupada en subfamilias, debido a que las especies que conforman estos grupos taxonómicos son muy distintas, y que si fuese necesario implementar tal subdivisión, la descripción de muchas subfamilias sería inevitable y poco ventajosa. A finales del siglo XIX, Boucard (1894) y Hartert (1900) proponen clasificaciones sumamente contrastantes, el primero con 18 familias (dentro del Orden Trochili) y el segundo no divide la familia Trochilidae en subfamilias. Estos contrastes ponen en evidencia la dificultad de generar clasificaciones estables y/o congruentes con los caracteres morfológicos externos. Estudios filogenéticos recientes basados en patrones de coloración de plumaje y caracteres morfométricos han mostrado la dificultad de establecer homologías claras con estos caracteres (Schuchmann, 1999; Sánchez-Osés, 2003) al comparar con el conocimiento actual que se tiene de la filogenia de esta familia (Parra y col., 2009; McGuire y col., 2014).

Caracteres anatómicos han sido utilizados en estudios sistemáticos más recientes de la familia Trochilidae. Zusi y Bentz (1982) describieron la variación del músculo tensor *patagii brevis*, músculo asociado al movimiento de flexión del antebrazo y al apoyo de la membrana prepatagial del ala extendida. Los patrones de inserción de este músculo son consistentes con la separación de la familia en dos subfamilias, Phaethornithine y Trochiline. Sin embargo, estos autores encontraron tres tipos de patrones de inserción dentro de Trochilinae, sugiriendo una clasificación más compleja a la establecida por Gould (1861). Más recientemente, Zusi, en el 2013, realiza un estudio descriptivo y comparativo del esqueleto de 256 especies (102 géneros) de colibríes, encontrando que la subfamilia de los ermitaños (Phaethornithinae) carece de suficientes caracteres diagnósticos para apoyar de manera robusta la separación de la familia en dos grupos de especies. Adicionalmente, el autor concluye que los linajes principales que conforman a la familia (*sensu* McGuire y col., 2007) carecen de sinapomorfías y muestran una gran diversidad en los caracteres del esqueleto, presentando una gran cantidad de paralelismos producto de procesos de convergencia evolutiva. Estos dos últimos estudios, aunado a los estudios clásicos previamente presentados, sugieren que los caracteres morfológicos, anatómicos y los patrones de plumaje y coloración son limitados para dilucidar las relaciones filogenéticas entre los colibríes.

Caracteres bioquímicos y moleculares han mostrado ser informativos para entender relaciones evolutivas entre géneros y especies. Gill y Gerwin (1989) realizaron un estudio basado en aloenzimas para establecer las relaciones entre géneros y especies de la familia Phaethornithinae y muestran que estos caracteres tienen un alto potencial para generar hipótesis sobre las relaciones evolutivas entre géneros y especies de Trochilidae. Bleiweiss

y colaboradores, en 1994, en un estudio basado en técnicas de hibridación de ADN, reconocen como grupos hermanos monofiléticos a las dos subfamilias propuestas por Gould en 1861, las cuales son congruentes con los resultados anatómicos de Zusi y Bentz (1982): Phaethornithinae (ermitaños) y Trochilinae (no ermitaños). Posteriormente, en el año 1997, estos mismos autores, haciendo uso de la misma técnica, distinguen, por primera vez, seis posibles linajes dentro de la subfamilia Trochilinae: mangos, coquetas, esmeraldas, abejas, gemas de montaña y brillantes (Figura 4).

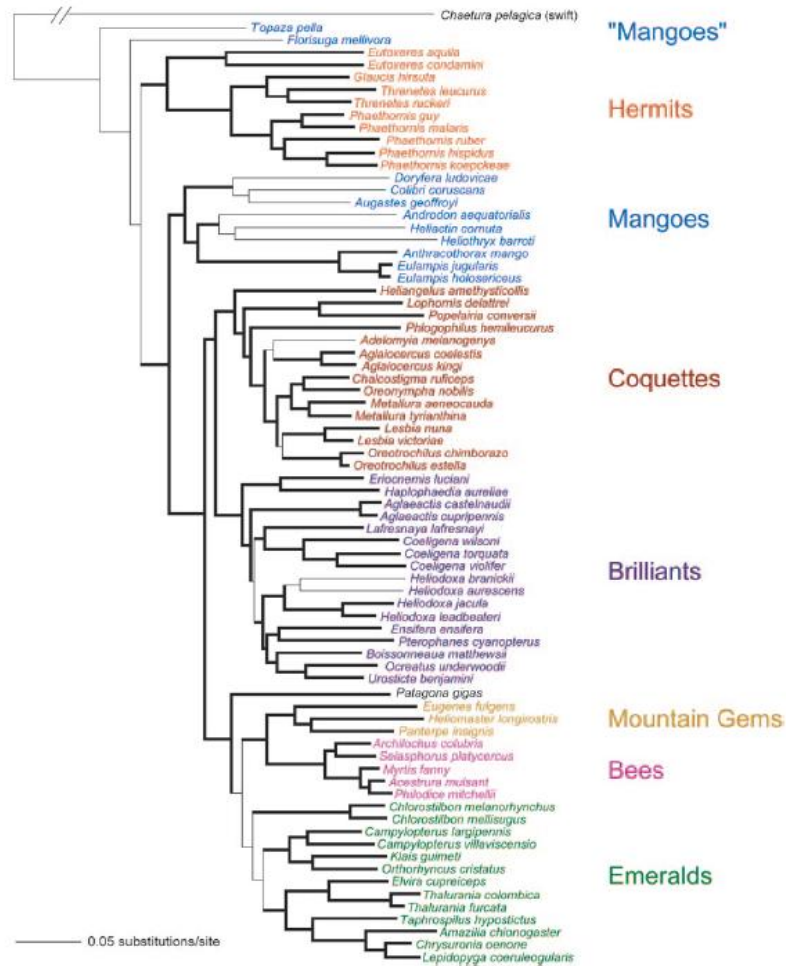


**Figura 4.** Árbol consenso resultante del análisis de hibridación de ADN de la familia Trochilidae presentado por Bleisweiss y col. (1997). Se indican los diferentes linajes asociados a la familia. Los números en nodos corresponden a 1000 pseudoréplicas de bootstrap.

El uso de caracteres moleculares ha sido fundamental para entender la sistemática de la familia Trochilidae. Altshuler y colaboradores (2004) presentaron (bajo un contexto

asociado a la morfología y mecánica del vuelo en los colibríes) una filogenia en donde incluyeron 75 taxones de la familia utilizando secuencias de ADN mitocondrial y nuclear. Los resultados obtenidos apoyan los clados propuestos por Bleiweiss y colaboradores (1997) para la subfamilia Trochilinae y, adicionalmente, destacan, con bajo soporte estadístico, que los géneros *Topaza* y *Florisuga* representan el grupo hermano de los demás linajes de la familia, incluyendo al grupo de los ermitaños (Figura 5). McGuire, en el 2007 y 2014, junto con sus colaboradores, han generado las hipótesis filogenéticas más completas para la familia Trochilidae. En la publicación del 2014, estos autores presentaron una filogenia basada en secuenciación de múltiples caracteres moleculares (nucleares y mitocondriales). En su trabajo establecen las relaciones filogenéticas para 284 especies de la familia, incluyendo 101 géneros de los 105 actualmente descritos. Con alto soporte estadístico, se reconoce al grupo de las topazas (conformado por los géneros *Topaza* y *Florisuga*) como el grupo hermano de los ermitaños, y estos dos representan el clado hermano al resto de los Trochilinae, patrón que sugiere un cambio en la taxonomía tradicional de la familia. Adicionalmente, se reconocieron otros ocho linajes que junto al linaje de las topazas conforman a la familia Trochilidae: ermitaños, mangos, coquetas, gemas de montaña, abejas, esmeraldas, brillantes y el género *Patagona*, de manera solitaria, por su alta divergencia con respecto a los otros linajes de la familia aquí reconocidos. Solo cuatro géneros fueron excluidos de este estudio, debido a la falta de disponibilidad de muestras: el género bitípico *Augastes*, relacionado a los miembros del linaje de los mangos (Remsen y col., 2017), el género monotípico *Anopetia*, relacionado al linaje de los ermitaños (Remsen y col., 2017) y los géneros monotípicos *Hylonympha* y *Sternoclyta*, los cuales han sido vinculados al linaje de las gemas de montaña (Renner y Schuchmann, 2004; McGuire y col., 2009; Winkler y col., 2015). La clasificación actual de la familia

(presentanda en la sección previa de este trabajo: Introducción) se fundamenta en la propuesta desarrollada por Cracraft en el 2013, basado en el trabajo de McGuire y col. (2009) en el que se propone una nomenclatura taxonómica formal para la familia Trochilidae utilizando la filogenia obtenida en los estudios de McGuire y col. (2007).



**Figura 5.** Hipótesis filogenética de la familia Trochilidae basada en inferencia bayesiana obtenida por Altshuler y col. (2004). En este trabajo se utilizaron secuencias de ADN de un gen mitocondrial (ND2) y dos genes nucleares (BFib y AK1).

La clasificación actual de la familia Trochilidae incluye al linaje de los brillantes dentro de la subfamilia Lesbiinae, específicamente en la tribu Heliantheni. Las hipótesis

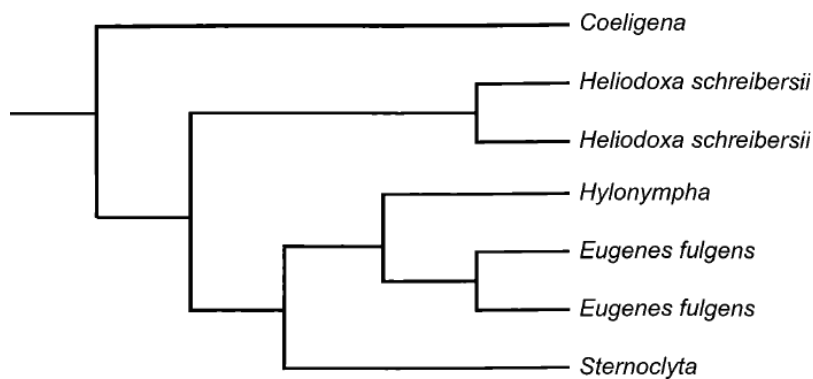
filogenéticas producto del trabajo con caracteres moleculares ha confirmado la vinculación, a este linaje, de los géneros *Haplophaedia*, *Aglaeactis*, *Urosticte*, *Urochroa*, *Boissonneaua* y los géneros monotípicos *Lafresnaya*, *Lodiggesia*, *Ensifera*, *Pterophanes*, *Ocreatus* y *Clytolaema* (Bleisweiss y col., 1997; Altshuler y col., 2004, McGuire y col., 2007; McGuire y col., 2014). A este linaje pertenece el género *Heliodoxa*, el cual ha sido vinculado por varios autores con otros géneros monotípicos (Reichenbach, 1853; Elliot, 1879; Hellmayr y Seilern, 1912; Simon, 1921; Peters, 1945; Zimmer, 1951), basándose en patrones de coloración, características morfológicas, ecología y distribución geográfica.

La conformación actual del género *Heliodoxa* es producto de resaltar similitudes (y no diferencias) morfológicas y de la contribución de los caracteres moleculares al estudio filogenético de la familia. Zimmer, en 1951, describió que la extensión de plumaje que cubre el opérculo nasal, la cual da una apariencia prolongada de la frente, es uno de los caracteres morfológicos que vincula a los géneros monotípicos *Phaiolaima*, *Ionolaima*, *Eugenia*, *Agapeta* y *Lampraster* con el género *Heliodoxa* y, en consecuencia, propone incluir a las especies *Ionolaima schreibersii*, *Eugenia imperatrix*, *Lampraster branickii*, *Agapeta gularis* y *Phaiolaima rubinoides* como parte de este género. Según este autor, las diferencias entre especies (principalmente de plumaje y caracteres como el pico y la cola) no corresponden a diferencias a nivel de género. En este trabajo, Zimmer también asocia a *Heliodoxa* con los géneros *Polyplancta* y *Clytolaema*; sin embargo, no los incluye dentro de la propuesta final para el género. Trabajos posteriores, con base en estudios de aloenzimas (Gerwin y Zink, 1989), reconocen la inclusión del género monotípico *Polyplancta* dentro del género *Heliodoxa*. En los trabajos de McGuire y col., (2014) se

reconoce la relación del género *Clytolaema* con el grupo de especies que conforma al género *Heliodoxa*.

La hipotética relación filogenética de los géneros *Sternoclyta* e *Hylonympha* dentro de la familia Trochilidae es resultado de estudios morfológicos y su asociación con la filogenia molecular más reciente de la familia. Como se indicó en la Introducción, Schuchmann (1999) vinculó al género *Heliodoxa* con los géneros monotípicos *Sternoclyta* e *Hylonympha* con base en sus patrones similares de comportamiento y canto (cuyos datos no muestra) y las características morfológicas como la maxila y la mandíbula cubierta por plumas, además de los patrones de coloración en la garganta. En el año 2004, Renner y Schuchmann publicaron una filogenia para los géneros *Sternoclyta*, *Hylonympha* y *Eugenes*, basada en caracteres morfológicos externos (específicamente en patrones de coloración del plumaje) y datos biogeográficos (distribuciones geográficas y similitud de hábitas) de los tres géneros (Figura 6). Los autores proponen que estos géneros conforman un grupo monofilético y sinonimizan los dos géneros con el género *Eugenes*. En sus resultados, estos autores explican que los tres géneros tienen características externas similares (partes inferiores negruzcas, garganta iridiscente verde esmeralda y coronas iridiscuentes de color azul y verde en machos); sin embargo, estos caracteres no parecen ser suficientes para vincular y diagnosticar a estos géneros como un grupo monofilético, ya que patrones similares se describen para muchos otros géneros de la familia (Stiles en Remsen y col., 2017). Con respecto a las medidas de longitud de ala, cola y pico, estos autores no encontraron ningún patrón morfológico evidente que vincule a estos géneros, describiendo solamente la similitud en los picos de *Hylonympha* y *Eugenes*, largos y rectos, en comparación con el pico ligeramente curvo de *Sternoclyta*. Adicionalmente, estos autores

no consideran el hecho de que estudios anteriores (Bleiweiss y col., 1997) habían mostrado que *Eugenes* no estaba incluido dentro del linaje de los brillantes sino en el de las gemas de montaña. A pesar de estas fallas, la propuesta de Renner y Schuchmann (2004), indicando que los géneros *Sternoclyta* e *Hylonympha* son sinónimos del género *Eugenes*, fue la base para que autores como McGuire y col. (2009) y Winkler y col. (2015) vincularan a estos dos géneros como parte del linaje de las gemas de montaña, actualmente conformado por los géneros *Eugenes*, *Lampornis*, *Heliomaster*, *Lamprolaima* y *Panterpe*.



**Figura 6.** Cladograma obtenido por Renner y Schuchmann (2004) basado en patrones de plumaje de los géneros *Heliodoxa*, *Hylonympha*, *Eugenes* y *Sternoclyta*.

Renner y Schuchmann (2004), con base en esta hipótesis filogenética, elaboraron un posible escenario evolutivo para el grupo monofilético conformado por *Eugenes*, *Sternoclyta* e *Hylonympha*. En esta hipótesis proponen que el ancestro común de este grupo fue una especie del género *Heliodoxa*, que habitaba en zonas bajas amazónicas posiblemente al este de Ecuador. Esta especie del género *Heliodoxa* daría origen a la especie *Heliodoxa schreibersii* (la única incluida en su hipótesis filogenética) y al posible ancestro del grupo monofilético en estudio. La cordillera occidental de los Andes de Ecuador, Colombia y Venezuela, y la región norte de Suramérica, serían colonizadas

posteriormente como resultado de los corredores ecológicos generados por los cambios climáticos asociados al Pleistoceno, seguido de la separación de las subpoblaciones de este ancestro común. Esta fragmentación generó la diferenciación de las poblaciones que resultó en el género *Sternoclyta* en Venezuela y del ancestro de los géneros *Hylonympha* y *Eugenes*. Posteriormente, este ancestro invadiría la Península de Paria en el extremo este de Venezuela durante los períodos pluviales de los cambios climáticos propuestos. Según estos autores, las poblaciones presentes en Paria se refugiaron en los bosques de las montañas, perdiendo contacto con las poblaciones remanentes en la región norte de Suramérica, quedando aisladas y diferenciándose de los otros miembros de este grupo monofilético (Renner y Schuchmann, 2004). El planteamiento de un estudio filogenético basado en datos moleculares para ambas especies (géneros monotípicos) permitirá generar una hipótesis taxonómica y biogeográfica de estos taxa. Asimismo, nos permitirá comparar nuestros resultados con las hipótesis previas fundamentadas en datos morfológicos. Adicionalmente, este estudio contribuirá potencialmente a generar una hipótesis filogenética más robusta de la familia Trochilidae y, en especial, del grupo de los brillantes (si ambos géneros resultan incluidos dentro de este linaje), ya que este grupo es uno de los pocos de la familia que presenta una hipótesis filogenética no completamente resuelta (varios nodos con bajo soporte; McGuire y col., 2007; McGuire y col., 2014).

## **Objetivos**

### **Objetivo general:**

- Establecer las relaciones filogenéticas de los géneros monotípicos *Hylonympha* y *Sternoclyta* con base en caracteres moleculares.

### **Objetivos específicos:**

1. Comparar hipótesis taxonómicas previas con la hipótesis filogenética obtenida en este estudio para los géneros *Hylonympha* y *Sternoclyta*.
2. Describir un posible escenario evolutivo para los géneros *Sternoclyta* e *Hylonympha*.
3. Evaluar recomendaciones o cambios taxonómicos con base en la hipótesis filogenética resultante de este estudio.

### **Métodos**

#### ***Material utilizado***

Utilizamos un total de 12 muestras de tejidos, ocho del género *Sternoclyta* y 4 del género *Hylonympha*. Estas muestras fueron obtenidas a través de préstamos de las colecciones de tejido del Laboratorio de Biología y Conservación de Aves del Instituto de

Zoología y Ecología Tropical (LBCA), la Colección Ornitológica Phepls (COP) y el Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt de Colombia (IAvH). Las muestras de tejido muscular estaban preservadas en etanol al 100% o almacenadas en refrigeradores a bajas temperaturas (-80 °C). Las muestras seleccionadas son representativas de la distribución geográfica de ambos géneros (Tabla 1). El trabajo de campo y de laboratorio estuvo amparado bajo las licencias de caza y permisos de acceso a los recursos genéticos correspondientes.

***Trabajo de laboratorio: extracción, amplificación y secuenciación***

La mayoría de las muestras fueron procesadas en el laboratorio del Dr. Christopher Witt, del Departamento de Ornitología de la Universidad de New Mexico en E.E.U.U, durante una pasantía realizada en dicha universidad en agosto del año 2016. Las muestras de *Sternoclyta* provenientes del estado Táchira en Venezuela y del Parque Nacional Tamá en Colombia fueron procesadas por el Dr. Andrés Cuervo en la Universidad de Tulane en E.E.U.U.

**Tabla 1.** Muestras de tejidos seleccionadas para este estudio. Se indica el número de campo/catálogo asociado con cada muestra, así como la localidad y la colección de la que proviene la muestra (significado de los acrónimos en el texto).

Espece	ID	Localidad	Colección
<i>Sternoclyta cyanopectus</i>	JM69	P.N. Henri Pittier; Estación Biológica Rancho Grande; Vía La Toma; Aragua; Venezuela.	LBCA
<i>Sternoclyta cyanopectus</i>	ML1552	Bejuma; Carabobo; Venezuela.	COP
<i>Sternoclyta cyanopectus</i>	JM379	P.N. Tigua; Carretera Nirgua-La Florida; Yaracuy-Cojedes; Venezuela.	LBCA
<i>Sternoclyta</i>	JP403	P.N. Yurubí; San Felipe; Vía Las Cumaraguas-Cocorote;	LBCA

<i>cyanopterus</i>		Yaracuy; Venezuela.	
<i>Sternoclyta cyanopterus</i>	IC984	P.N. Sierra de San Luis; Cerro Galicia; Falcón; Venezuela.	COP
<i>Sternoclyta cyanopterus</i>	JM1067	P.N. Chorro El Indio; Finca Los Ruices; Táchira; Venezuela.	LBCA
<i>Sternoclyta cyanopterus</i>	KCC267	P.N. El Tamá; 700 m N Río Chiquito; Hacienda Versalles; Táchira; Venezuela.	LBCA
<i>Sternoclyta cyanopterus</i>	IavHBT97	P.N. Tamá; Colombia.	IAvH
<i>Hylonympha macrocerca</i>	HM1	P.N. Península de Paria; Las Melenas; Sucre; Venezuela.	COP
<i>Hylonympha macrocerca</i>	HM2	P.N. Península de Paria; Las Melenas; Sucre; Venezuela.	COP
<i>Hylonympha macrocerca</i>	HM3	P.N. Península de Paria; Las Melenas; Sucre; Venezuela.	COP
<i>Hylonympha macrocerca</i>	HM4	P.N. Península de Paria; Las Melenas; Sucre; Venezuela.	COP

Para la extracción del ADN de las muestras de tejidos muscular se utilizó el kit de extracción DNeasy de Qiagen siguiendo el protocolo estándar que se describe en el manual de Qiagen. Seleccionamos los seis genes secuenciados en el estudio de McGuire y col. (2014) con el fin de complementar la base de datos genéticos de este estudio filogenético, el más completo para la familia Trochilidae. Amplificamos vía PCR dos genes mitocondriales: subunidades 2 y 4 de la proteína nicotinamida deshidrogenasa (NADH; ND2 y ND4) y cuatro genes nucleares:  $\beta$ -fibrinógeno (Bfib; intrón 7, exones 7 y 8), adenilato quinasa (AK1; intrón 5, exones 5 y 6), ornitina decarboxilasa (ODC; intrones 6 y 7, exones 6, 7 y 8) y el receptor asociado al músculo quinasa tirosina (MUSK; intrón 5, exones 5 y 6).

La amplificación de cada uno de los genes se realizó en termocicladoras modelo Eppendorf AG 22331 Hamburg con las siguientes condiciones: un primer ciclo a 95 °C por ocho minutos, seguido por tres etapas: la primera a 95 °C por 30 segundos (desnaturalización); la segunda a temperaturas que variaron entre 52 °C y 56 °C, según el

gen amplificado (Tabla 2), por 30 segundos (alineamiento), y la última etapa de 72 °C por un minuto (extensión). Estas etapas se repitieron por 35 ciclos y finalmente se terminó la reacción de PCR con un ciclo de 72 °C por 10 minutos. Los cebadores empleados para la amplificación de los genes están descritos en la Tabla 2. El volumen total de las reacciones de PCR fue de 15 µL: 1.50 µL de Buffer, 1.50 µL de MgCl<sub>2</sub>, 0.30 µL de dNTPs, 0.75 µL de cada cebador, 9.05 µL de agua ultra pura, 0.15 µL de Taq polimerasa (AmpliTaq Gold de Applied Biosystems) y 1 µL de ADN. Los productos amplificados se visualizaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 1% de concentración y fueron purificados en columnas de gel de Sephadex y con exonucleasas (exoSAPit). Las reacciones para la secuenciación de los genes amplificados fueron realizadas usando Big Dye Terminator siguiendo los protocolos de Applied Biosystems.

**Tabla 2.** Cebadores empleados en este estudio para la amplificación de los genes NADH subunidad 2 y subunidad 4 (ND2 y ND4), Bfib, AK1, MUSK, ODC y la temperatura de alineamiento utilizada para amplificar cada gen.

Gen	Cebador	Secuencia del cebador	Fuente (Autores)	Temperatura de alineamiento (°C)
ND2	L5219	5'-CCCATACCCCGAAAATGATG-3'	Sorenson y col. (1999)	52
ND2	H6313	5'-CTCTTATTTAAGGCTTTGAAGGC-3'		
ND4	ND4	5'-CACCTATGACTACCAAAAGCTCATGTAGAAGC-3'	Arévalo y col. (1994)	54
ND4	LEU	5'-CATTACTTTTACTTGGATTGACCA-3'		
AK1	AK5b+	5'-ATTGACGGCTACCCTCGCGAGGTG-3'	Shapiro y Dumbacher	56

<b>AK1</b>	AK6c-	5'-CACCCGCCCGCTGGTCTCTCC-3'	(2001)	
<b>BFib</b>	FIB-B17U	5'-GGAGAAAACAGGACAATGACAATTCAC-3'	Prychitko y Moore (1997)	<b>55</b>
<b>BFib</b>	FIB-B17L	5'-TCCCCAGTAGTATCTGCCATTAGGGTT-3'		
<b>MUSK</b>	MUSK F3	5'-GCTGTACTTCCATGCACTACAATG-3'	Kimbal y col. (2009)	<b>56</b>
<b>MUSK</b>	MUSK R3	5'-ATCCTCAAATTTCCCGAATCAAG-3'		
<b>ODC</b>	ODC 2-F	5'-GCGTGCAAAAGAAGCTTGACC-3'	Parra y col. (2009)	<b>55</b>
<b>ODC</b>	ODC 2-R	5'-AGCCACCACCAATAT CAAGC-3'		

### *Alineamiento y matrices de datos*

Las secuencias de ADN fueron editadas con el software SeqMan II (DNASTAR). Como nuestro objetivo era establecer las relaciones filogenéticas de ambos géneros evaluando su ubicación dentro de los diferentes linajes que conforman la familia Trochilidae (Bleiweiss y col., 1997; McGuire y col., 2014) y, en particular, evaluar las hipótesis de relación filogenética con las gemas de montaña (específicamente con el género *Eugenes*) y los brillantes *sensu stricto*, se utilizaron las secuencias disponibles en GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) de los 6 genes de distintas especies que representan a todos los linajes que conforman a la familia Trochilidae, incluyendo al género *Eugenes* y los 12 taxa incluidos en el grupo de los brillantes *sensu stricto* según la hipótesis filogenética más completa disponible (McGuire y col., 2014; Anexo 1). Como grupo externo utilizamos a otros representantes del orden Caprimulgiformes: dos miembros de la familia Apodidae, *Chaetura pelagica* y *Streptoprocne zonaris*, y un miembro de la familia Caprimulgidae, *Caprimulgus longirostris* (McGuire y col., 2014). El alineamiento de las secuencias fue realizado con el programa libre Muscle versión 3.6 (Edgar, 2004) y revisado manualmente. Muscle permite de una manera rápida y precisa alinear un gran número de

secuencias usando un algoritmo que incluye estimaciones de distancia rápidas, alineamientos progresivos y depuración o refinamiento del alineamiento, usando particiones restringidas que dependen de los árboles generados (Edgar, 2004). Las deleciones, así como los segmentos de ARN de transferencia (ARNt), fueron excluidos del alineamiento final y los sitios polimórficos en intrones nucleares fueron codificados con el código de ambigüedad IUPAC.

Para evaluar el efecto de los diferentes marcadores (*loci*) utilizados en este estudio, construimos cuatro tipos de matrices para los análisis filogenéticos. A la matriz inicial producto del alineamiento total (matriz A) la redujimos eliminando los exones asociados a cada uno de los genes nucleares (matriz B). Los exones, los cuales son segmentos que codifican para proteínas, fueron de longitud corta y variable, además de que presentan poca variación interespecífica (Igea y col., 2010) y su inclusión pudiera causar un efecto de sobreparametrización de los modelos a ser utilizados en los análisis filogenéticos. Estos exones no fueron incluidos en análisis filogenéticos previos de la familia (McGuire y col., 2007; McGuire y col., 2014). Adicionalmente, como los genes nucleares y mitocondriales pueden diferir en su señal filogenética, dada la cantidad de información presente en los mismos, así como la evolución rápida y potencial saturación de los genes mitocondriales (Braun y Kimball, 2002; Edwards, 2004), utilizamos matrices de datos mitocondriales (matriz C) y nucleares (matriz D), producto de dividir la matriz B en estos dos tipos de marcadores.

### ***Caracterización de las secuencias***

Las muestras de *Sternoclyta* e *Hylonympha* fueron secuenciadas en su totalidad para el gen ND2, con el objetivo de evaluar la variabilidad intraespecífica para cada especie (=género), particularmente para *Sternoclyta* cuya distribución incluye poblaciones en la Cordillera de la Costa y los Andes. La divergencia intraespecífica la estimamos mediante el cálculo de la distancia  $p$  (con 1000 pseudoréplicas de bootstrap para estimar el error estándar) utilizando el programa libre MEGA 7 (Tamura y col., 2011). Dado los valores bajos de divergencia entre las muestras de cada género, seleccionamos un menor número de individuos de cada especie para amplificar los otros cinco genes, escogiendo el individuo con las secuencias más completas para el análisis multilocus. Igualmente, estimamos la divergencia genética dentro del clado de los brillantes *sensu stricto* calculando una matriz de distancias  $p$  (distancias no corregidas) utilizando el mismo programa. Determinamos la divergencia genética para cada uno de los genes por separado.

#### ***Esquema de partición de los datos y selección de modelos de sustitución molecular***

Dada la gran heterogeneidad existente en tasas y patrones de sustitución entre sitios y marcadores moleculares, decidimos seleccionar esquemas de partición que incorporen dicha variabilidad. Análisis filogenéticos que no toman en cuenta esta variabilidad pueden resultar en topologías, largos de rama y valores de soporte (bootstrap) incorrectos (Kainer y Lanfear, 2015). El esquema de partición de los genes y los modelos de sustitución molecular específicos que mejor describan el escenario evolutivo de cada partición se seleccionaron utilizando el programa libre PartitionFinder (versión 1.1.0; Lanfear y col., 2012). PartitionFinder nos permite evaluar y comparar distintos niveles de particiones de los genes, además de encontrar un modelo evolutivo que mejor se adecúe a cada partición

(evitando la inclusión de parámetros innecesarios), utilizando como medida comparativa distintos criterios de información y empleando distintos algoritmos de búsqueda (Lanfear y col., 2012).

Para la selección de los modelos de sustitución molecular con PartitionFinder utilizamos el criterio de información de Akaike corregido (AICc) y el algoritmo de búsqueda “greedy”. El criterio de información de Akaike corregido permite disminuir el sesgo entre la comparación de los modelos, además de ser significativamente superior al AIC en términos de aproximación en la selección de modelos más adecuados (Hurvich y Tsai, 1989; Hurvich y Tsai, 1991). Por otro lado, el algoritmo de búsqueda “greedy” permite optimizar los resultados de los criterios de información mientras que evalúa los esquemas de las particiones de forma más eficiente, particularmente en matrices de datos de grandes magnitudes (más de 30000 pares de bases y más de 180 especies) (Lanfear y col., 2012).

Los esquemas de partición analizados se ajustaron a los programas de inferencia filogenética utilizados. Como el programa utilizado para los análisis de máxima verosimilitud (RAxML; versión 8; Stamatakis, 2014) solo emplea modelos de la familia GTR (*General Time Reversible*) restringimos la búsqueda solo a los modelos asociados a esta familia. Para los análisis de inferencia bayesiana restringimos la búsqueda a los modelos de evolución molecular que solo están disponibles en el programa MrBayes (versión 3.2.6; Ronquist y Huelsenbeck, 2003).

Los esquemas de partición “óptimos” fueron seleccionados por PartitionFinder de acuerdo a una serie de esquemas definidos *a priori* por nosotros. La matriz A la dividimos en un número máximo de particiones (partición 1; n=20; genes mitocondriales divididos en tres particiones cada uno de acuerdo a las posiciones en el codón (primera, segunda y tercera

posición); genes nucleares divididos por cada exón e intrón secuenciado; Tabla 3), mientras que para la matriz B usamos la misma estrategia con la diferencia que esta matriz no incluyó los exones, por lo que solo se consideraron un máximo de 11 particiones (partición 2, Tabla 3). Finalmente, para comparar los resultados obtenidos en nuestro estudio con los resultados de McGuire y col. (2014), realizamos el análisis con las mismas particiones (partición 3) y modelos evolutivos utilizados por estos autores, aplicándolos a la matriz B, pero considerando los intrones de ODC como una sola partición. Estas mismas condiciones se emplearon en los análisis filogenéticos de genes mitocondriales y nucleares por separado (particiones 4 y 5, respectivamente; Tabla 3).

### ***Análisis de máxima verosimilitud***

Para los análisis de máxima verosimilitud utilizamos el programa RAxML (versión 8; Stamatakis, 2014) disponible en el portal CIPRES (Miller y col., 2010; <http://www.phylo.org>). El programa RAxML permite generar hipótesis de máxima verosimilitud con un algoritmo de búsqueda rápido a la vez que permite generar valores de soporte estadístico (*bootstrap*) basados en un gran número de pseudoréplicas obtenidas en

**Tabla 3.** Esquemas de particiones utilizadas en este estudio. Las casillas en gris representan los segmentos de los genes evaluados en cada partición. En asterisco los intrones de ODC que se evaluaron en conjunto (ODC intrones). Pos1, Pos2 y Pos3 se refieren a las posiciones del codón para cada uno de los genes mitocondriales.

		Genes																			
		Mitocondriales						Nucleares													
		ND2			ND4			AK1 E5	AK1 I5	AK1 E6	BFib E7	BFib I7	BFib E8	ODC E6	ODC I6	ODC E7	ODC I7	ODC E7	Musk E4	Musk I5	Musk E5
		Pos1	Pos2	Pos3	Pos1	Pos2	Pos3														
1																					
2																					

3												*		*				
4												*		*				
5																		

poco tiempo (Stamatakis, 2008; Stamatakis, 2014). Considerando que la búsqueda exhaustiva de la mejor topología tiene un mayor impacto en la calidad del árbol final que los detalles asociados a los parámetros de los modelos, RAxML solo emplea modelos pertenecientes a la familia GTR, considerando que estos son los modelos más generales y comunes en los análisis reales de matrices de ADN y que los demás modelos son variaciones o casos especiales de este caso. Los análisis de máxima verosimilitud se realizaron con cada uno de los diferentes esquemas de partición. El soporte de los nodos del árbol resultante se obtuvo mediante un análisis de remuestreo (bootstrap) con 1000 pseudoréplicas (Felsenstein, 1985).

***Análisis de inferencia bayesiana***

Para los análisis de inferencia bayesiana utilizamos el programa libre MrBayes (versión 3.2.6; Ronquist y Huelsenbeck, 2003). MrBayes es uno de los programas con mayor flexibilidad y accesibilidad para los análisis de inferencias filogenéticas que impliquen el uso de métodos bayesianos. Este programa implementa un número de técnicas para incrementar la velocidad de los cálculos, mejorar la convergencia de los datos

(Ronquist y col., 2011) y permite evaluar esquemas de particiones bajo distintos modelos de evolución molecular. MrBayes emplea el método de Monte Carlo vía Cadenas de Markov (MCMC, por sus siglas en inglés) para obtener las probabilidades posteriores de los árboles (Ronquist y Huelsenbeck, 2001). Para disminuir las probabilidades de que los análisis queden atrapados en óptimos locales implementamos el algoritmo Metrópolis (Ronquist y Huelsenbeck, 2001). Para cada análisis realizamos dos corridas independientes, iniciando con árboles aleatorios, cada una con cuatro cadenas que corrieron por 10 millones de generaciones muestreando cada 1000 generaciones, obteniendo un total de 10.000 árboles finales por corrida. La convergencia de las cadenas la evaluamos visualizando los valores de verosimilitud y los valores de los parámetros de los modelos por generación utilizando el programa Tracer (versión 1.6; Rambaut y col., 2014). Este programa nos permite visualizar y analizar cada corrida de manera independiente, además de determinar el tamaño efectivo de la muestra (ESS, por sus siglas en inglés). Este estimador es una medida de autocorrelación entre muestreos: si obtenemos valores muy bajos de ESS implicaría que podríamos no estar obteniendo la mejor representación de las probabilidades posteriores de los árboles y debemos correr por más tiempo los análisis (incrementar el número de generaciones) o muestrear en períodos más cortos. Al igual que en los análisis de máxima verosimilitud, se realizaron análisis para cada uno de los esquemas de partición seleccionados (Tabla 3).

### ***Comparación de hipótesis filogenéticas***

La verosimilitud de la hipótesis filogenética obtenida en este estudio fue comparada con aquella de una hipótesis en la que los géneros *Sternoclyta* e *Hylonympha* forman parte de las gemas de montaña (McGuire y col., 2009; Winkler y col., 2015). Esta hipótesis está

basada en los trabajos de Renner y Schuchmann (2004) en donde proponen que los géneros *Eugenes*, *Sternoclyta* e *Hylonympha* forman un grupo monofilético. Por lo tanto, impusimos la restricción de monofilia para estos tres géneros (además de *Lampornis* y *Heliomaster*, los otros géneros incluidos en el linaje de las gemas de montaña en nuestro estudio) y comparamos ambas verosimilitudes realizando la prueba de Shimodaira-Hasegawa (SH; Shimodaira y Hasegawa, 1999) y la prueba AU (*Approximately Unbiased*, por su nombre en inglés; Shimodaira, 2002) en la versión libre PAUP 4.0a152 (Swofford, 2016). Ambas pruebas nos permiten calcular la probabilidad asociada con la diferencia de verosimilitud resultante de comparar una hipótesis filogenética basada en un árbol con restricciones y un árbol obtenido con una hipótesis sin ninguna restricción (Shimodaira y Hasegawa, 1999); sin embargo, la prueba AU reduce algunos de los sesgos asociados con la prueba SH (por el número de árboles generados por el remuestreo que resulta en una prueba bastante conservadora; Shimodaira, 2002). Las pruebas se realizaron sin ninguna partición, usando la opción RELL (remuestreo sin reestimación de los valores de cada parámetro del modelo de evolución molecular) y el modelo evolutivo GTR+G+I.

### ***Marco temporal de diversificación***

Para obtener el marco temporal del origen de los géneros incluidos en este estudio, obtuvimos un cronograma mediante el uso del programa libre BEAST (versión 1.8.4; Drummond y Rambaut, 2012). Este programa nos permite reconstruir escenarios evolutivos, basados en análisis de inferencia bayesiana, con el uso de modelos de reloj molecular estricto o relajado (Drummond y col., 2007), obteniendo filogenias calibradas

que incorporan una escala temporal (Drummond y Rambaut, 2007). BEAST, como MrBayes, utiliza el método de Monte Carlo vía Cadenas de Markov (MCMC, por sus siglas en inglés) para calcular las probabilidades posteriores de los árboles. Este programa incluye una serie de programas asociados (BEAUti, LogCombiner, TreeAnnotator) que permiten, con una interface muy sencilla, configurar los análisis y analizar los resultados (Drummond y col., 2007). Para este análisis empleamos la matriz B y la partición 3 debido a que tanto la matriz como las particiones son similares a las empleadas por McGuire y col. (2014). Configuramos los análisis y elaboramos el formato XML (formato necesario para correr los análisis en BEAST) en el programa BEAUti (versión 1.8.4; Drummond y Rambaut, 2012).

Para estimar los tiempos de divergencia utilizamos un modelo de reloj molecular relajado lognormal (UCLN, por sus siglas en inglés). Para la calibración del tiempo de divergencia utilizamos tasas de sustitución (media y desviación estándar) con una distribución normal ("*substitution rate priors*"), obtenidas de información asociada al grupo de los mieleros de Hawaii (Drepanididae) para las posiciones 1, 2 y 3 de los genes ND2 y ND4, y los intrones de los genes AK1, Bfib y ODC (Lerner y col., 2011; McGuire y col., 2014). Para el gen Musk no hay referencia disponible de la tasa de sustitución y debido a esto empleamos la opción de utilizar una tasa de sustitución de referencia ("*CTMC rate reference*") disponible en BEAST cuando se desconocen los valores de las tasas de sustitución de un gen (Ferreira y Suchard, 2008). Este análisis lo corrimos una vez por 200 millones de generaciones, tomando muestras cada 20000 generaciones, obteniendo un total de 10.000 árboles finales. Para evaluar la convergencia y estabilidad del análisis utilizamos el programa Tracer (versión 1.6; Rambaut y col., 2014). Descartamos los primeros 1000 árboles (10% de los datos; *burnin*) y resumimos nuestros resultados en

un árbol de máxima credibilidad utilizando el programa TreeAnnotator (versión 1.8.4; Drummond y Rambaut, 2012). Este árbol representa el árbol con mayor producto de probabilidades posteriores cuando se evalúa la presencia de cada clado en un muestreo de los árboles posteriores obtenidos (Rambaut y col., 2014).

## Resultados

En este estudio obtuvimos 39 secuencias completas de las 12 muestras de tejidos disponibles (Tabla 4). De estas secuencias, 12 correspondieron a la subunidad 2 de la proteína nicotinamida deshidrogenasa (ND2), lo que nos permitió evaluar el grado de divergencia genética intraespecífica para cada una de las especies en estudio (*Sternoclyta cyanopectus* e *Hylonympha macrocerca*). Para *S. cyanopectus* la distancia genética promedio (en porcentaje) fue bastante pequeña (0,17 +/- 0,10), siendo la divergencia entre individuos de las localidades más alejadas entre sí (Parque Nacional Henri Pittier, en el estado Aragua vs. Parque Nacional Tamá, en el estado Táchira) de apenas un 0.3% (3 cambios en 1041 pares de base; Tabla 5). Para *H. macrocerca*, las secuencias de ND2 fueron idénticas entre sí, representando un único haplotipo. En vista de este resultado, secuenciamos los otros cinco genes para un menor número de individuos y escogimos un individuo de cada especie, con las mejores secuencias, para el análisis multilocus (Anexo 1).

**Tabla 4.** Secuencias obtenidas para cada gen con las muestras empleadas en este estudio.

Especie	ID	ND2	ND4	AK1	BFib	ODC	Musk
<i>Sternoclyta cyanopectus</i>	JM 69						
<i>Sternoclyta cyanopectus</i>	JM 379						
<i>Sternoclyta cyanopectus</i>	JP 403						

<i>Sternoclyta cyanopectus</i>	IC 984								
<i>Sternoclyta cyanopectus</i>	JM 1067								
<i>Sternoclyta cyanopectus</i>	KCC 267								
<i>Sternoclyta cyanopectus</i>	ML 1552								
<i>Sternoclyta cyanopectus</i>	IavHBT97								
<i>Hylonympha macrocerca</i>	HM1								
<i>Hylonympha macrocerca</i>	HM2								
<i>Hylonympha macrocerca</i>	HM3								
<i>Hylonympha macrocerca</i>	HM4								

**Tabla 5.** Divergencia genética (distancia-*p*) expresada en porcentaje entre las secuencias del gen ND2 de *Sternoclyta cyanopectus*.

	No. de Campo y Localidad	1	2	3	4	5	6	7	8
1	JM69 P.N. Henri Pittier, Aragua								
2	JM379 Tirgua, Yaracuy-Cojedes	0,00							
3	JP403 P.N. Yurubí, Yaracuy	0,19	0,19						
4	IC984 P.N. Sierra de San Luís, Falcón	0,29	0,29	0,29					
5	JM1067 P.N Chorro El Indio, Táchira	0,29	0,29	0,29	0,00				
6	KCC267 P.N Tamá Táchira	0,29	0,29	0,29	0,00	0,00			
7	ML1552 Bejuma, Carabobo	0,29	0,29	0,29	0,00	0,00	0,00		
8	IAvHBT97 P.N Tamá, Colombia	0,29	0,29	0,29	0,00	0,00	0,00	0,00	

La matriz de datos producto de las secuencias obtenidas en este estudio y las provenientes de GenBank nos permitieron tener un alineamiento final de 4425 pares de base (matriz A). El tamaño correspondiente a cada gen fue el siguiente: ND2 (1041 pares de base (pb)), ND4 (695 pb), Bfib (1056 pb correspondientes a 97 del exón 7, 896 del intrón 7 y 63 del exón 8), AK1 (445 pb correspondientes a 45 del exón 5, 318 del intrón 5 y 82 del exón 6), ODC (614 pb correspondientes a 39 del exón 6, 133 del intrón 6, 82 del exón 7, 323 del intrón 7 y 37 del exón 8) y MUSK (574 pb correspondientes a 51 del exón 5, 502 del intrón 5 y 21 del exón 6). El alineamiento final sin tomar en cuenta los exones (matriz B) tuvo un tamaño de 3908 pares de base.

PartitionFinder seleccionó un máximo de 10 particiones a ser utilizado en los análisis de máxima verosimilitud para el esquema de máximas particiones (partición 1) y 8 particiones para la matriz sin exones (partición 2). Un resultado similar se obtuvo para los análisis de inferencia bayesiana pero con 11 particiones resultantes de la matriz completa (partición 1; Tabla 6). Todos los modelos de sustitución molecular seleccionados para los análisis de máxima verosimilitud fueron modelos con seis tasas de sustitución molecular y heterogeneidad de tasas entre sitios (GTR + G), diferenciando las posiciones en el codón para cada uno de los genes mitocondriales, y mostrando que los exones nucleares fueron más variables entre sí que los intrones (Tabla 6). Resultados similares se obtuvieron para los análisis de inferencia bayesiana pero dada la mayor disponibilidad de modelos en el programa MrBayes, se obtuvo una mayor diversidad de los mismos para estos análisis (Tabla 6).

### *Inferencia filogenética*

Análisis filogenéticos con las matrices completas, así como con genes mitocondriales y nucleares por separado, resultaron en topologías (de árbol) muy similares (Figura 7, Anexo 2). Los géneros monotípicos *Sternoclyta* e *Hylonympha* conformaron un grupo monofilético tanto con los miembros del clado de los brillantes *sensu stricto*

**Tabla 6.** Esquema de particiones evaluadas en PartitionFinder (1 y 2) y resultados obtenidos (PF1 y PF2). Casillas resaltadas en gris indican los segmentos de los genes evaluados para cada partición (ver Métodos). Colores iguales indican los segmentos incluidos en una misma partición. En cada casilla de color se indican los modelos de evolución molecular seleccionados (tres modelos: GTR+G, GTR+G+I, K80+G). MV: máxima verosimilitud; IB: inferencia bayesiana.

Genes															
Mitocondriales				Nucleares											
ND2	ND4	AK1	AK1	AK1	BFib	BFib	BFib	ODC	ODC	ODC	ODC	ODC	Musk	Musk	Musk

	Pos1	Pos2	Pos3	Pos1	Pos2	Pos3	E5	I5	E6	E7	I7	E8	E6	I6	E7	I7	E8	E5	I5	E6	
1																					
PF1 MV	GTR +G	GTR +G	GTR +G	GTR +G	GTR +G	GTR +G	GTR +G	GTR +G	GTR +G	GTR +G	GTR +G	GTR +G	GTR +G	GTR +G	GTR +G	GTR +G	GTR +G	GTR +G	GTR +G	GTR +G	
2																					
PF2 MV	GTR +G	GTR +G	GTR +G	GTR +G	GTR +G	GTR +G		GTR +G			GTR +G			GTR +G		GTR +G				GTR +G	
1																					
PF1 IB	GTR +G +I	GTR +G +I	GTR +G	GTR +G +I	GTR +G +I	GTR +G +I	GTR +G +I	K80 +G	GTR +G +I	GTR +G	GTR +G	GTR +G +I	GTR +G	K80 +G	GTR +G	GTR +G	GTR +G	K80 +G	GTR +G	GTR +G	
2																					
PF2 IB	GTR +G +I	GTR +G +I	GTR +G	GTR +G +I	GTR +G +I	GTR +G +I		K80 +G			GTR +G			GTR +G		GTR +G				GTR +G	

como con los miembros del linaje de los brillantes (Figura 7), con alto soporte de bootstrap (85%) en los análisis de máxima verosimilitud (independiente del esquema de partición utilizado) pero con probabilidades posteriores no significativas (0.87-0.90). Las matrices de genes mitocondriales y nucleares por separado mostraron valores de bootstrap y probabilidad posterior más bajos para la monofilia de los brillantes “*sensu stricto*” (Anexo 2). Todos los análisis mostraron al género *Urochroa* como el taxón hermano de los brillantes “*sensu stricto*” con altos valores de bootstrap y probabilidad posterior (Figura 7). La hipótesis de verosimilitud obtenida en este estudio fue significativamente diferente a la hipótesis que considera a los géneros *Sternoclyta* e *Hylonympha* como gemas de montaña (relacionados con el género *Eugenes*), de acuerdo a los resultados de las pruebas SH y AU (diferencia en verosimilitud ( $\text{dif ln L} = 350.2$ ,  $p < 0.001$ ).

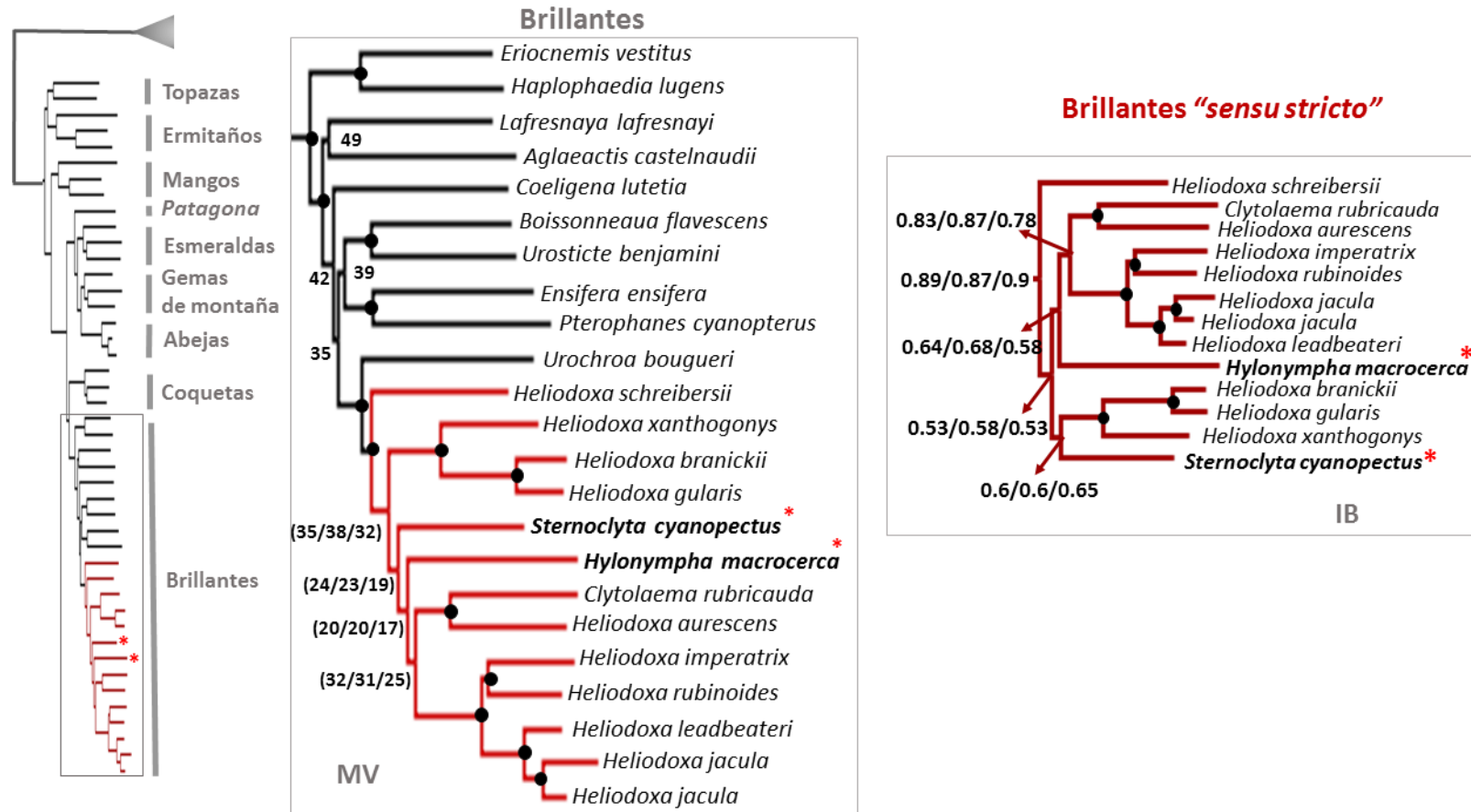
Los dos métodos de análisis filogenéticos no nos permitieron reconstruir las relaciones filogenéticas entre las especies que conforman el clado de los brillantes “*sensu stricto*” y las especies *Sternoclyta cyanopectus* e *Hylonympha macrocerca*. Dado los valores

bajos de soporte de rama (valores de bootstrap y probabilidad posterior; Figura 7, Anexo 2) las relaciones filogenéticas entre los miembros de este clado están básicamente representadas por una politomía. Los nodos con alto soporte (congruentes en ambos métodos de inferencia filogenética) muestran tres clados de manera consistente: uno que incluye como especies hermanas a *Heliodoxa gularis* y *H. branicki* y estas dos especies hermanas a *H. xanthogonys*; otro que identifica como especies hermanas a *H. aurescens* y *Clytolaema rubricauda* y, otro que incluye a las especies hermanas *H. jacula* y *H. leadbeateri* y estas dos especies como hermanas del grupo conformado por *H. imperatrix* y *H. rubinoides*. Aparte de estos grupos, las especies *H. schreibersii*, *S. cyanopectus* e *H. macrocerca* no muestran un patrón claro de relación filogenética con otras especies de este clado. Sin embargo, las hipótesis filogenéticas muestran una tendencia de ubicar a *H. macrocerca* como taxón hermano al grupo conformado por cinco especies de *Heliodoxa* (*jacula*, *leadbeateri*, *imperatrix*, *rubinoides* y *aurescens*) y *Clytolaema*, así como la especie *Sternoclyta cyanopectus* mostró un patrón similar con el grupo conformado por las especies *H. xanthogonys*, *H. gularis* y *H. branicki*. Sin embargo, es importante indicar que ninguna de estas posibles relaciones filogenéticas tiene soporte estadístico en los distintos árboles resultantes (Figura 7, Anexo 2).

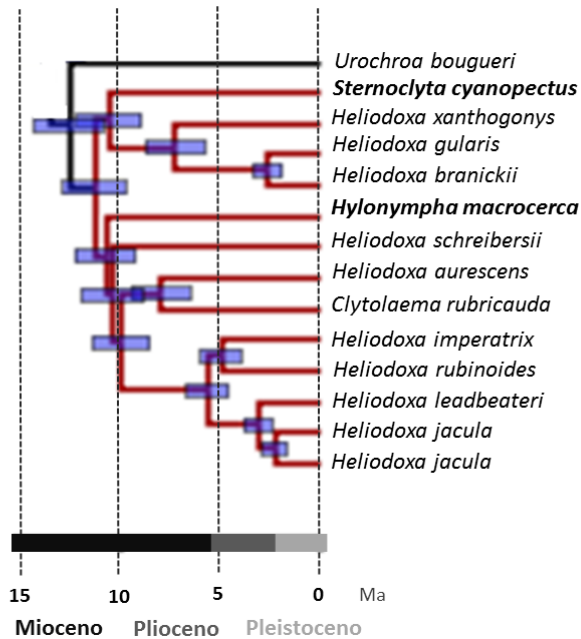
Los valores de divergencia genética entre las especies que conforman el clado de los brillantes *sensu stricto* variaron de acuerdo a los diferentes genes empleados en este estudio, siendo mayores para los genes mitocondriales (Anexo 3). Los promedios de divergencia (en porcentaje) y el intervalo de valores obtenidos para cada gen fueron los siguientes: ND2 (13, 5.6-15.3), ND4 (11, 5.1-13.9), AK1 (2, 0.0-3.8), Bfib (2, 0.2-3.2), ODC (1, 0.0-2.5) y MUSK (2, 0.4-3.5).

### ***Estimación del tiempo de divergencia***

El análisis de tiempo de divergencia produjo un cronograma que muestra la separación del clado de los brillantes del de las coquetas hace unos 15 millones de años (intervalo de confianza del 95%, 95% HPD: 13.5-17.6) y una separación del clado de los brillantes *sensu stricto* del género *Urochroa* hace 12.6 Ma (95% HPD: 10.0-14.4). La edad del clado de los brillantes *sensu stricto* fue estimada en 11.3 Ma (%95 HPD: 9.7-12.9), valores muy similares al origen de los géneros *Sternoclyta* (10.6 Ma, %95 HPD: 8.9-12.2) e *Hylonympha* (10.9 Ma, %95 HPD: 9.3-12.3). El resto de la diversificación en este clado ocurrió entre los 5 y 9 Ma (Figura 8; Anexo 4) siendo la diferenciación más reciente la encontrada para las especies *H. jacula* y *H. leadbeateri* (3.1 Ma, %95 HPD: 2.4-3.8) y las especies *H. gularis* y *H. branicki* (2.6 Ma, %95 HPD: 1.9-3.3). Es importante destacar que el árbol resultante de estos análisis mostró altos valores de probabilidad posterior en varios nodos, en particular el nodo que conforma al clado de los brillantes *sensu stricto* (0.99), apoyando la posible monofilia de este grupo.



**Figura 7.** Hipótesis filogenética obtenida en los análisis de máxima verosimilitud (MV) e inferencia bayesiana (IB). En rojo se señala al linaje de los brillantes "sensu stricto" y con asteriscos la posición de los géneros *Sternoclyta* e *Hylonympha*. Los valores asociados a los nodos corresponden a los valores de bootstrap (MV) y probabilidad posterior (IB) para los tres esquemas de partición utilizados en este estudio. Los nodos representados con un círculo negro indican valores de bootstrap superior a 75% (MV) o probabilidad posterior igual a 1 (IB).



**Figura 8.** Cronograma generado por BEAST para el grupo de los brillantes *sensu stricto* (en rojo). Las barras en los nodos representan los intervalos de confianza del 95% del tiempo de divergencia. La escala inferior muestra el tiempo (y períodos geológicos) en millones de años (Ma).

## Discusión

El uso de análisis con genes mitocondriales y nucleares concatenados y distintos métodos de inferencia filogenética nos permitieron determinar que los géneros *Sternoclyta* e *Hylonympha* pertenecen al linaje de los brillantes y que forman un grupo monofilético con los brillantes *sensu stricto*. El análisis concatenado (multilocus) mostró una resolución mayor al realizado con los genes mitocondriales y nucleares por separado, demostrando la utilidad de considerar de manera integral los caracteres moleculares disponibles. Este resultado permite definir, de manera completa, al clado de los brillantes, uno de los principales linajes de colibríes que habitan en los Andes. Sin embargo, no pudimos

reconstruir las relaciones filogenéticas entre las especies que conforman este clado, por lo cual aún desconocemos con cuáles especies se relacionan estos dos géneros monotípicos.

La adscripción de *Sternoclyta* e *Hylonympha* al clado de los brillantes “*sensu stricto*” es congruente con algunos tratamientos taxonómicos previos, así como opiniones de naturalistas y taxónomos del siglo XIX y principios del siglo XX. Simon (1921) los considera dentro del grupo *Heliodoxa* definido por patrones de coloración del plumaje. Igualmente, Peters (1945) los incluye en la secuencia lineal de manera adyacente a las especies hoy en día incluidas en el género *Heliodoxa*. Similitudes morfológicas de estos géneros con *Heliodoxa* ya habían sido resaltadas por Gould (1861), Hellmayr y Seilern (1912) y Peters (1945). Sin embargo, el género *Heliodoxa* incluye hoy día a seis géneros considerados monotípicos en clasificaciones previas (*Ionolaima*, *Agapeta*, *Lampraster*, *Polyplancta*, *Phaiolaema* y *Eugenia*) resaltando el énfasis de los taxónomos en observar diferencias en lugar de similitudes para definir los géneros. Zimmer (1951) propone la inclusión de todos estos géneros en *Heliodoxa* y resalta la presencia en estas especies del carácter de la extensión de plumas frontales cubriendo las narinas, un carácter mencionado previamente por Simon (1921). Zimmer expresa que a pesar de que la prolongación de las plumas frontales ocultando el opérculo nasal es una característica que está presente en otras especies de colibríes (p.e. *Ensifera*), es un carácter que identifica a los miembros del género *Heliodoxa*. A la luz de nuestros resultados, es importante destacar que tanto *Sternoclyta* como *Hylonympha* tienen cubierto el opérculo nasal por la prolongación de las plumas frontales (Elliot, 1879; Stiles en Remsen y col., 2017). A nivel de caracteres anatómicos, hay una serie de caracteres musculares y del esqueleto presentes en varias de estas especies pero que se comparten con otros géneros de colibríes (Zusi y Bentz, 1982; Zusi, 2013),

aunque Zusi (2013) resalta similitudes en el aparato branquial en los miembros del clado de los brillantes “*sensu stricto*”, así como la presencia de un patrón de variación de extensión y asimetría único entre los colibríes y que amerita ser investigado.

La importancia dada a los caracteres de morfología de los picos y patrones de coloración explica la inclusión de las dos especies estudiadas en géneros monotípicos. Sin embargo, estos caracteres pueden estar sujetos a una gran plasticidad fenotípica, así como a eventos de convergencia evolutiva y selección sexual, que pudieran ocasionar que sean considerados erróneamente como autapomorfias. Por otro lado, el uso de estos caracteres para establecer relaciones de parentesco es riesgoso dada la pobre señal filogenética que pueden tener. Gerwin y Zink (1989) contrastaron los patrones de coloración del género *Heliodoxa* con la hipótesis evolutiva obtenida con aloenzimas y demostraron la falta de correspondencia producto de la falta de señal filogenética. Parra y col. (2009) contrastó un hipótesis filogenética del género *Coeligena* (un brillante) basada en caracteres moleculares y demostró que la misma fue diferente a la propuesta por Sánchez-Osés (2003) con base en patrones de coloración del plumaje. Renner y Schuchmann (2004) generaron una hipótesis filogenética de los géneros *Sternoclyta* e *Hylonympha* con base en patrones de coloración y morfométricos y concluyeron que los mismos deberían ser como sinónimos de *Eugenes*. Este último género fue colocado consistentemente adyacente a alguna o ambas de estas especies en tratamientos taxonómicos pasados (Simon, 1921; Peters, 1945) y Zimmer (1951) parece haber cometido un error de tipeo cuando indica que *Eugenes* (en lugar de *Eugenia*) debería ser considerado un *Heliodoxa*. Sin embargo, Wetmore (1968) indicó que *Eugenes* carecía de la extensión de las plumas frontales cubriendo el opérculo nasal y era mejor mantener ambos géneros separados. Bleiweiss y col. (1997) lo ubican en el linaje de

las gemas de montañas y en este estudio demostramos que los géneros *Sternoclyta* e *Hylonympha* no son gemas de montaña y no están relacionados con el género *Eugenes*.

La hipótesis filogenética obtenida en este trabajo no permitió resolver las relaciones de parentesco de los géneros *Sternoclyta* e *Hylonympha* con las otras especies del clado que incluye al género *Heliodoxa*. Aunque nuestros resultados son congruentes con los obtenidos en trabajos previos (Gerwin y Zink, 1989; McGuire y col., 2007; McGuire y col., 2014) la falta de resolución en nodos basales para este grupo, identificada específicamente por McGuire y col. (2009), se mantuvo, incluyendo ahora a los géneros *Sternoclyta* e *Hylonympha*. Adicionalmente, el nodo que vincula al grupo de *H. aurescens* y *C. rubricauda* y al grupo conformado por *H. rubinoides*, *H. imperatrix*, *H. jacula* y *H. leadbeateri* (con alto soporte en McGuire y col., 2014) obtuvo bajo soporte en nuestra hipótesis. Es de destacar que la monofilia del clado de los brillantes “*sensu stricto*”, incluyendo a los dos géneros en estudio, no obtuvo alto soporte en la hipótesis generada por inferencia bayesiana con el programa MrBayes (no así en BEAST), un patrón similar cuando se comparan los trabajos de McGuire y col. (2007, 2014). Sin embargo, la hipótesis de máxima verosimilitud apoyó consistentemente la monofilia de este grupo de colibríes. Kolaczkowski y Thorton (2009) demostraron que los análisis de inferencia bayesiana favorecen topologías que agrupan ramas largas (como las obtenidas para los géneros *Sternoclyta* e *Hylonympha*), sesgo que se incrementa cuando se incluyen un mayor número de caracteres y aumenta la complejidad de los modelos evolutivos. Las largas ramas en las estimaciones de inferencia bayesiana representan secuencias muy distintas (Mar y col., 2005) lo cual tiene congruencia con los altos valores de divergencia genética obtenidos entre los miembros de este clado en particular (Anexo 3). Adicionalmente, Lewis y col.

(2005) muestran que internodos cortos asociados con nodos que vinculan ramas largas tienden a estar asociados con valores elevados de probabilidad posterior, un patrón que no desaparece con la inclusión de más taxa sino que, por el contrario, puede empeorarse (Poe y Swofford, 1999). Nuestros resultados parecen indicar que la falta de resolución en nodos basales es producto de una politomía dura (no asociada con esfuerzo muestral sino resultado de un proceso evolutivo de rápida (y simultánea) diversificación), la cual parece afectar la efectividad de la inferencia bayesiana en generar hipótesis filogenéticas robustas. Por lo tanto, en casos de incongruencia en los métodos de inferencia filogenética asociados con nodos basales, hemos decidido asumir que la hipótesis de máxima verosimilitud es la más robusta y, por lo tanto, aceptamos la monofilia del clado de los brillantes “*sensu stricto*” y desestimamos cualquier relación sugerida entre taxa vinculados por nodos basales de bajo soporte. Igualmente, recomendamos estudios que incorporen una aproximación genómica a la reconstrucción de las relaciones filogenéticas de este grupo de colibríes.

### ***Marco temporal de diversificación y escenario biogeográfico***

La hipótesis filogenética del clado de los brillantes *sensu stricto* resultado de este estudio, en conjunto con la distribución actual de cada una de sus especies y el marco temporal de evolución del paisaje suramericano nos permite elaborar una hipótesis biogeográfica de este grupo de especies. Nuestra hipótesis filogenética sugiere un proceso de diversificación rápido y simultáneo ubicado temporalmente entre finales del Mioceno Medio e inicios del Mioceno Tardío (11-5 Ma). De hecho, el origen de este clado, así como su diversificación, incluyendo los géneros *Sternoclyta* e *Hylonympha*, se estima entre 9 y 13 Ma (intervalo de confianza del 95%). Durante esta época, el levantamiento y formación

de los Andes tiene su mayor actividad, creando nuevos espacios/hábitats disponibles en las regiones cercanas a la cuenca del Amazonas adyacente a los Andes, así como a lo largo de los Andes, latitudinalmente como altitudinalmente.

El levantamiento de los Andes fue más intenso durante el Mioceno Medio y el Mioceno Temprano, así como durante el Plioceno, específicamente en los Andes del Norte (Gregory-Wodzicki, 2000; Garziona y col., 2008). Estos cambios terminan al final del Plioceno con la elevación final de los Andes Orientales de Colombia y los Andes Venezolanos (Bermúdez y col., 2015). El aumento en la altura de esta cadena montañosa resultó en cambios ambientales, topográficos, reestructuración de los sistemas de drenaje y una mayor erosión y depositación de sedimentos en la cuenca amazónica, cambios que llevaron a la desaparición de un gran sistema lacustre (Lago Pebas), y posteriormente fluvial (sistema Acre), que representaba una barrera potencial para el desplazamiento de organismos entre los Andes y sistemas montanos de la Guayana y el sureste de Brazil (Mata Atlántica) (Hoorn y col., 2010; Fouquet y col., 2014). Esta época también se caracterizó por cambios ambientales (posterior al óptimo climático del Mioceno Medio, MMCO por sus siglas en inglés) caracterizados por enfriamiento climático y períodos de estacionalidad, potencialmente asociados con eventos de extinción (Zachos y col., 2001; Fouquet, 2013). Estos eventos geográficos y climáticos en la región pudieron haber incrementado los procesos de diversificación, extinción y dispersión asociados con el aislamiento de poblacionales de amplia distribución (Elias y col., 2009), además de la dispersión asociada con la disponibilidad de nuevos recursos y hábitats.

El marco temporal y espacial de la evolución de la familia Trochilidae coincide con la dinámica orogénica de los Andes. Los colibríes estaban ya presentes (alrededor de 22 Ma atrás) en Suramérica en el momento del mayor levantamiento de los Andes Centrales y del Norte (McGuire y col., 2014). De hecho, se hipotetiza que el ancestro de los colibríes estuvo asociado a ambientes de zona baja y que, a partir de allí, colonizó los ambientes montanos, los cuales promovieron su diversificación durante durante el Mioceno Tardío (Bleiweiss, 1998; McGuire y col., 2007; McGuire y col., 2014). La reconstrucción de los nodos ancestrales ha permitido, igualmente, generar la hipótesis de que el ancestro común de los brillantes *sensu stricto* podría haber ocupado zonas medias montanas de Suramérica (contrario a lo propuesto por Bleiweiss (1998), quien sugirió que venían de zonas bajas), aunque esta reconstrucción no es totalmente robusta por el patrón de ramas cortas y nodos basales con bajo soporte (McGuire y col., 2007; McGuire y col., 2014).

Nuestros resultados sugieren que los patrones biogeográficos y de diversificación del clado de los brillantes “*sensu stricto*” se vieron afectados por estos cambios regionales. Tomando en cuenta la distribución actual de las diferentes especies, la mayor diversidad presente en los Andes Centrales y del Norte, el origen del grupo en un tiempo en el que los Andes del Norte no habían alcanzado la mitad de su elevación actual y la politomía que presenta la hipótesis filogenética que sugiere un rápida y simultánea diversificación, asumiremos que este grupo de brillantes se originó en los Andes. Estos supuestos siempre tienen sus limitaciones pero se consideran hipotéticos (a la luz de la evidencia disponible) y pueden ser evaluados al contrastar con hipótesis biogeográficas alternativas. El levantamiento de los Andes y la desaparición del sistema lacustre/fluviol amazónico pudo promover la dispersión de poblaciones de un ancestro común del grupo, ya sea a lo largo de

los Andes como a través de la cuenca amazónica colonizando zonas en la periferia de su distribución (Mata Atlántica en Brazil, zonas altas de la Guayana). Patrones filogenéticos y de distribución en plantas (Antonelli y col., 2009) y mariposas (Elias y col., 2009) son congruentes con este escenario biogeográfico. La conectividad previa de los bosques Atlánticos y los bosques amazónicos durante el Mioceno Medio, sugerida para varios grupos de organismos, incluyendo las aves (Batalha-Filho y col., 2012), pudo haber facilitado la dispersión del ancestro común de *Clytolaema rubricauda* y *Heliodoxa aurescens* y su posterior diferenciación asociada con cambios ambientales a nivel global y regional durante el Mioceno Tardío (Fouquet y col., 2014). Un escenario biogeográfico similar puede plantearse para el ancestro común a las especies *H. xanthogonys* (presente en la Región Pantepui) y las especies hermanas, *H. gularis* y *H. branicki*. El patrón de distribución disyunto ejemplificado por estas especies es similar al encontrado para las especies hermanas de hormiguero (Thamnophilidae) del género *Thamnophilus*, *T. divisorius*, endémico de la Sierra del Divisor en la frontera entre Acre (Brazil) y Perú, y *T. insignis*, endémico a la Región Pantepui (Brumfield y Edwards, 2007). *Heliodoxa schreibersii* presenta una distribución en el piedemonte andino y zonas bajas que pudiera haber tenido un origen similar al ancestro de *H. aurescens* y *Clytolaema*. Esta especie presenta una distribución fragmentada en los Andes (subespecies *schreibersii* y *whitelyana*) con un patrón similar a *H. gularis* y *H. branicki*. Este patrón de distribución, en la misma ladera de los Andes, puede ser producto de cambios históricos en las condiciones del hábitat a lo largo de su distribución, por lo que sugerimos evaluar la diferenciación genética de dichas poblaciones. El grupo que ocupa las zonas de mayor elevación, que incluye las especies *H. leadbeateri*, *H. jacula*, *H. rubinoides* y *H. imperatrix* ocuparía los hábitats disponibles por la nueva extensión latitudinal de los Andes (así como altitudinal) y vería

potencialmente fragmentada sus poblaciones una vez que los del Norte completaran su levantamiento al final del Plioceno. Un patrón de colonización sur a norte está representado en la historia evolutiva de *Adelomyia*, un colibrí del grupo de las coquetas, cuya diversificación presenta un marco temporal similar al que aquí estamos evaluando (Chaves y col., 2011). Por otra parte, el levantamiento de los Andes pudo ocasionar la fragmentación de las poblaciones del ancestro de *H. rubinoides* y *H. imperatrix* y de *H. leadbeateri* y *H. jacula*, dejando una población con mayor representación en la ladera pacífica de los Andes (Chocó) y otra principalmente en las cadenas centrales y orientales de los Andes (Figura 2). Este escenario biogeográfico debe ser evaluado con un muestreo exhaustivo de los patrones filogeográficos de estas especies, dada su amplia distribución y los patrones de simpatría que los caracteriza en algunas áreas de su distribución.

El origen de la distribución actual de *Sternoclyta cyanopectus* e *Hylonympha macrocerca* es más complejo de interpretar a la luz de la evidencia filogenética. La elevación y expansión de los Andes durante el Mioceno Tardío pudo permitir la dispersión (y potencial diferenciación) hacia el norte de Venezuela. Sin embargo, aunque los andes orientales de Colombia y Venezuela terminaron de levantarse durante el Mioceno y Plioceno, la Cordillera de la Costa (Central y Oriental) parece haber tenido un origen anterior (Hoorn y col., 1995; Hung, 2005) desde el Oligoceno al Mioceno. Por lo tanto, una hipótesis sería la colonización de estas áreas a lo largo del corredor de los Andes. Otra posibilidad sería una dispersión a través de la cuenca Amazónica (previo cambio de los patrones de circulación de los principales ríos, incluyendo el Orinoco; Hoorn y col., 1995; Hoorn y col., 2010), similar a la sugerida para las otras especies en el grupo. Renner y Schuchmann (2004) favorecen la primera hipótesis sugiriendo que los cambios climáticos

del Pleistoceno fueron los responsables de generar las oportunidades de dispersión y vicarianza que generaron la diversidad actual en este grupo de brillantes. Sin embargo, esta hipótesis falla en el marco temporal de la misma (Pleistoceno vs. Mioceno), considerando un paisaje totalmente diferente como contexto espacial de diferenciación del grupo, además de considerar una hipótesis filogenética errónea. En nuestro caso, la falta de resolución de las relaciones filogenéticas de estas dos especies (o géneros) no permite conocer si estos taxa son hermanos (y su diferenciación producto de una historia evolutiva similar) o no relacionados de manera cercana, sugiriendo que la colonización de estas áreas geográficas cercanas fue producto de eventos independientes. Las hipótesis sugeridas anteriormente pueden explicar, de manera independiente, la historia evolutiva de cada uno de estos géneros, dado que ninguna de las topologías obtenidas en nuestros análisis filogenéticos, sugiere que estos taxa son hermanos.

### ***Consideraciones taxonómicas***

La hipótesis filogenética obtenida en este estudio muestra un grupo de los brillantes *sensu stricto* monofilético, pero presenta un género *Heliodoxa* parafilético. Aunque la falta de resolución de nuestra hipótesis no permite asegurar que los géneros *Sternoclyta* e *Hylonympha* están anidados dentro de *Heliodoxa*, *Clytolaema* es la especie hermana de *H. aurescens*. Como consecuencia, es importante hacer algunas consideraciones taxonómicas que se desprenden de nuestro trabajo.

Realizar recomendaciones taxonómicas a nivel de género son inherentemente complicadas. Incluir múltiples especies en un solo género o nombrar múltiples géneros monotípicos afecta el nivel de información que nos transmite esta categoría en relación a

las relaciones evolutivas entre las diferentes especies que lo componen. Bajo este dilema, Isler y col. (2013) proponen considerar tres variables previo a la designación de géneros: la relación filogenética, caracteres sinapomórficos y grado de diferenciación fenotípica. El primer criterio asume la aplicación del criterio de monofilia para definir un género (i.e., que se incluyan todas las especies que provienen de un ancestro común). Los otros dos criterios incluyen la consideración de características morfológicas, ecológicas y de comportamiento del clado de interés con el fin de nombrar grupos que garanticen un nivel de consistencia y diagnosticabilidad apropiados. La proporción de géneros monotípicos que caracteriza a la familia Trochilidae parece ser producto de un mayor peso dado al grado de diferenciación fenotípica entre las diferentes especies. Sin embargo, la disponibilidad de una de las hipótesis filogenéticas más completas para una familia de aves (McGuire y col., 2014) ha permitido ir evaluando la taxonomía de este grupo de aves.

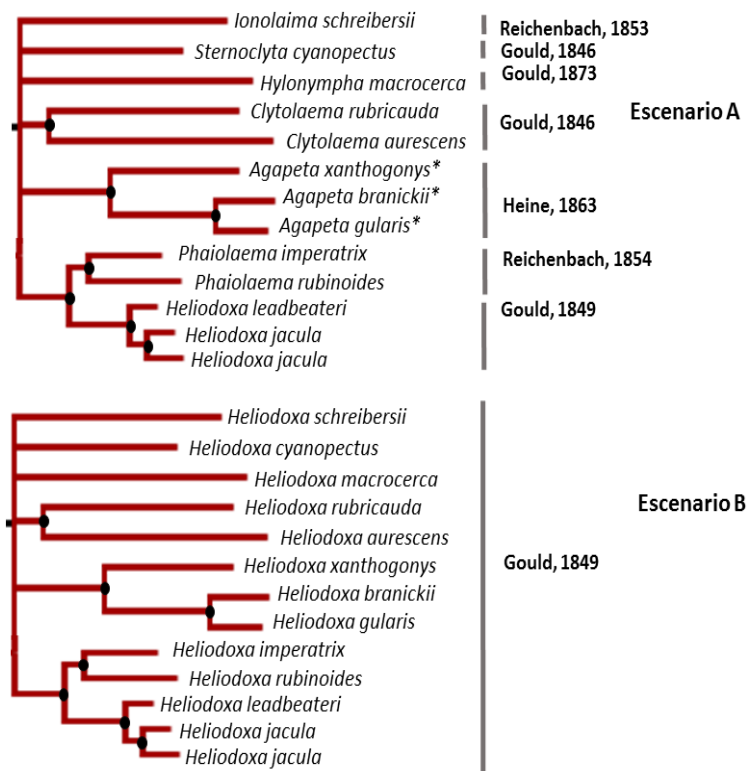
Los escenarios taxonómicos que se desprenden de la hipótesis filogenética de los brillantes “*sensu stricto*” son variadas. Sin embargo, vamos a evaluar dos propuestas extremas y analizar sus ventajas y desventajas (Figura 9). Un escenario es el reconocimiento de los grupos monofiléticos dentro del grupo de los brillantes *sensu stricto*, incluyendo las especies sin relación alguna dentro de la evaluación (Escenario A, Figura 9). El otro (Escenario B), es reconocer un solo género, más inclusivo, basado en el criterio de monofilia. Adicionalmente, debemos evaluar las características morfológicas (incluyendo el plumaje), ecológicas y de comportamiento que diferencien a estos grupos/especies y permitan la diagnosticabilidad de los mismos. Como en este trabajo no evaluamos estas características, con excepción de aquellas presentadas en la literatura, haremos este ejercicio de una manera

limitada y las propuestas que aquí se generen deben ser evaluadas a la luz de nueva información.

El escenario A requiere resucitar géneros sinónimos de *Heliodoxa* y asignarlos a los grupos que así lo requieran con base en la regla de la prioridad (fecha de publicación). Así, tendríamos que resucitar a los géneros *Ionolaima*, *Agapeta* y *Phaiolaima* e incluir a *Heliodoxa aurescens* en *Clytolaema*, donde fue incluido por varios autores hasta la creación del género *Polyplancta* por Heine (1863). *Sternoclyta* e *Hylonympha* se mantendrían como géneros válidos. Esta propuesta tiene la limitación que dentro de las especies que ahora estarían incluidas dentro del género *Agapeta* se encuentra *H. xanthogonys*, originalmente descrita como *Heliodoxa* por Salvin y Godman (1882). Esta especie puede difícilmente ser reconocida como perteneciente a un género diferente a *Heliodoxa* (a nivel morfológico) y genera un problema de diagnosticabilidad del género *Heliodoxa* (en este caso aplicado a dos especies, *jacula* y *leadbeateri*). Adicionalmente, este escenario podemos considerarlo como taxonómicamente inestable, dado que estudios filogenéticos futuros, con un mayor número de caracteres (similares o nuevos), así como nuevas herramientas y métodos, resuelvan las relaciones filogenéticas del clado de los brillantes *sensu stricto*, generando un nuevo e importante cambio taxonómico dado el número de géneros incluidos en el grupo.

El escenario B buscaría reconocer al grupo monofilético más inclusivo dentro de los brillantes *sensu stricto* (Figura 9). Este criterio nos llevaría a asignar un solo género a todo el clado de los brillantes aquí estudiados. El género *Heliodoxa* fue el primero de los géneros en ser descrito (Gould, 1849) lo cual le otorgaría prioridad taxonómica en el grupo de los brillantes *sensu stricto*. Esta decisión resultaría en la eliminación de tres géneros, *Sternoclyta*, *Hylonympha* y *Clytolaema*, los cuales pasarían a ser sinónimos de *Heliodoxa*.

Esta propuesta tiene la ventaja que todas estas especies han sido reconocidas históricamente como cercanas, además de presentar algunos caracteres que son diagnósticos (aunque no exclusivos), como la extensión de las plumas frontales en el pico cubriendo el opérculo nasal (Elliot, 1879; Zimmer, 1951). Si la evaluación de otros caracteres, ya sean morfológicos, ecológicos y de comportamiento, refuerza la cercanía evolutiva entre estas especies, esta propuesta sería estable en el tiempo, independientemente de que nuevos estudios resuelvan la politomía de la hipótesis filogenética disponible hoy en día.



**Figura 9.** Escenarios taxonómicos planteados para los brillantes *sensu stricto*. Los nombres de cada grupo se asignan por prioridad de descripción (autor y año al lado de cada grupo reconocido).

## ***Conclusiones***

1. Los géneros *Sternoclyta* e *Hylonympha* pertenecen al linaje de los brillantes y forman un grupo monofilético con los brillantes *sensu stricto*.
2. Las relaciones filogenéticas entre las especies *Sternoclyta cyanopectus* e *Hylonympha macrocerca* y las especies que conforman el clado de los brillantes *sensu stricto* resultaron en una politomía y no pueden ser definidas con este estudio.
3. El origen del clado de los brillantes *sensu stricto* y de los géneros *Sternoclyta* e *Hylonympha* se estimó el período que comprende entre el Mioceno Medio y Mioceno Tardío (aproximadamente hace 10 millones de años) y se caracterizó por una radiación rápida.
4. La hipótesis filogenética obtenida en este trabajo es congruente con la inclusión de todas las especies del clado de los brillantes *sensu stricto* en el género *Heliodoxa*.

## Referencias bibliográficas

Altshuler, D. L., Dudley, R. y McGuire, J.A. 2004. Resolution of a paradox: hummingbirds flight at high elevation does not come without a cost. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* 101: 17731-17736.

Antonelli, A., Nylander, J. A., Persson, C., y Sanmartín, I. 2009. Tracing the impact of the Andean uplift on Neotropical plant evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106: 9749-9754.

Batalha-Filho, H., Fjeldså, J., Fabre, P. H., y Miyaki, C. Y. 2013. Connections between the Atlantic and the Amazonian forest avifaunas represent distinct historical events. *Journal of Ornithology* 154: 41-50.

Bermudez, M. A., Hoorn, C., Bernet, M., Carrillo, E., Beek, P. A., Garver, J. I., y Mehrkian, K. 2015. The detrital record of late-Miocene to Pliocene surface uplift and exhumation of the Venezuelan Andes in the Maracaibo and Barinas foreland basins. *Basin Research*:1-26. doi: 10.1111/bre.12154.

Bleiweiss, R., Kirsch, J.A.W. y Matheus, J.C. 1994. DNA- DNA hybridization evidence for subfamily structure among hummingbirds. *The Auk* 111: 8-19.

Bleiweiss, R., Kirsch, J.A.W. y Matheus, J.C. 1997. DNA hybridization evidence for the principal lineages of hummingbirds (Aves: Trochilidae). *Molecular Biology and Evolution* 14: 325-343.

Bleiweiss, R. 1998. Origin of hummingbird faunas. *Biological Journal of the Linnean Society* 65: 77-97.

Boucard, A. [1893-1895]. *Genera of humming*. Bournemouth, Pardy & Son, London.

Bonaparte, C.L. 1850. *Conspectus Generum Avium*. Vol. 1. E. J. Brill, Lugduni Batavorum, 543 pp.□

Bonaparte, C.L. 1854. Tableau des oiseaux-mouches. Revue et Magasin de Zoologie pure et appliquée, 6, 248–257.□

Brumfield, R. T., y Edwards, S. V. 2007. Evolution into and out of the Andes: a Bayesian analysis of historical diversification in *Thamnophilus antshrikes*. *Evolution* 61: 346-367.

Cabanis, J. y F. Heine. 1860. Verzeichniss der ornithologischen Sammlung des Oberamtmann Ferdinand Heine. III. Theil, die Schrillvögel. Halberstadt.

Córdoba-Córdoba, S. y Echeverry-Galvis, M. 2006. Two hummingbirds for Colombia, Many-spotted Hummingbird *Taphrospilus hypostictus* and Violet-chested Hummingbird *Sternoclyta cyanopectus*. *Bulletin of the British Ornithologist's Club* 126: 194-195.

Cory, C. 1918. Family Trochilidae, Hummingbirds. Págs. 148-314 en: *Catalogue of Birds of The Americas and the adjacent islands*. Field Museum of Natural History, Chicago, E.U.A.

Chaves, J. A., Weir, J. T., y Smith, T. B. 2011. Diversification in *Adelomyia* hummingbirds follows Andean uplift. *Molecular Ecology* 20: 4564-4576.

Cracraft, J. 2013. Avian higher-level relationships and classification: Nonpasseriforms. En: *The Howard and Moore Complete Checklist of the Birds of the World, Vol. 1* (Dickinson, E.C., y Remsen, J.V., Eds.). Aves Press, Northampton, UK.

Drummond A.J., Suchard M.A., Xie D y Rambaut A. 2012. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7 *Molecular Biology and Evolution* 29: 1969-1973

Drummond, A. J., y Rambaut, A. 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology* 7: 214. doi:10.1186/1471-2148-7-214

Edgar, R. C. 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research* 5: 1792-1797.

Elias, M., Joron, M., Willmott, K., Silva-Brandao, K. L., Kaiser, V., Arias, C. F. y Jiggins, C. D. 2009. Out of the Andes: patterns of diversification in clearwing butterflies. *Molecular Ecology* 18: 1716-1729.

Elliot, D.G. 1879. A classification and synopsis of the Trochilidæ. *Smithsonian*

Contributions to Knowledge 317: 1-277.

Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.

Ferreira, M. A., y Suchard, M. A. 2008. Bayesian analysis of elapsed times in continuous-time Markov chains. *The Canadian Journal of Statistics* 36: 355-368.

Fouquet, A., Santana Cassini, C., Fernando Baptista Haddad, C., Pech, N., y Trefaut Rodrigues, M. 2014. Species delimitation, patterns of diversification and historical biogeography of the Neotropical frog genus *Adenomera* (Anura, Leptodactylidae). *Journal of Biogeography* 41: 855-870.

Garziona, C. N., Hoke, G. D., Libarkin, J. C., Withers, S., MacFadden, B., Eiler, J., Ghosh, P y Mulch, A. 2008. Rise of the Andes. *Science* 320: 1304-1307.

Gerwin, J. A. y Zink, R. M. 1989. Phylogenetic patterns in the genus *Heliodoxa* (Aves: Trochilidae): an allozymic perspective. *Wilson Bulletin* 101: 525-705.

Gill, F. B. y Gerwin, J. A. 1989. Protein relationships among hermit hummingbirds. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia* 141: 409-421.

Gmelin, J. F. 1788. *Caroli a Linné Systema naturae per regna tria naturae: secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis. Tomus 1 Pars 3.* GE Beer, Lipsiae.

Gould, J. 1846. On twenty new species of Trochilidae or humming birds. *Proceedings of the Zoological Society of London* XVI: 85-106.

Gould, J. 1849. Description of two new species with the characters of a new genus of Trochilidae. *Proceedings of the Zoological Society of London* pt 17: 95-96.

Gould, J. 1858. A monography of the Trochilidae, or family of humming-birds. Impreso por el autor. Londres, Inglaterra.

Gould, J. 1861. Introduction to the Trochilidae or family of hummingbirds. Impreso por el

autor. Londres, Inglaterra.

Gould, J. 1873. On a new genus and species of the family Trochilidae. *The Annals and Magazine of Natural History* XII: 429.

Gould, J., y R.B. Sharpe. 1880-1887. A monograph of the Trochilidae or Family of Hummingbirds. London: Taylor y Francis por Henry Sotheran y Co.

Graham, C.H., Parra, J.L., Rahbek, C. y McGuire, J.A. 2009. Phylogenetic structure in tropical hummingbird communities. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* 106: 19673-19678.

Gray, G. R. [1844-1849]. Volume 1. Longman, Brown, Green, and Longmans.

Gregory-Wodzicki, K. M. 2000. Uplift history of the Central and Northern Andes: a review. *Geological Society of America Bulletin* 112: 1091-1105.

Hartert E., 1900. Trochilidae. *Das Tierreich*. Berlin Friedlander und Sohn.

Hellmayr E.C. y Seilern J., von. 1912. Beiträge zur Ornithologie von Venezuela. *Archiv für Naturgeschichte* 5: 34-166.

Heine, F. 1863. Trochilidica. *Journal für Ornithologie*, 11, 172–217.

Hilty, S. L. 2003. *Birds of Venezuela*, segunda edición. Princeton University Press. Princeton, NJ, USA.

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

Hoorn, C., Guerrero, J., Sarmiento, G. A., y Lorente, M. A. 1995. Andean tectonics as a cause for changing drainage patterns in Miocene northern South America. *Geology* 23: 237-240.

del Hoyo, J., Elliot, A y Sargatal, J. (Eds.). 2005. *Handbook of the Birds of the World*. Vol. 5. Barn- owls to Hummingbirds. Ediciones Lynx, Barcelona.

Hung, E. J. 2005. Thrust belt interpretation of the Serranía del Interior and Maturín subbasin, eastern Venezuela. *Geological Society of America Special 394*: 251-270.

Hurvich, C. M., y Tsai, C. L. 1989. Regression and time series model selection in small samples. *Biometrika*, 297-307.

Hurvich, C. M., y Tsai, C. L. 1991. Bias of the Corrected| mathrom AIC Criterion for Underfitted Regression and time Series Models. *Biometrika*, 499-509.

Igea, J., Juste, J., y Castresana, J. 2010. Novel intron markers to study the phylogeny of closely related mammalian species. *BMC evolutionary biology*, 1: 369.

Isler M. L., Bravo, G.A., Brumfield. R.T. 2013. Taxonomic revision of *Myrmeciza* (Aves: Passeriformes: Thamnophilidae) into 12 genera based on phylogenetic, morphological, behavioral, and ecological data. *Zootaxa* 4: 469-497.

Kainer, D., y Lanfear, R. 2015. The effects of partitioning on phylogenetic inference. *Molecular biology and evolution*.

Kolaczkowski B., y Thornton J. W. 2009. Long-Branch Attraction Bias and Inconsistency in Bayesian Phylogenetics. *PLoS ONE* 4: 12.

Lanfear, R., Calcott B., Ho S. y Guindon S. 2012. PartitionFinder: combined selection of partitioning schemes and substitution models for phylogenetic analyses. *Molecular Biology and Evolution* 6: 1695-1701. <http://dx.doi.org/10.1093/molbev/mss020>.

Lerner, H.R., Meyer, M., James, H.F., Hofreiter, M., y Fleischer, R.C. 2011. Multilocus resolution of phylogeny and timescale in the extant adaptive radiation of Hawaiian honeycreepers. *Current Biology* 21: 1838–1844.

Lewis P. O., Holder T.M., y Holsinger K.E. 2005. Polytomies and Bayesian Phylogenetic inference. *Systematic Biology* 2: 241- 253.

Malpica, C. 2015. Evaluación de aspectos ecológicos y biológicos del ciclo anual de *Sternoclyta cyanopectus* en el Parque Nacional Henri Pittier, Venezuela. Trabajo especial de grado. Universidad de Carabobo.

Mar J. M., Harlow T.J., y Ragan M.A. 2005. Bayesian and maximum likelihood phylogenetic analyses of protein sequence data under relative branch-length differences and model violation. *BCM Evolutionary y Biology* 5:8

Miller, M. A., Pfeiffer, W., y Schwartz, T. 2010. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In *Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*, 2010 1-8).

McGuire, J. A., Witt, C. C., Altshuler, D. L. y Remsen, J.V., Jr. 2007. Phylogenetic systematics and biogeography of hummingbirds: Bayesian and maximum likelihood analyses of partitioned data and selection of an appropriate partitioning strategy. *Systematic Biology* 56: 837-856.

McGuire, J. A., C. C. Witt, J. V. Remsen, Jr., R. Dudley, y D. L. Altshuler. 2009. A higher-level taxonomy for hummingbirds. *Journal Ornithology*. 150:155-165

McGuire, J. A., Witt, C. C., Remsen, J.V. Jr., Corl, A.J, Radosky, D. L., Altshuler, D. L. y Dudley, R. 2014. Molecular phylogenetics and the diversification of hummingbirds. *Current Biology* 24: 910-916.

Parra, J. L., Remsen, J. V., Alvarez-Rebolledo, M., y McGuire, J. A. 2009. Molecular phylogenetics of the hummingbird genus *Coeligena*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 53, 425-434.

Peters, J.L. 1945. Family Trochilidae. Págs. 3-141 en *Check-List of Birds of the World*. Harvard University Press, Boston, E.U.A.

Phelps, W. H., y Phelps, W.H. Jr. 1948. The discovery of the habitat of Gould's Hummingbird *Hylonympha macrocerca*. *The Auk* 65: 62-66.

Poe, S., y Swofford, D. L. 1999. Taxon sampling revisited. *Nature*, 398: 299-300.

Projecto-García, J., Natarajan, C., Moriyama, H., Weber, R.E., Fago, A., Cheviron, Z.A., Dudley, R., McGuire, J.A., Witt, C.C. y Storz, J.F. 2013. Repeated elevation transitions in

hemoglobin function during the evolution of Andean hummingbirds. Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America 110: 20669-20674.

Rambaut A., Suchard M.A., Xie D., y Drummond A.J., 2014. Tracer v1.6.  
<http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>

Reichenbach, L. 1854. Aufzählung der Colibris oder Trochilideen in ihrer wahren natürlichen Verwandtschaft, nebst Schlüssel ihrer Synonymik. Journal für Ornithologie, 1853 (Extraheft), 1–

24. □ Reichenbach, L. 1855. Trochilidarum Enumeratio. Cabanisii Diario Ornitologico, 2, 1–12. □

Remsen, J. V., Jr., Cadena, C. D., Jaramillo, A., Nores, M., Pacheco, J. F., Pérez – Emán, J., Robbins, M. B., Stiles, F. G., Stotz, D. F. y Zimmer, K. J. 2017. A classification of the bird species of South America. American Ornithologists' Union.  
<http://www.museum.lsu.edu/~Remsen/SACCBaseline.html>

Renner, S. C., y Schuchmann, K.L. 2004. Biogeography, geographical variation, and taxonomy of the hummingbird genera: *Eugenes* Gould, 1856, *Sternoclyta* Gould, 1858, and *Hylonympha* Gould, 1873 (Aves: Trochilidae). Ornithologischer Anzeiger. 43: 103-114.

Ronquist, F. y J. P. Huelsenbeck. 2003. MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. Bioinformatics 19: 1572-1574.

Ronquist, F., Teslenko, M., Van Der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S., y Huelsenbeck, J. P. 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. Systematic biology 3: 539-542.

Sánchez Osés, C., 2003. Taxonomy, phylogeny, and biogeography of the Andean hummingbird genera *Coeligena* Lesson, 1832; *Pterophanes* Gould, 1849; *Ensifera* Lesson 1843; and *Patagona* Gray, 1840 (Aves: Trochiliformes) (Doctoral dissertation, Universitäts- und Landesbibliothek Bonn).

Salvin, O. 1892. Suborder Trochili. En: Catalogue of the Birds in the British Museum. Vol. 16. Trustees of the British Museum, London.

Salvin, O. y Godman, F. D. 1882. Notes of birds from British Guiana. Ibis 6: 76-84.

Simon, E. 1921. Histoire Naturelle des Trochilidae (Synopsis et Catalogue). Encyclopedie Roret, Paris, Francia.

Schuchmann, K. L. 1999. Family of Trochilidae (Hummingbirds). Págs. 468-682 en: del Hoyo, J., Elliot, A y Sargatal, J. (eds.), Handbook of the Birds of the World. Vol. 5. Barn- owls to Hummingbirds. Ediciones Lynx, Barcelona.

Schuchmann, K. L. y Bonan, A. 2017. Hummingbirds (Trochilidae). En: del Hoyo, J., Elliott, A., Sargatal, J., Christie, D.A. y de Juana, E. (eds.). Handbook of the Birds of the World Alive. Lynx Edicions, Barcelona. (consultado en <http://www.hbw.com/node/52268> en mayo 2017).

Shimodaira, H., y Hasegawa, M. 1999. Multiple comparisons of log-likelihoods with applications to phylogenetic inference. *Molecular biology and evolution*. 16:1114-1116.

Shimodaira, H. 2002. An approximately unbiased test of phylogenetic tree selection. *Systematic biology* 3: 492-508.

Stamatakis, A. 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics*, 9: 1312-1313.

Stamatakis, A., Hoover, P., Rougemont, J., y Renner, S. 2008. A rapid bootstrap algorithm for the RAxML web servers. *Systematic biology*, 5: 758-771.

Stiles F.,G. 2008. Ecomorphology and phylogeny of hummingbirds: Divergence and convergence in adaptations to high elevations. *Ornitología Neotropical* 19:511–519.

Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., y Kumar, S. 2013. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0. *Molecular biology and evolution* 12: 2725-2729.

Winker D.W., S.M. Billerman y I.J. Lovette. 2015. Bird families of the world. Universidad de Oxford. Oxford. New York .

Wetmore A. 1968. The birds of Panama, part 2, Columbidae (pigeons) to Picidae (woodpeckers). *Smithsonian Misc. Coll.* No. 150.

Zachos, J., Pagani, M., Sloan, L., Thomas, E., y Billups, K. 2001. Trends, rhythms, and aberrations in global climate 65 Ma to present. *Science*, 292: 686-693.

Zimmer, J. T. 1951. The genera *Heliodoxa*, *Phlogophilus*, *Urosticte*, *Polyplancta*, *Adelomyia*, *Coeligena*, *Ensifera*, *Oreotrochilus* y *Topaza*. *American Museum Novitates* 1513: 1-45.

Zusi R. L, 2013. Introduction to the Skeleton of Hummingbirds (Aves: Apodiformes, Trochilidae) in Functional and Phylogenetic Contexts. *Ornithological Monographs*. 77: 1-94.

Zusi R.L., G.D. Bent. 1982. Variation of a muscle in hummingbirds and swifts and its systematic implications. *Proceedings of the Biological Society of Washington*. 95: 412-420.

**Anexo 1.** Lista de las secuencias de los genes de las especies empleadas en este estudio, con su identificación (ID), linaje al que pertenecen y código de acceso e identificación en GenBank.

Especie	ID	Linajes	Genes mitocondriales		Genes nucleares			
			ND2	ND4	AK1	BFib	ODC	Musk
<i>Caprimulgus longirostris</i>	LSUMZ B32361	Grupo externo	EU042515.1	EU042195.1	EU042433.1	EU042351.1	GU166933.1	EU739778.1
<i>Streptoprocne zonaris</i>	USNM B13064	Grupo externo	EU042511.1	EU042191.1	EU042430.1	EU042348.1	GU166929.1	EU739879.1
<i>Chaetura pelagica</i>	LSUMZ B3346	Grupo externo	AY830455.1	GU166857.1	AY830531.1	AY830606.1	GU166935.1	-
<i>Topaza pella</i>	LSUMZ B35362	Mangos	AY830528.1	EU042345.1	AY830603.1	EU042414.1	GU167086.1	KJ603154.1
<i>Florisuga mellivora</i>	LSUMZ B9646	Mangos	AY830485.1	EU042306.1	AY830560.1	AY830636.1	GU167005.1	KJ602957.1
<i>Phaethornis longirostris</i>	LSUMZ B28503	Ermitaños	EU042579.1	EU042258.1	EU042494.1	EU042414.1	GU167062.1	KJ603067.1
<i>Glaucis hirsutus</i>	LSUMZ B28648	Ermitaños	EU042307.1	EU042307.1	AY830561.1	AY830637.1	GU167007.1	KJ602959.1
<i>Eutoxeres condamini</i>	LSUMZ B8094	Ermitaños	AY830484.1	EU042305.1	AY830559.1	AY830635.1	GU167003.1	KJ602955.1
<i>Anthracothonax mango</i>	STRI JA- AMA2	Mangos	KJ602185.1	EU042281.1	KJ601811.1	KJ601999.1	-	KJ602838.1
<i>Colibri coruscans</i>	LSUMZ B6310	Mangos	AY830476.1	EU042295.1	GU166829.1	AY830627.1	GU166983.1	KJ602916.1
<i>Doryfera johannae</i>	LSUMZ B1728	Mangos	EU042547.1	EU042227.1	EU042465.1	EU042383.1	GU166992.1	KJ602931.1
<i>Doricha eliza</i>	KU4435	Abejas	KJ602237.1	KJ602437.1	KJ601860.1	KJ602046.1	KJ602641.1	KJ602929.1
<i>Atthis heloisa</i>	FMNH 343218	Abejas	KJ602189.1	KJ602392.1	KJ601815.1	KJ602003.1	KJ602594.1	KJ602844.1
<i>Selasphorus sasin</i>	LSUMZ B33988	Abejas	KJ602324.1	KJ602522.1	KJ601941.1	KJ602121.1	KJ602751.1	KJ603119.1
<i>Metallura phoebe</i>	LSUMZ B103876	Coquetas	EU042569.1	EU042249.1	EU042484.1	EU042404.1	GU167041.1	KJ603027.1
<i>Agelaiocercus coelestis</i>	LSUMZ B7813	Coquetas	AY830460.1	EU042277.1	AY830611.1	GU166940.1	GU166940.1	KJ602796.1

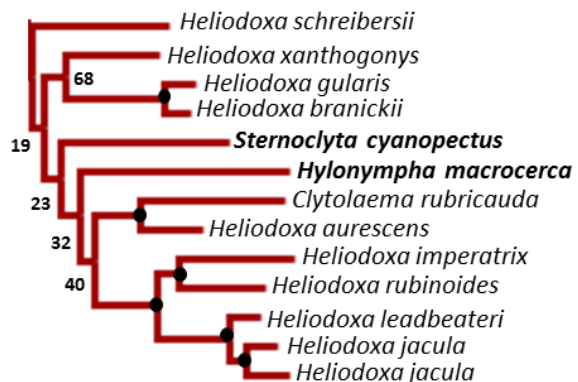
Anexo 1. (Cont.)

Especie	ID	Linajes	Genes mitocondriales		Genes nucleares			
			ND2	ND4	AK1	BFib	ODC	Musk
<i>Oreotrochilus estella</i>	LSUMZ B103835	Coquetas	AY830507.1	EU042327.1	AY830582.1	GU167050.1	GU167050.1	KJ603040.1
<i>Eugenes fulgens</i>	LSUMZ B9964	Gemas de montaña	AY830481.1	EU042301.1	AY830556.1	AY830632.1	KJ602647.1	KJ602943.1
<i>Lampornis clemenciae</i>	LSUMZ B10119	Gemas de montaña	KJ602257.1	KJ602459.1	KJ601880.1	KJ602064.1	KJ602674.1	KJ603003.1
<i>Heliomaster longirostris</i>	LSUMZ B18268	Gemas de montaña	AY830493.1	EU042315.1	AY830568.1	AY830644.1	GU167024.1	KJ602986.1
<i>Thalurania furcata</i>	2807	Esmeraldas	KJ602344.1	KJ602539.1	KJ601960.1	KJ602139.1	GU167081.1	KJ603144.1
<i>Campylopterus hemileucurus</i>	LSUMZ B26474	Esmeraldas	EU042534.1	EU042214.1	EU042452.1	EU042370.1	KJ602610.1	KJ602863.1
<i>Trochilus polytmus</i>	CJC25	Esmeraldas	-	-	-	-	-	-
<i>Patagona gigas</i>	LSUMZ 6303	<i>Patagona</i>	KJ602274.1	EU042330.1	AY830585.1	AY830661.1	GU167051.1	KJ603046.1
<i>Haplophaedia lugens</i>	LSUMZ B30002	Brillantes	EU042555.1	EU042235.1	EU042471.1	EU042391.1	FJ903570.1 GU167009.1	KJ602963.1
<i>Ensifera ensifera</i>	LSUMZ B8224	Brillantes	FJ903534.1	EU042299.1	AY830554.1	FJ903606.1	FJ903570.1	-
<i>Eriocnemis vestita</i>	LSUMZ B324	Brillantes	EU042551.1	EU042231.1	GU166830.1	EU042387.1	FJ903571.1 GU167000.1	KJ602942.1
<i>Lafresnaya lafresnayi</i>	LSUMZ 32771	Brillantes	FJ903536.1	EU042318.1	AY830571.1	FJ903608.1	FJ903572.1	KJ602998.1
<i>Aglaeactis castelnaudii</i>	LSUMZ B8215	Brillantes	KJ602160.1	EU042275.1	AY830534.1	AY830609.1	KJ602557.1	KJ602793.1
<i>Pterophanes cyanopterus</i>	LSUMZ B1296	Brillantes	AY830520.1	EU042337.1	AY830595.1	AY830671.1	GU167074.2	KJ603100.1
<i>Boissonneaua flavescens</i>	LSUMZ B12099	Brillantes	EU042530.1	EU042210.1	EU042448.1	EU042366.1	GU166959.1	KJ602846.1
<i>Urosticte benjamani</i>	LSUMZ B5546	Brillantes	AY830529.1	EU042346.1	AY830604.1	AY830680.1	GU167088.1	-
<i>Coeligena lutetia</i>	LSUMZ B340	Brillantes	EU042542.1	EU042222.1	EU042460.1	EU042378.1	FJ903553.1	KJ602903.1

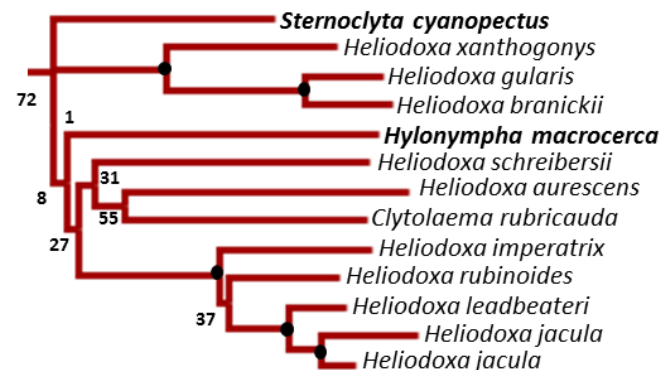
Anexo 1. (Cont.)

Especie	ID	Linajes	Genes mitocondriales		Genes nucleares			
			ND2	ND4	AK1	BFib	ODC	Musk
<i>Clytolaema rubricauda</i>	395404	Brillantes	KJ602219.1	KJ602420.1	KJ601841.1	KJ602029.1	KJ602628.1	KJ602896.1
<i>Urochroa bougueri</i>	ZMC 114654	Brillantes	EU042594.1	EU042273.1	EU042509.1	EU042429.1	GU167087.1	KJ603160.1
<i>Heliodoxa aurescens</i>	LSUMZ B6789	Brillantes	-	EU042311.1	-	GU167015.1	GU167015.1	KJ602974.1
<i>Heliodoxa branickii</i>	LSUMZ B1996	Brillantes	AY830490.1	EU042312.1	AY830565.1	-	GU167015.1	KJ602975.1
<i>Heliodoxa gularis</i>	LSUMZ B5428	Brillantes	GU167233.1	GU166902.1	GU167179.1	GU167123.1	GU167017.1	KJ602976.1
<i>Heliodoxa imperatrix</i>	LSUMZ B12088	Brillantes	EU042557.1	EU042237.1	EU042473.1	EU042393.1	GU167018.1	KJ602977.1
<i>Heliodoxa jacula</i>	LSUMZ B11940	Brillantes	KJ602249.1	-	KJ601872.1	KJ602056.1	KJ602663.1	KJ602978.1
<i>Heliodoxa jacula</i>	LSUMZ B16037	Brillantes	AY830491.1	EU042313.1	AY830566.1	AY830642.1	GU167019.1	KJ602979.1
<i>Heliodoxa leadbeateri</i>	LSUMZ B6036	Brillantes	AY830492.1	EU042314.1	-	AY830643.1	GU167020.1	KJ602980.1
<i>Heliodoxa rubinoides</i>	LSUMZ B1651	Brillantes	EU042558.1	EU042238.1	EU042474.1	EU042394.1	GU167021.1	KJ602981.1
<i>Heliodoxa schreibersii</i>	LSUMZ B5440	Brillantes	EU042559.1	EU042239.1	EU042475.1	EU042395.1	GU167022.1	KJ602982.1
<i>Heliodoxa xanthogonys</i>	LSUMZ B7415	Brillantes	EU042560.1	EU042240.1	EU042476.1	EU042396.1	KJ602664.1	KJ602983.1
<i>Sternoclyta cyanopectus</i>	<b>JM 69</b>	<b>Este estudio</b>						
<i>Hylonympha macrocerca</i>	<b>HM1</b>	<b>Este estudio</b>						

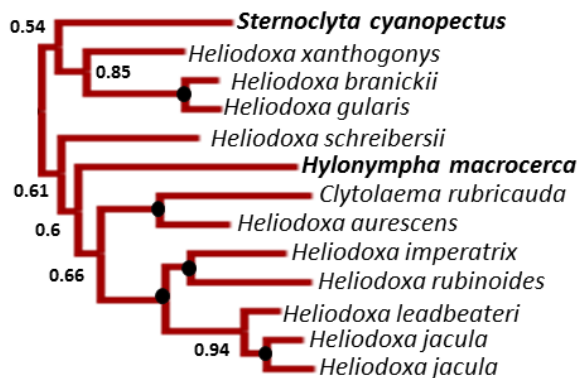
**Anexo 2.** Árboles de máxima verosimilitud (MV) e inferencia bayesiana (IB) empleando las matrices de genes nucleares (AK1, BFib, ODC, Musk) y matriz de genes mitocondriales (ND2 y ND4).



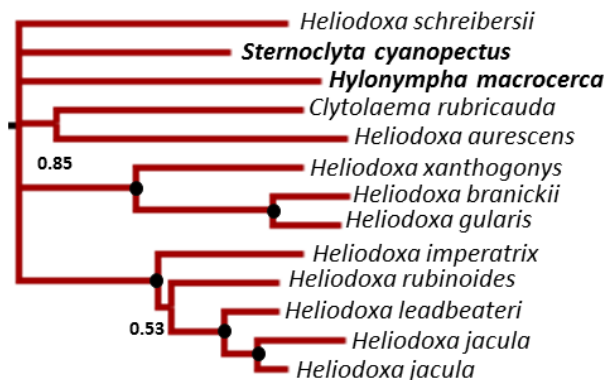
Árbol MV. Matriz genes nucleares AK1, Bfib, ODC, Musk.



Árbol MV. Matriz genes mitocondriales ND2 y ND4



Árbol IB. Matriz genes nucleares AK1, Bfib, ODC, Musk.



Árbol IB. Matriz genes nucleares ND2 y ND4.

**Anexo 3.** Tablas de divergencia genética obtenida (distancia-*p*) en porcentaje para las secuencias de los genes mitocondriales ND2 (2.1) y ND4 (2.2) y los genes nucleares AK1 (2.3), Bfib (2.4) ODC (2.5) y Musk (2.6)

ESTAS TABLAS ME DICE QUE HYLONYPHA ESEN PROMEDIO EL MAS DIFERENTE, AL IGUAL CLYTOLAEMA

## (2.1)

4	Especies	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	<i>Clytolaema rubricauda</i>													
2	<i>Heliodoxa aurescens</i>	13.2												
3	<i>Heliodoxa branickii</i>	13.2	14.2											
4	<i>Heliodoxa gularis</i>	12.7	13.8	6.4										
5	<i>Heliodoxa imperatrix</i>	14.1	14.0	14.2	13.9									
6	<i>Heliodoxa jacula jacula</i>	14.8	14.3	15.0	14.4	10.2								
7	<i>Heliodoxa leadbeateri</i>	13.8	13.8	14.1	13.9	9.6	7.8							
8	<i>Heliodoxa rubinoides</i>	14.2	<b>15.3</b>	14.5	14.4	9.0	10.0	8.2						
9	<i>Heliodoxa schreibersii</i>	13.1	15.3	13.6	12.7	13.6	14.7	13.1	14.0					
10	<i>Heliodoxa xanthogonys</i>	14.1	13.9	12.9	10.8	13.0	13.9	13.6	13.2	14.1				
11	<i>Heliodoxa jacula jamesoni</i>	14.0	14.0	15.0	14.1	9.5	<b>5.6</b>	6.0	8.5	14.1	14.4			
12	<i>Sternoclyta cyanopectus</i>	13.7	14.7	14.1	13.5	14.2	14.4	13.0	12.1	14.8	12.6	13.5		
13	<i>Hylonympha macrocerca</i>	13.9	13.3	14.3	13.5	13.4	14.8	14.3	13.5	14.9	14.1	14.2	13.2	

## (2.2)

	Especies	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	<i>Clytolaema rubricauda</i>													
2	<i>Heliodoxa aurescens</i>	10.0												
3	<i>Heliodoxa branickii</i>	12.3	11.4											
4	<i>Heliodoxa gularis</i>	<b>13.9</b>	12.5	6.8										
5	<i>Heliodoxa imperatrix</i>	11.0	11.5	12.1	12.5									
6	<i>Heliodoxa jacula jacula</i>	12.6	11.7	12.2	12.5	8.8								
7	<i>Heliodoxa leadbeateri</i>	10.5	10.3	10.3	10.5	7.2	<b>5.1</b>							
8	<i>Heliodoxa rubinoides</i>	10.9	10.4	11.9	12.4	8.3	8.9	5.6						
9	<i>Heliodoxa schreibersii</i>	10.9	9.4	10.4	11.7	10.2	9.9	8.8	9.6					
10	<i>Heliodoxa xanthogonys</i>	12.3	12.7	10.1	10.8	11.9	12.9	10.8	11.9	12.2				
11	<i>Heliodoxa jacula jamesoni</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
12	<i>Sternoclyta cyanopectus</i>	9.9	8.9	10.2	10.7	8.8	10.2	8.3	8.8	8.4	10.5	-		
13	<i>Hylonympha macrocerca</i>	10.7	12.6	11.8	13.3	12.4	13.3	10.4	11.4	10.5	13.3	-	10.0	

Anexo 3. (Cont.)

(2.3)

	Especies	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	<i>Clytolaema rubricauda</i>													
2	<i>Heliodoxa aurescens</i>	2.2												
3	<i>Heliodoxa branickii</i>	2.6	1.9											
4	<i>Heliodoxa gularis</i>	2.9	1.9	0.6										
5	<i>Heliodoxa imperatrix</i>	3.2	1.6	1.6	1.6									
6	<i>Heliodoxa jacula jacula</i>	3.5	2.9	2.6	2.6	1.3								
7	<i>Heliodoxa leadbeateri</i>	3.5	2.9	2.6	2.6	1.3	<b>0.0</b>							
8	<i>Heliodoxa rubinoides</i>	3.5	1.9	1.9	1.9	0.3	1.6	1.6						
9	<i>Heliodoxa schreibersii</i>	3.5	2.6	3.2	3.2	2.2	1.6	1.6	2.6					
10	<i>Heliodoxa xanthogonys</i>	3.2	2.9	1.6	1.6	2.6	2.9	2.9	2.9	3.5				
11	<i>Heliodoxa jacula jamesoni</i>	3.5	2.9	2.6	2.6	1.3	0.0	0.0	1.6	1.6	2.9			
12	<i>Sternoclyta cyanopectus</i>	2.2	1.9	1.9	1.9	1.6	2.2	2.2	1.9	2.6	2.2	2.2		
13	<i>Hylonympha macrocerca</i>	4.2	3.2	3.2	3.2	2.9	3.5	3.5	3.2	<b>3.8</b>	3.5	3.5	2.6	

(2.4)

	Especies	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	<i>Clytolaema rubricauda</i>													
2	<i>Heliodoxa aurescens</i>	1.4												
3	<i>Heliodoxa branickii</i>	2.0	1.4											
4	<i>Heliodoxa gularis</i>	1.9	1.2	<b>0.2</b>										
5	<i>Heliodoxa imperatrix</i>	1.9	1.5	1.5	1.4									
6	<i>Heliodoxa jacula jacula</i>	2.0	1.9	1.9	1.7	1.7								
7	<i>Heliodoxa leadbeateri</i>	2.0	1.9	1.9	1.7	1.7	0.7							
8	<i>Heliodoxa rubinoides</i>	2.9	2.6	2.2	2.4	2.4	2.7	2.7						
9	<i>Heliodoxa schreibersii</i>	2.2	1.5	1.5	1.4	1.7	2.0	2.0	2.4					
10	<i>Heliodoxa xanthogonys</i>	2.0	1.4	1.4	1.2	1.5	1.9	1.9	2.6	1.5				
11	<i>Heliodoxa jacula jamesoni</i>	2.2	2.0	2.0	1.9	1.9	0.9	0.9	2.9	2.2	2.0			
12	<i>Sternoclyta cyanopectus</i>	1.5	0.9	1.2	1.0	1.4	1.7	1.7	2.4	1.4	1.2	1.9		
13	<i>Hylonympha macrocerca</i>	2.7	2.0	2.4	2.2	2.6	2.9	2.9	<b>3.2</b>	2.2	1.9	3.1	1.9	

Anexo 3. (Cont.)

(2.5)

	<b>Especies</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>
<b>1</b>	<i>Clytolaema rubricauda</i>													
<b>2</b>	<i>Heliodoxa aurescens</i>	0.3												
<b>3</b>	<i>Heliodoxa branickii</i>	1.6	1.3											
<b>4</b>	<i>Heliodoxa gularis</i>	1.3	0.9	0.9										
<b>5</b>	<i>Heliodoxa imperatrix</i>	1.3	0.9	1.6	1.3									
<b>6</b>	<i>Heliodoxa jacula jacula</i>	0.9	0.6	1.3	0.9	0.3								
<b>7</b>	<i>Heliodoxa leadbeateri</i>	0.9	0.6	1.3	0.9	0.3	<b>0.0</b>							
<b>8</b>	<i>Heliodoxa rubinoides</i>	1.3	0.9	1.6	1.3	0.6	0.3	0.3						
<b>9</b>	<i>Heliodoxa schreibersii</i>	0.9	0.6	1.3	0.9	0.9	0.6	0.6	0.9					
<b>10</b>	<i>Heliodoxa xanthogonys</i>	0.9	0.6	1.3	0.9	0.9	0.6	0.6	0.9	0.0				
<b>11</b>	<i>Heliodoxa jacula jamesoni</i>	0.9	0.6	1.3	0.9	0.3	0.0	0.0	0.3	0.6	0.6			
<b>12</b>	<i>Sternoclyta cyanopectus</i>	2.2	1.9	<b>2.5</b>	2.2	1.6	1.3	1.3	1.6	1.3	1.3	1.3		
<b>13</b>	<i>Hylonympha macrocerca</i>	1.9	1.6	2.2	1.9	1.9	1.6	1.6	1.9	0.9	0.9	1.6	2.2	

(2.6)

	<b>Especies</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>
<b>1</b>	<i>Clytolaema rubricauda</i>													
<b>2</b>	<i>Heliodoxa aurescens</i>	1.8												
<b>3</b>	<i>Heliodoxa branickii</i>	2.0	1.2											
<b>4</b>	<i>Heliodoxa gularis</i>	2.6	1.8	0.4										
<b>5</b>	<i>Heliodoxa imperatrix</i>	3.2	2.0	2.0	2.6									
<b>6</b>	<i>Heliodoxa jacula jacula</i>	-	-	-	-	-								
<b>7</b>	<i>Heliodoxa leadbeateri</i>	2.8	1.6	1.6	2.2	1.2	-							
<b>8</b>	<i>Heliodoxa rubinoides</i>	3.1	2.2	2.2	2.9	1.0	-	1.4						
<b>9</b>	<i>Heliodoxa schreibersii</i>	2.4	1.6	1.2	1.8	2.0	-	1.6	2.2					
<b>10</b>	<i>Heliodoxa xanthogonys</i>	2.0	1.2	0.8	1.4	2.0	-	1.6	2.2	1.2				
<b>11</b>	<i>Heliodoxa jacula jamesoni</i>	2.8	2.0	2.0	2.6	1.6	-	<b>0.4</b>	1.8	2.0	2.0			
<b>12</b>	<i>Sternoclyta cyanopectus</i>	3.4	2.6	1.8	2.4	3.2	-	3.0	<b>3.5</b>	2.4	2.2	3.4		
<b>13</b>	<i>Hylonympha macrocerca</i>	2.8	2.0	2.0	2.6	2.8	-	2.4	2.6	2.4	2.0	2.8	3.4	

**Anexo 4.** Cronograma generado por BEAST. Las barras en los nodos representan los intervalos de confianza del 95% del tiempo de divergencia. La escala inferior muestra el tiempo en millones de años (Ma). Valores de probabilidades posteriores para el linaje de los brillantes fue de 1, Urochroa con el clado de los brillantes *sensu stricto* (1); clado de los brillantes *sensu stricto* (0.99); *Sternoclyta* con el grupo de *H. gularis*, *H. branickii* y *H. xanthogonys* (0.93); *Hylonympha* con el grupo *H. aurescens*, *C. rubricauda*, *H. rubinoides*, *H. imperatrix*, *H. leadbeateri*, *H. jacula* (0.96)

