

Diversidad genética de dos especies de colibríes endémicos del género *Saucerottia* en Santander:
aportes para su conservación

Daniela Johanna Mojica Candela

Trabajo de Grado para Optar al Título de Maestra en Biología

Director

Fernando Rondón González

Doctor en Ciencias Biología

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias

Escuela de Biología

Maestría en Biología

Bucaramanga

2026

Dedicatoria

A mi familia, de sangre y adoptiva. Por todo el apoyo que me brindaron y por creer en mí.
A mi hermana Arlis Andrea en el cielo y, en homenaje para su hija Naomi Alina Murillo Mojica-Candela. A la idiosincrasia llanera por darme la fortaleza de llevar a delante esta investigación para los santandereanos.

Al universo por estar en todo y creer en mí, mostrarme mi valor y fortaleza.

A ustedes lectores les dedico esta investigación, que es un pedazo de mi vida, sudor, lágrimas, pero sobre todo alegrías.

Agradecimientos

Los autores agradecen al programa de Formación de capital humano de alto nivel para el Departamento de Santander en la Universidad Industrial de Santander BPIN 2020000100536 por la financiación recibida.

Así mismo, a la Vicerrectoría de Investigación VIE – UIS, la Facultad de Ciencias y al profesor Fernando Rondón González por los apoyos recibidos para asistir a los eventos académicos internacionales donde se presentaron los resultados de este estudio.

Al profesor Enrique Arbeláez-Cortés por su apoyo en las colecciones biológicas.

A los propietarios de los predios en donde se realizaron los muestreos por su hospitalidad, cariño y permitir la obtención de las muestras.

A mi familia en Arauca y mi familia RR en BGA su apoyo fue determinante en la consecución de este logro.

Tabla de Contenido

	Pág.
Introducción	11
Objetivos	15
2.1 Objetivo General	15
2.2 Objetivos Específicos.....	15
3. Métodos.....	16
3.1 Muestreo	16
3.2 Procedimientos de laboratorio	19
3.2.1 Extracción y visualización de ADN.....	19
3.2.2 Amplificación de genes mitocondriales	19
3.2.3 Separación de amplicones y secuenciación	20
3.3 Análisis de secuencias.....	21
4. Resultados	25
4.1 <i>Saucerottia castaneiventris</i>	25
4.1.1 Muestras y secuencias obtenidas	25
4.1.2 Análisis de secuencias.....	26
4.1.3 Diversidad y estructura genética	27
4.2 <i>Saucerottia cyanifrons</i>	33
4.2.1 Muestras y secuencias obtenidas	34
4.2.2 Análisis de secuencias.....	34
4.2.3 Diversidad y estructura genética	36
4.3 Aspectos de historia natural	43

5. Discusión.....	48
6. Conclusiones	65
7. Recomendaciones	66
Referencias Bibliográficas	67
Apéndices.....	83

Lista de Tablas

	Pág.
Tabla 1. <i>Esfuerzo de muestreo y número de muestras por especie por localidad</i>	17
Tabla 2. <i>Haplotipos de los genes mitocondriales ATPasa6-8 y ND2 de Saucerottia castaneiventris</i>	27
Tabla 3. <i>Estimadores de diversidad, diferenciación genética y neutralidad de Saucerottia castaneiventris</i>	28
Tabla 4. <i>Estimaciones bayesianas de los parámetros de flujo para dos loci mitocondriales</i>	29
Tabla 5. <i>Estimaciones de tamaño efectivo poblacional (Ne) de Saucerottia castaneiventris basadas en los loci mitocondriales ATPasa6-8 y ND2.</i>	31
Tabla 6. <i>Haplotipos de los genes mitocondriales ATPasa6-8 y ND2 de Saucerottia cyanifrons</i>	35
Tabla 7. <i>Estimadores de diversidad, diferenciación genética y neutralidad de Saucerottia cyanifrons</i>	37
Tabla 8. <i>Estimaciones bayesianas de los parámetros de flujo para dos loci mitocondriales</i>	38
Tabla 9. <i>Estimaciones de tamaño efectivo poblacional (Ne) de Saucerottia cyanifrons basadas en loci mitocondriales ATPasa6-8 y ND2</i>	40
Tabla 10. <i>Parámetros de diversidad genética a partir de ADNmt en diferentes especies de Trochilidae.</i>	48

Lista de Figuras

	Pág.
Figura 1. Mapa de las localidades donde se recolectaron muestras de <i>S. castaneiventris</i> y <i>S. cyanifrons</i>	18
Figura 2. Redes de haplotipos de <i>Saucerottia castaneiventris</i> con base en secuencias de los genes <i>ATPasa6-8</i> (A) y <i>ND2</i> (B)	30
Figura 3. Relación entre el tamaño efectivo poblacional (N_e) y la duración generacional en <i>Saucerottia castaneiventris</i>	31
Figura 4. Tamaño efectivo poblacional histórico de <i>Saucerottia castaneiventris</i> (Coalescent Bayesian Skyline plot)	33
Figura 5. Redes de haplotipos de <i>Saucerottia cyanifrons</i> con base en secuencias de los genes <i>ATPasa6-8</i> (A) y <i>ND2</i> (B)	39
Figura 6. Relación entre el tamaño efectivo poblacional y la duración generacional en <i>Saucerottia cyanifrons</i>	40
Figura 7. Tamaño efectivo poblacional histórico de <i>Saucerottia cyanifrons</i> (Coalescent Bayesian Skyline plot)	42

Lista de Apéndices

	Pág.
Apéndice A. Información de las localidades muestreadas.....	83
Apéndice B. I. Sitios polimórficos de <i>S. castaneiventris</i> en el gen <i>ATPasa6-8</i>	85
Apéndice C. I. Sitios polimórficos de <i>S. castaneiventris</i> en el gen <i>ND2</i>	86
Apéndice D. Composición nucleotídica de los genes mitocondriales <i>ATPasa6-8</i> y <i>ND2</i> de <i>S. castaneiventris</i> y <i>S. cyanifrons</i>	87
Apéndice E. Resultados de AMOVA y diferenciación genética de <i>S. castaneiventris</i>	87
Apéndice F. Estimaciones bayesianas del tamaño efectivo poblacional (N_e) y su relación con el tamaño censal (N) para los loci mitocondriales <i>ATPasa6-8</i> y <i>ND2</i> en <i>S. castaneiventris</i>	87
Apéndice G. I. Sitios polimórficos de <i>S. cyanifrons</i> en el gen <i>ATPasa6-8</i>	88
Apéndice H. I. Sitios polimórficos de <i>S. cyanifrons</i> en el gen <i>ND2</i>	90
Apéndice I. Resultados de AMOVA y diferenciación genética de <i>Saucerottia cyanifrons</i>	92

Resumen

Título: Diversidad genética de dos especies de colibríes endémicos del género *Saucerottia* presentes en el departamento de Santander: aportes para su conservación. *

Autor: Daniela Johanna Mojica Candela (1) y Fernando Rondón González (2) **

Palabras Clave: Aves, Biodiversidad, Haplotipos, Tamaño Efectivo Poblacional, Variación.

Descripción: los colibríes *Saucerottia castaneiventris* y *S. cyanifrons* son endémicos, se encuentran en Santander y sus poblaciones silvestres son más susceptibles a experimentar los efectos de la deriva y aislamiento debido al pequeño tamaño de sus poblaciones. Entre muchos aspectos, se desconocen los factores genético-poblacionales en estas especies. En 2015, el departamento de Santander declaró al colibrí *Amazilia (Saucerottia) castaneiventris* como símbolo de la fauna en busca de su protección y conservación. Con el fin de definir el grado de estructura genética y brindar recomendaciones de conservación para cada especie, se secuenciaron dos genes mitocondriales, que permitieron evaluar parámetros genético-poblacionales. Se encontró que *S. castaneiventris* presenta alta diversidad haplotípica, baja nucleotídica y ausencia de estructura genética y denota pérdida de diversidad mitocondrial en los últimos 140 K años; mientras que *S. cyanifrons* presenta moderada diferenciación genética, alta diversidad haplotípica, baja diversidad nucleotídica y denota expansión poblacional reciente. En ambas especies la mayor variación genética es aportada por los individuos y no entre Santander y Boyacá. Las estimas de N_e en *S. castaneiventris* están en los límites recomendables para conservación a corto y largo plazo. Se le debe prestar atención para la conservación de los ecosistemas donde están presente debido a los pequeños tamaños poblacionales detectados, en particular el Cañón del Chicamocha. Este estudio proporciona datos valiosos que serán útiles para la implementación de estrategias de conservación.

* Trabajo de Grado

** Facultad de Ciencias. Escuela de Biología. Maestría en Biología. Director: Fernando Rondón González. Doctor en Ciencias Biología.

Abstract

Title: Genetic diversity of two species of endemic hummingbirds of the genus *Saucerottia* present in the department of Santander: contributions for their conservation. *

Author(s): Daniela Johanna Mojica Candela (1) y Fernando Rondón González (2) **

Key Words: Birds, Biodiversity, Effective Population Size, Haplotypes, Variation.

Description: The hummingbirds *Saucerottia castaneiventris* and *S. cyanifrons* are endemic, found in Santander, and their wild populations are more susceptible to experiencing the effects of drift and isolation due to their small population size. Among many aspects, the genetic and population factors in these species are unknown. In 2015, the department of Santander declared the *Amazilia (Saucerottia) castaneiventris* hummingbird as a symbol of wildlife to seek its protection and conservation. To define the degree of genetic structure and provide conservation recommendations for each species, two mitochondrial genes were sequenced, enabling for the evaluation of genetic-population parameters. *S. castaneiventris* was found to have high haplotype diversity, low nucleotide diversity, and no genetic structure, indicating a loss of mitochondrial diversity over the last 140,000 years, while *S. cyanifrons* shows moderate genetic differentiation, high haplotype diversity, low nucleotide diversity, and indicates recent population expansion. In both species, the greatest genetic variation is contributed by individuals rather than between subpopulations (Santander and Boyacá). Ne estimates for *S. castaneiventris* are within the recommended limits for short- and long-term conservation. Attention should be paid to the conservation of the ecosystems where they are present due to the small population sizes detected, particularly in the Chicamocha Canyon. This study provides valuable data that will be useful for the implementation of conservation strategies.

* Degree Work

** Faculty of Sciences. School of Biology. Master's Degree in Biology. Director: Fernando Rondón González. PhD in Science Biology.

Introducción

La familia Trochilidae, conocida comúnmente como colibríes, alberga organismos caracterizados por su pequeño tamaño (5,5 – 19 cm) y peso (~2 g), la capacidad de volar estacionariamente y hacia atrás (Ortega-Jiménez et al., 2016), el colorido plumaje que exhiben (Palacios et al., 2023; Parra, 2010; Venable et al., 2022), y que son polinizadores de muchas especies de plantas (Leimberger et al., 2022). Se estima que Trochilidae se separó de Apodidae (Vencejos) hace ~42 Ma (McGuire et al., 2014), desde entonces divergió en 363 especies que se distribuyen exclusivamente en América y están agrupadas en nueve clados: Topacios, Ermitaños, Mangos, Brillantes, Coquetos, Patagonas, Gemas, Abejitas y Esmeraldas (McGuire et al., 2014), siendo este último el más diverso con 110 especies (Stiles et al., 2017).

Precisamente, en Colombia, existen poblaciones de 105 especies de Esmeraldas, seis de ellas clasificadas dentro del género *Saucerottia*; de estas, dos son endémicas para el país, *Saucerottia castaneiventris* y *Saucerottia cyanifrons* (Ayerbe-Quiñones, 2024). Estas dos especies monotípicas (Hilty, 2021) se solapan en una porción al norte de la Cordillera oriental entre 400 a 2100 ms.n.m, en donde frecuentan y explotan hábitats similares para alimentación y nidificación (Ayerbe-Quiñones, 2022); pese a esto, presentan diferencias morfológicas y ecológicas notorias, además de la categoría de amenaza.

S. castaneiventris se distribuye en el Cañón del Chicamocha, en los departamentos de Boyacá y Santander, dónde realiza movimientos estacionales al parecer por la floración (Ayerbe-Quiñones, 2024). Presenta discrepancias en la categoría de amenaza, la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza la clasifica como especie Casi Amenazada (NT) (BirdLife International, 2019) mientras que el Libro rojo de aves de Colombia la considera En Peligro (EN)

(Renjifo *et al.*, 2016). Es conocida como colibrí ventricastaño, mide en promedio cerca de 9 cm, está asociada a árboles de la especie *Trichanthera gigantea*, aunque suele alimentarse en bromelias, *Salvia* y plantaciones de *Coffea arabica* (Cortés-Herrera, 2006; Hilty, 2021).

Por su parte, *S. cyanifrons* se distribuye en la vertiente oriental de la Cordillera Central y en la vertiente occidental de la Cordillera Oriental (Ayerbe-Quñones, 2024). Esta especie, conocida como colibrí frentiazul, según IUCN se considera de preocupación menor (LC) (BirdLife International, 2017), mide alrededor de 9 cm, está asociada al dosel de bordes de bosques, flores de *Inga* y *Erythrina* y bebederos artificiales (Hilty, 2021).

Los estudios científicos publicados de *S. castaneiventris* se han orientado a reportes de presencia (Cortés-Herrera *et al.*, 2004); aspectos de historia natural (Cortés-Herrera, 2006; Idrobo y Cortés, 2006); uso de recursos florales (Angarita-Báez y García-Ríos, 2011) y comportamiento, territorialidad y hábitos alimenticios (Díaz *et al.*, 2021). Sobre *S. cyanifrons*, se cuenta con trabajos de grado que avanzaron en analizar el cambio de cobertura del suelo sobre el área de distribución de la especie (Corredor, 2022); la interacción planta-colibrí en el fomento del cuidado y valoración de la biodiversidad (Ruíz, 2022) y un primer acercamiento al estudio de su diversidad genética (Celis, 2021). En consecuencia, la información recabada respecto a estudios de aspectos relacionados con la genética de estas especies es escasa o nula.

En la más reciente revisión de Trochilidae, Leimberger *et al.* (2022) destacan el declive en las poblaciones en el 60 % de las especies con datos disponibles. De hecho, es preocupante la tendencia de reducción del tamaño poblacional de *S. castaneiventris* (BirdLife International, 2019), aspecto que en *S. cyanifrons* no se ha cuantificado (BirdLife International, 2017). Una estrategia que acerque a dicho propósito consiste en estimar el tamaño efectivo de población (N_e) a partir de análisis genético poblacional.

En conservación de especies silvestres, estimar N_e es importante porque permite predecir si la población se verá afectada negativamente por acción de la deriva génica o la endogamia (Waples, 2002). Además, la diferencia en órdenes de magnitud entre N_e y el tamaño censal de la población (N) puede ser indicador de declive (Harmon y Braude, 2010; Waples, 2022), con consecuencias importantes debido a la pérdida de diversidad genética. En ese sentido, dado que el principal servicio ecosistémico que prestan los colibríes es la polinización (Izquierdo-Palma et al., 2021; Nates-Parra et al., 2021), su disminución poblacional repercutiría directamente en la salud de los ecosistemas y el bienestar humano (Nates-Parra et al., 2021).

Estudiar aspectos genético poblacionales en especies endémicas, por lo general candidatas a la extinción (Fattorini, 2017), por contar con poblaciones pequeñas y fragmentadas (Princée, 1986), debería redundar en acciones efectivas para su conservación. Lo anterior conllevaría a identificar la susceptibilidad frente a la deriva genética, pérdida y fijación de alelos, reducción del flujo genético y endogamia, con consecuencias como la pérdida del potencial evolutivo para hacer frente a la variación y estocasticidad ambiental y de la diversidad genética requerida por las especies y sus poblaciones para evitar la extinción (Frankham et al., 2004).

En este orden de ideas, es imperativo incluir a los colibríes dentro de esfuerzos globales y regionales de conservación; por ejemplo, en el departamento de Santander se cuenta con las ordenanzas N° 019 de 2015, que designó a *S. castaneiventris* como representante de la fauna del departamento, y N° 035 de 2025, que propone la creación de corredores ecológicos. Pese a estos esfuerzos, los mismos no incluyen evidencias técnico científicas que puedan extenderse a diferentes especies endémicas distribuidas en este departamento, entre estas *S. cyanifrons*; por tanto, la conservación de los colibríes en Colombia se limita al listado de especies que requieren

atención por su alto grado de endemismo, su afinidad por determinados hábitats y la destrucción del ecosistema (Ayerbe-Quiñonez, 2024).

Con base en lo presentado, se desconocen aspectos del estado genético poblacional de *S. castaneiventris* y *S. cyanifrons* que pueden ser relevantes al momento de formular planes de manejo y conservación de estas especies endémicas de colibríes. Por lo anterior, el presente estudio pretendió responder la pregunta: ¿son similares los valores de diversidad genética mitocondrial y el grado de diferenciación genética de las especies endémicas del género *Saucerottia* presentes en el departamento de Santander?, a objeto que los resultados sean tenidos en cuenta para la formulación de planes de manejo adecuados para estas especies.

Objetivos

2.1 Objetivo General

Determinar la diversidad genética a partir de secuencias de ADNmt de dos especies endémicas de colibríes del género *Saucerottia* distribuidas en el departamento de Santander.

2.2 Objetivos Específicos

Identificar haplotipos a partir de secuencias de genes mitocondriales, presentes en dos especies de colibríes del género *Saucerottia*.

Estimar parámetros de diversidad genética a partir de los haplotipos identificados en las especies consideradas en el estudio.

Establecer el grado de diferenciación genética de las dos especies endémicas de colibríes del género *Saucerottia* considerado.

3. Métodos

Este estudio contó con el Permiso Marco de Recolección otorgado por la *Autoridad Nacional de Licencias Ambientales* (ANLA) a investigadores de la *Universidad Industrial de Santander* (número de permiso: IDB0398 o 00994 de 29 de mayo de 2020). Con el permiso se pudo acceder, manipular y recolectar muestras biológicas de las aves capturadas con redes de niebla. Todos los procedimientos con aves fueron revisados y autorizados por el *Comité de Ética en Investigación Científica* (CEINCI) de la *Universidad Industrial de Santander*, como consta en el acta N° 08 del 15 de marzo de 2024.

3.1 Muestreo

El muestreo se realizó en localidades cercanas o al interior del Cañón del Chicamocha entre los departamentos de Santander y Boyacá, Colombia (Tabla 1, Figura 1). Las localidades muestreadas caracterizadas por la presencia de agroecosistemas están dominadas por cultivos bajo sombra, principalmente *Inga sp.*, de *Coffea arabica* (Aratoca, Piedecuesta y Los Santos), y *Theobroma cacao* (cacao) y *Musa sp.* (plátano) en San Vicente de Chucurí.

El esfuerzo de muestreo consistió en una salida de campo por localidad, con jornadas de 12 horas de trabajo diarias (5:30 h a 17:30 h) durante cinco días, excepto Jordán donde las condiciones climáticas y ambientales permitieron muestrear durante dos días. El esfuerzo de muestreo se cuantificó siguiendo lo descrito por Villarreal et al., (2004):

$$\text{Horas} - \text{Red} = \frac{\text{total metros redes}}{12 \text{ metros}} \times \text{total horas}$$

Tabla 1.*Esfuerzo de muestreo y número de muestras por especie por localidad*

Departamento	Localidades*	Altitud (ms.n.m.)	Ecosistema	Esfuerzo muestreo (horas)	Muestras <i>S.</i> <i>castaneiventris</i>	Muestras <i>S.</i> <i>cyanifrons</i>
Santander	Jordán	120	Xerofítico	105	3	0
	San Juan de Girón	130	Sub xerofítico	360	4	0
	San Vicente de Chucurí**	700	Agroecosistema	475	0	1
	Barichara	900	Potreros	360	0	0
	San Joaquín	920	Agroecosistema	420	0	0
	Los Santos**	1300	Agroecosistema	475	7	16
	El Hato**	1370	Agroecosistema	475	0	3
	Piedecuesta	1330	Agroecosistema	240	0	2
	Aratoca	1620	Agroecosistema	360	7	29
Boyacá	Soatá	1900	Sub xerofítico	180	23	10
Total				2025	44	61

*Hace referencia a los municipios donde se realizó. **Localidades muestreadas previo a este estudio.

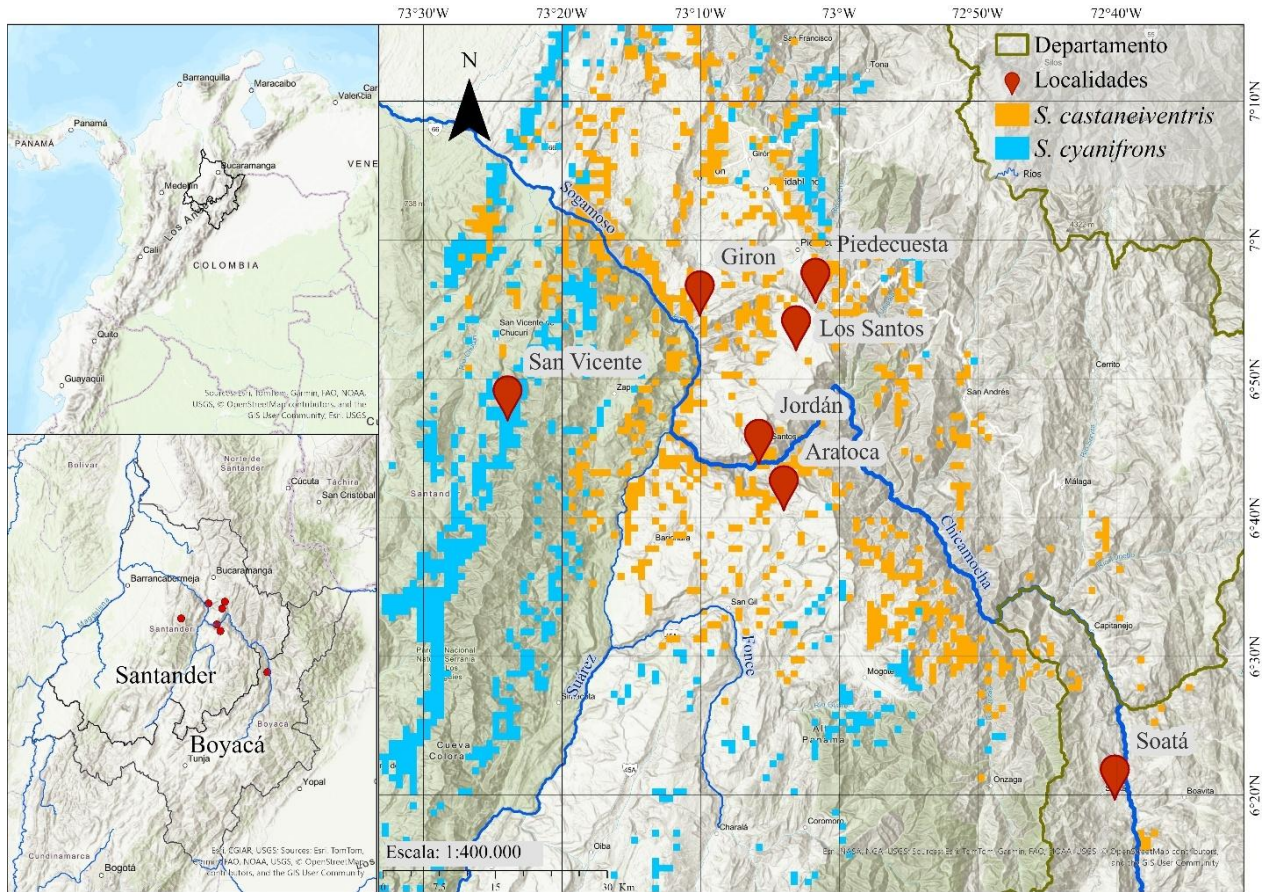
Las aves fueron capturadas con cinco redes de niebla de 12 x 2 m dispuestas en los ecotonos de los cultivos, bosque secundario, matorrales, ecosistemas xerofíticos y agroecosistemas mixtos donde se tenían registros de distribución y uso de hábitat de las especies consideradas (Ralph et al., 1996). La identificación de las aves se realizó siguiendo las guías de campo de (Ayerbe-Quiñones, 2019; Hilty, 2021).

De cada ave capturada se tomó una muestra de sangre que consistió entre 5 - 20 μ L extraídos de la vena yugular (Owen, 2011; Tell et al., 2021) mediante el uso de jeringas de insulina (capacidad 1 mL de volumen) con aguja de punta fija de 6 mm de longitud, posteriormente se marcaron los individuos al cortar un pequeño borde de una de las rectrices para evitar duplicados o recapturas (Tell et al., 2021).

La sangre se almacenó con un volumen idéntico de etanol absoluto en tubos de 1,5 mL que fueron rotulados con las dos primeras letras del epíteto genérico, las dos primeras letras del específico y el número consecutivo de captura.

Figura 1.

*Mapa de las localidades donde se recolectaron muestras de *S. castaneiventris* y *S. cyanifrons**



Nota. Los pixeles naranjas corresponden a la distribución de *S. castaneiventris* y los azules claros a *S. cyanifrons*. La distribución de cada especie corresponde a los descrito por Herrera et al., (2024). Fuente: elaboración propia / autor.

Las muestras fueron preservadas a 4 °C hasta su procesamiento en el Laboratorio de Genética y Biotecnología de la Universidad Industrial de Santander (LGyB-UIS). El estudio además incluyó ocho muestras de sangre de *S. castaneiventris* y cinco de *S. cyanifrons* recolectadas

previamente en Los Santos y San Vicente de Chucurí, durante la ejecución de un proyecto en el que participó personal adscrito al LGyB-UIS en 2017.

3.2 Procedimientos de laboratorio

Todos los procedimientos experimentales y análisis de resultados se realizaron en LGyB-UIS excepto la secuenciación de los genes evaluados. Esta se realizó en el Servicio de Secuenciación y Análisis Molecular de la Universidad Nacional de Colombia (SSiGMol).

3.2.1 Extracción y visualización de ADN

El ADN genómico total se extrajo utilizando el protocolo de fenol-cloroformo (Sambrook y Russell, 2001). El ADN total se cuantificó en espectrofotómetro *Nanodrop One* (Thermo Scientific) y se visualizó en geles de agarosa al 0,8 % con *EZ vision* (VWR Life Science) como agente intercalante. Después de obtener el ADN las muestras se diluyeron, cuando fue necesario, a una concentración final de ~ 20 ng/μL.

3.2.2 Amplificación de genes mitocondriales

Mediante reacción en cadena de la polimerasa de punto final (PCR) se amplificaron dos genes del ADN mitocondrial (ADNmt) de Aves. 1) Gen ATP sintasa 6 y ATP sintasa 8 (en adelante ATPasa6-8), amplificado con los cebadores L8929 (Sorenson *et al.*, 1999) y H9947 (Eberhard y Bermingham, 2004) y 2) gen de la subunidad 2 de la Nicotinamida adenina dinucleótido Deshidrogenasa (en adelante ND2), amplificado con los cebadores L5216 y H6313 (Sorenson, 2003).

Las reacciones de PCR (10 μL de volumen total) para el gen ATPasa6-8 contenían 1X tampón, 0,2 mM de cada dNTP, 1,22 U Taq polimerasa (Thermo Scientific), 3,0 mM de MgCl₂ y 0,20 mM de cada cebador. El protocolo consistió en denaturalización a 95 °C durante 2 minutos

(min), seguida de 40 ciclos que incluyen denaturalización a 92 °C por 40 s, hibridación a 50 °C durante 60 s y extensión a 73 °C durante 2 min, y una extensión final a 73 °C durante 3 min.

Las reacciones de PCR (10 µL de volumen total) para el gen ND2 contenían 1X tampón *Dream Taq Máster Mix* (Thermo Scientific) y 0,20 µM de cada cebador. Los parámetros de amplificación consistieron en denaturalización a 95 °C por 5 min, seguida de 35 ciclos que incluyen denaturalización a 95 °C durante 1 min, hibridación a 59,6 °C durante 60 s, 72 °C durante 60 s y una extensión final a 72 °C durante 5 min. Todas las reacciones se efectuaron en un termociclador 2720 (Applied Biosystems).

3.2.3 Separación de amplicones y secuenciación

Los productos de PCR se separaron en matrices de agarosa al 0,8 % usando *EZ vision* (VWR Life Sciencie) como agente intercalante y se visualizaron en un Fotodocumentador ENDURO GDS II (Labnet).

Los amplicones de los genes mitocondriales ATPasa6-8 (1100 pb) y ND2 (1050 pb) se enviaron al SSiGMol adscrito al Instituto de Genética de la Universidad Nacional de Colombia, donde fueron purificados y secuenciados bajo el método de Sanger con la química BigDye Terminator v3.1 (Applied Biosystems).

Los electroferogramas se visualizaron con el programa BioEdit V.7.2.5. (Hall, 1999) y las secuencias fueron comparadas y editadas a ojo con secuencias disponibles en GenBank. Para esto, se utilizó Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) que alineó las secuencias de referencia 1) KF640818 de *S. saucerotei* (99,20 % y 98,35 % de identidad) con las secuencias las secuencias obtenidas del gen ATPasa6-8 de *S. castaneiventris* y *S. cyanifrons*, respectivamente; 2) KF640818 de *S. saucerotei* (99,14 % de identidad) con las secuencias obtenidas del gen ND2 de *S. cyanifrons*

y 3) KJ602165 de *S. castaneiventris* (99,90 % de identidad) con las secuencias obtenidas del gen ND2 de *S. castaneiventris*.

3.3 Análisis de secuencias

A partir de las secuencias editadas y alineadas, se estimó con DnaSP v6 (Rozas et al., 2017) para cada gen: diversidad haplotípica, diversidad nucleotídica, número promedio de diferencias nucleotídicas y número de sitios polimórficos. Adicionalmente, se revisó la composición nucleotídica de cada gen en las dos especies estudiadas, como se encuentra implementado en Arlequin v3.5.2.2 (Excoffier y Lisher, 2010).

Las secuencias de los genes estudiados fueron concatenadas en una única matriz multilocus por especie en MEGA 12 (Kumar et al., 2024). La concatenación de marcadores mitocondriales está ampliamente respaldada en la literatura debido a que estos comparten herencia uniparental, ausencia de recombinación y una historia coalescente común, lo que permite tratarlos como un único locus efectivo (Avise, 2000; Ballard & Whitlock, 2004). El uso de matrices concatenadas incrementa la cantidad de sitios informativos y mejora la precisión en la estimación de parámetros filogenéticos y demográficos al reducir la varianza estocástica asociada a loci individuales (Rokas et al., 2003; Wiens, 1998).

Los haplotipos se infirieron a partir de las secuencias mediante el software Arlequin v3.5.2.2 (Excoffier y Lisher, 2010), obteniendo las frecuencias de cada haplotipo en las especies analizadas, obteniéndose las secuencias y frecuencias de cada haplotipo. Este procedimiento se aplicó tanto a los genes individualmente como al conjunto de datos concatenados.

Para cada especie de colibrí del género *Saucerottia* estudiada se evaluó la hipótesis de estructura bajo el supuesto que Santander y Boyacá presentan aislamiento por distancia. Este

planteamiento se sustenta en la compleja topografía andina del área de muestreo, caracterizada por valles profundos y sistemas montañosos que pueden limitar la dispersión y el flujo génico de los individuos. Adicionalmente, los registros de individuos de *S. castaneiventris* en la localidad de Soatá publicados por Cortés-Herrera et al., (2004), ampliaron el rango conocido de distribución de la especie, lo que llevó a que la UICN reconsiderara la categoría de amenaza de esta especie, dado que la nueva información sugiere que el área de distribución, la disponibilidad de hábitat y el tamaño de la población de la especie son mayores de lo que se suponía anteriormente. En este contexto, evaluar la estructura genética resulta relevante para comprender los patrones de conectividad dentro de su distribución. En particular, para *S. cyanifrons*, el estudio de Celis (2019) reportó niveles moderados de diferenciación genética dentro de Santander, lo que sugiere una posible estructuración poblacional asociada a la distancia geográfica y a la heterogeneidad del paisaje. Para esto se utilizó el programa Arlequin V3.5.2.2 (Excoffier y Lisher, 2010). Con este programa se realizaron comparaciones pareadas de los valores Φ_{ST} , ajustando a 10.000 permutaciones.

Redes de haplotipos de cada gen y de las secuencias concatenadas fueron construidas con el algoritmo *Median-Joining Network* (MJN) implementado en Network v10.2.0.4 (Bandelt et al., 1999). Este método identifica la red más corta que conecta todos los haplotipos e introduce nodos hipotéticos correspondientes a haplotipos no muestreados.

Para estimar el tamaño efectivo poblacional histórico por especie, las secuencias de cada gen y las concatenadas fueron evaluadas en jModelTest v1.1 (Posada, 2009) con el objetivo de identificar el modelo de sustitución más adecuado bajo los criterios AIC. Los modelos seleccionados se configuraron en la interfaz gráfica BEAUti v10.5.0 (Drummond y Rambaut, 2007). Con este programa se evaluó un reloj molecular estricto de 20 millones de generaciones

después de descartar un período de *burn-in* del 10%, y se calibraron arboles basados en las tasas medias de sustitución por sitio, por linaje y por millón de años (s/s/l/My) reportadas por Lerner et al., (2011).

Con el propósito de realizar inferencias demográficas orientadas a obtener información que pueda contribuir a la conservación de las especies de *Saucerottia* consideradas, y dado que la diversidad genética mitocondrial se ha aplicado con frecuencia en biología de la conservación (DeWoody et al. 2021 en (Fan et al., 2025)), se infirió el tamaño efectivo poblacional en Migrate V3.2.1 (Beerli et al., 2019). Para esto se estimaron valores diferenciados de Theta (θ), parámetro que representa el tamaño efectivo poblacional escalado por la tasa de mutación y se empleó la relación $\theta = 2Nf\mu$ siguiendo a Licona-Vera y Ornelas (2014), considerando como tiempo de generación para Throchillidae entre uno a cuatro años y tasas de mutación $\mu = 2,2 \times 10^{-2}$ s/s/l/My (ATPasa6-8) y $\mu = 2,9 \times 10^{-2}$ s/s/l/My (ND2). En cada corrida se utilizaron 20 millones de pasos muestreados, un millón registrados, 10 réplicas combinadas y un esquema de calentamiento estático con 4 cadenas, incluyendo un *burn-in* de 10 millones de pasos. Este análisis permite inferir el tamaño efectivo poblacional, calculado como $Ne = \frac{\theta}{x\mu}$, siendo $x = 1$; el número de migrantes efectivos por generación, computado como: $Ne m = \frac{\theta * M}{x}$ y la dirección del flujo genético por generación entre los departamentos de Santander y Boyacá, todos estos cálculos se realizaron en el software R versión 4.3.3 (R Core Team, 2024).

Los cambios históricos en el tamaño poblacional se estimaron mediante el modelo *Bayesian Skyline Plot* (BSLP) (Hill y Baele, 2019), implementado en BEAST v2.5 (Bouckaert et al., 2019). Este enfoque aplica un modelo de tamaño poblacional efectivo por intervalos (*piecewise*) y permite estimar la dinámica demográfica a lo largo del tiempo a partir de la distribución de genealogías coalescentes. Entrega como resultado archivos de salida (.log) que

permiten generar gráficos en Tracer v1.7.2 (Rambaut et al., 2018). El eje X de los BSLP se convirtió de sustituciones por sitio a tiempo absoluto utilizando tasas de mutación específicas de cada gen. Para ATPasa6-8 se utilizó una tasa de $2,2 \times 10^{-2}$ sustituciones por sitio por linaje por millón de años, mientras que para ND2 se aplicó una tasa de $2,9 \times 10^{-2}$. El tiempo en millones de años se calculó como $T = D/\mu$, donde D representa la distancia genética.

4. Resultados

Los resultados de este estudio se presentan en cuatro secciones. En el primer y segundo apartado se reportan los análisis genético-poblacionales que incluyen la composición de secuencias, las estimaciones de diversidad genética en diferentes niveles, la dirección del flujo genético, la evaluación de la estructura genética y la inferencia del tamaño efectivo poblacional actual e histórico de cada una de las especies consideradas. En el tercero, se amplían análisis para cada especie a partir de concatenar las secuencias de los genes considerados. En el cuarto y último se describen aspectos de historia natural de *S. castaneiventris* y *S. cyanifrons* documentados en las jornadas de trabajo de campo.

4.1 *Saucerottia castaneiventris*

4.1.1 *Muestras y secuencias de genes*

Un total de 40 muestras de ADN de *S. castaneiventris* fueron obtenidas, la concentración y pureza (relación A260 nm/A280 nm) se cuantificó en 100 ng/μL y 1,62 en promedio, respectivamente. Se obtuvieron productos amplificados del gen ATPasa6-8 en 38 muestras y en 40 del gen ND2. Después de la edición, los análisis genético poblacionales de esta especie se realizaron a partir de la información contenida en 36 secuencias del gen ATPasa6-8 (751 pb) y 37 del gen ND2 (1041 pb).

Todas las secuencias fueron depositadas en GenBank y estarán disponibles una vez se apruebe la publicación de los resultados en una revista indexada. Los números de acceso correspondientes a las secuencias inéditas de *S. castaneiventris* son gen ATPasa6-8: PX131342–PX131351 y gen ND2: PX205343–PX205351.

4.1.2 Análisis a partir de secuencias

La extensión de las secuencias obtenidas del gen ATPasa6-8 de *S. castaneiventris* incluye las posiciones 7833 a 8584 del mitogenoma de referencia KF624601.1 de *Chrysuronia (Amazilia) versicolor*. En total se identificaron 11 sustituciones, todas transiciones (Apéndice B).

Por su parte las secuencias obtenidas del gen ND2 se corresponden con las posiciones 3989 a 5030 del mitogenoma de referencia KF624601.1. En total se detectaron nueve sustituciones, cinco de ellas transversiones y cuatro transiciones. Se resalta el hecho que la primera sustitución nucleotídica se presenta en la posición 4850, es decir que los primeros 861 nucleótidos del gen ND2 de *S. castaneiventris* son conservados; además, en la posición 4998 se identificaron una transición y una transversión en diferentes muestras (Apéndice C).

4.1.2.1 Composición nucleotídica. La composición nucleotídica de los genes mitocondriales estudiados en *S. castaneiventris* fue similar, siendo Citocina la base más abundante (34,3 a 35,9 %) y las pirimidinas se encuentran en mayor proporción (hasta 61 %) respecto a las purinas (Apéndice D).

4.1.2.2 Haplotipos. Se identificaron 10 haplotipos ATPasa6-8 y nueve ND2, de estos H1_ATPScas se detectó en 12 muestras ($f = 0,33 \pm 0,080$) y H2_ND2Scas en 23 ($f = 0,622 \pm 0,081$), confiriéndolos como los haplotipos más frecuentes para cada gen analizado. Del total, cuatro haplotipos ATPasa6-8 y siete ND2, de esta especie de colibrí, presentan $f < 0,03$ (Tabla 2). La secuencia de referencia KJ602165 corresponde con el haplotipo H2_ND2Scas detectado en este estudio en nueve muestras de Santander y 14 de Boyacá.

Tabla 2.*Haplotipos de los genes mitocondriales ATPasa6-8 y ND2 de Saucerottia castaneiventris*

Locus	N	pb	Haplotipos	F	f	s.d.
ATPasa6-8	36	751	H1_ATPScas	12	0,33	0,080
			H2_ATPScas	4	0,11	0,053
			H3_ATPScas	6	0,17	0,063
			H4_ATPScas	2	0,06	0,039
			H5_ATPScas	6	0,17	0,063
			H6_ATPScas	2	0,06	0,039
			H7_ATPScas	1	0,03	0,028
			H8_ATPScas	1	0,03	0,028
			H9_ATPScas	1	0,03	0,028
			H10_ATPScas	1	0,03	0,028
ND2	37	1041	H1_ND2Scas	1	0,027	0,027
			H2_ND2Scas	23	0,622	0,081
			H3_ND2Scas	7	0,189	0,065
			H4_ND2Scas	1	0,027	0,027
			H5_ND2Scas	1	0,027	0,027
			H6_ND2Scas	1	0,027	0,027
			H7_ND2Scas	1	0,027	0,027
			H8_ND2Scas	1	0,027	0,027
			H9_ND2Scas	1	0,027	0,027

Nota. N: número de secuencias; pb: longitud en pares de bases; H: haplotipo; F: frecuencia absoluta; f: frecuencia haplotípica; d.s.: desviación estándar.

4.1.3 Diversidad y estructura genética

4.1.3.1 Diversidad haplotípica y nucleotídica. La diversidad haplotípica y la nucleotídica del gen ATPasa6-8 se estimó en $h=0,835 \pm 0,040$ y $\pi=0,002 \pm 0,002$, respectivamente; mientras que para el gen ND2, $h=0,578 \pm 0,09$ y $\pi=0,0008 \pm 0,002$, respectivamente (Tabla 3). Los valores de diversidad haplotípica y nucleotídica estimados a partir de las secuencias del gen ATPasa6-8, constituyen evidencia de un posible patrón de expansión demográfica reciente de *S. castaneiventris*.

4.1.3.2 Diferenciación y flujo genético. El AMOVA de cada gen evaluado reveló que el 100% de la variación genética de *S. castaneiventris* se encuentra dentro de las poblaciones, es decir los individuos (Apéndice E). Las estimas del parámetro Φ_{ST} (Tabla 3) evidencian que no hay estructura genética; por tanto, la especie constituye una sola población soportada por el valor pareado (Santander – Boyacá) de $F_{ST} = -0,025$; $p=0,712$.

Las pruebas de neutralidad evaluadas arrojaron de manera consistente valores negativos del estimador D de Tajima, siendo únicamente significativo el estimado para el gen ND2. Sin embargo, el parámetro FS de Fu resultó negativo con diferencias significativas ($p < 0,02$) en los dos loci (Tabla 3), lo que constituye evidencia de expansión demográfica reciente en la especie o el fenómeno denominado *genetic hitchhiking* o autostop genético.

Tabla 3.

Estimadores de diversidad, diferenciación genética y neutralidad de Saucerottia castaneiventris

Locus	N	Hd $\pm$ d.s.	$\pi \pm$ d.s.	Φ_{ST}	p	D Tajima $\pm$ d.s.	p	FS de Fu $\pm$ d.s.	p
ATPasa6-8	36	0,835 $\pm$ 0,040	0,002 $\pm$ 0,0002	-0,025	0,712	-0,099 $\pm$ 0,259	0,481	-25,999 $\pm$ 2,847	0,00**
ND2	37	0,578 $\pm$ 0,085	0,0008 $\pm$ 0,0002	-0,009	0,367	-1,598 $\pm$ 0,000	0,028*	-17,014 $\pm$ 0,000	0,00**

Nota. N: Hd: diversidad haplotípica; π : diversidad nucleotídica; d.s.: desviación estándar; Φ_{ST} : índice de diferenciación genética basado en secuencias; p: significancia estadística: *: $p < 0,05$; **: $p < 0,02$.

La ausencia de diferenciación encontrada sugiere flujo genético importante. Esto se corrobora con el análisis bayesiano implementado en Migrate v3.2.1 que mostró asimetría en el flujo genético de *S. castaneiventris*. En este sentido, la mediana posterior para el gen ATPasa6-8 se estimó como $\theta_{San} = 0,0267$ (IC95%: 0,00013–0,00960) y $\theta_{Boy} = 0,00550$ (IC95%: 0,0–0,01393), para Santander y Boyacá respectivamente (Tabla 4). Con estos valores se estimó el número de migrantes efectivos por generación $N_{em} > 75$ en la dirección Boyacá $\rightarrow$ Santander (Tabla 4). Del mismo modo, las estimaciones para el gen ND2 fueron $\theta_{San} = 0,0509$ (IC95%: 0,0–0,0006) y $\theta_{Boy} =$

0,0027 (IC95%: 0,0 – 0,025) y el número de migrantes efectivos por generación $N_{em} > 3$ en la dirección Santander $\rightarrow$ Boyacá (Tabla 4).

Los parámetros evaluados de θ presentaron valores de tamaño efectivo de muestra (ESS) superiores a 10.000, lo que indica que las estimaciones obtenidas son robustas y que las cadenas de Markov han convergido adecuadamente, garantizando la fiabilidad de los resultados.

Tabla 4.

Estimaciones bayesianas de los parámetros de flujo para dos loci mitocondriales

Locus	Parámetro	Mediana	IC 95 %	ESS	N_{em}
ATPasa6-8	θ_{San}	0,0267	0,0 – 0,009	303167	
	θ_{Boy}	0,0055	0,0 – 0,014	179220	
	$M_{Boy \rightarrow San}$	5683	0,0 – 2026	82583	75,87
	$M_{San \rightarrow Boy}$	1323	0,0 – 2300	38996	3,6
ND2	θ_{San}	0,0509	0,0 – 0,006	179574	
	θ_{Boy}	0,0027	0,0 – 0,025	107748	
	$M_{Boy \rightarrow San}$	6370	3900 – 9913	83788	162,12
	$M_{San \rightarrow Boy}$	870	0,0 – 3240	68498	1,17

Nota. IC: intervalos creíbles del 95 %; ESS: tamaño efectivo de muestra; N_{em} : número de migrantes por generación.

Las redes evidencian que los haplotipos H1_ATPScas y H2_ND2Scas están compartidos entre Santander y Boyacá, además seis haplotipos ATPasa6-8 (dos en Santander y cuatro en Boyacá) (Figura 2A) y siete haplotipos ND2 (cinco en Santander y dos en Boyacá) son exclusivos (Figura 2B).

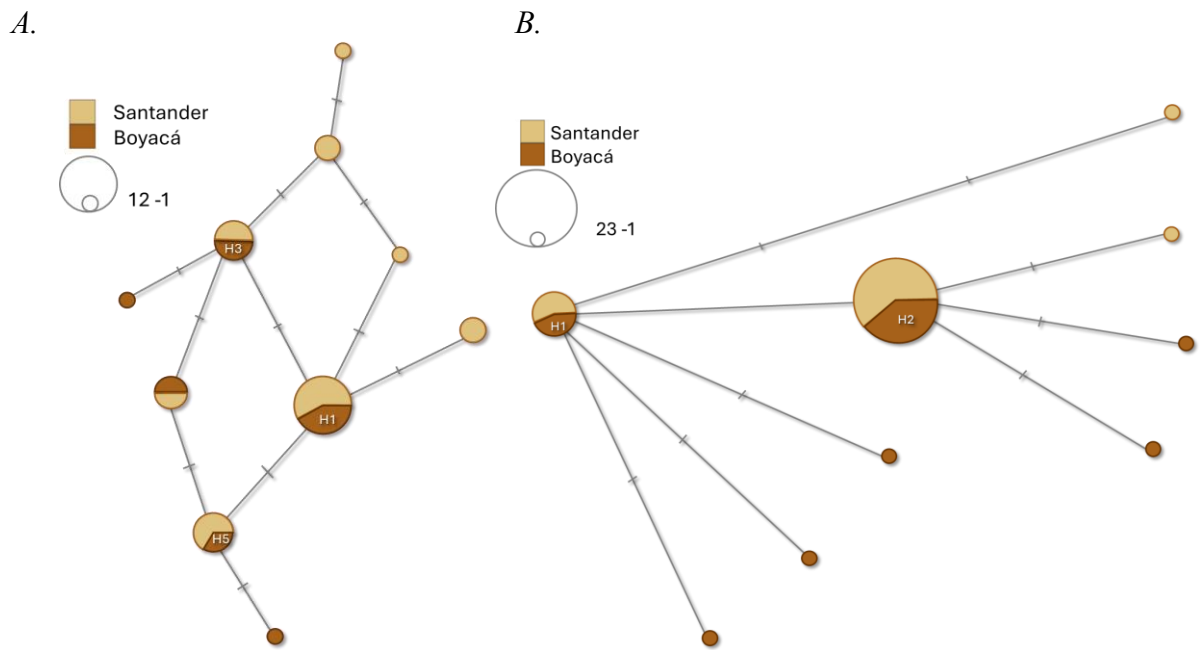
La red del gen ATPasa6-8 presenta a H1_ATPScas como haplotipo central del cual se irradian dos haplotipos únicos de Boyacá y dos compartidos (H3_ATPScas y H5_ATPScas) que dan origen a los haplotipos únicos de Santander (Figura 2A).

La red del gen ND2 denota que H2_ND2Scas es el haplotipo ancestral y a partir de este se origina H1_ND2Scas; estos dan origen a siete haplotipos de baja frecuencia, cinco de estos

detectados en Santander y dos en Boyacá (Figura 2B). Estos resultados contribuyen a soportar la ausencia de diferenciación en *S. castaneiventris* (Tabla 3).

Figura 2.

Redes de haplotipos Neighbor-joining (NJ) de secuencias génicas del ADNmt de Saucerottia castaneiventris.



Nota. (A) Red del gen ATP6-8 y (B) Red del gen ND2. Los diámetros de los círculos (nodos) son proporcionales a la frecuencia del haplotipo. Las marcas representan los pasos mutacionales que separan los diferentes haplotipos.

4.1.3.3 Tamaño efectivo poblacional. Las estimaciones de tamaño efectivo poblacional (N_e), para los genes mitocondriales ATP6-8 y ND2, mostraron valores mayores en las muestras de Santander comparadas con las de Boyacá (Tabla 5).

Adicionalmente, al comparar las estimaciones de N_e considerando diferentes tiempos generacionales de *S. castaneiventris*, se evidencia que: 1) existe una relación inversa entre N_e y la duración del tiempo generacional; es decir, por ejemplo, si un adulto reproductivo le tomase dos años en dejar descendencia la especie tendría menos de 1000 individuos reproductores al cabo de

dicho tiempo generacional; 2) la disminución de N_e ocurre en toda la población siendo más abrupta en Boyacá y 3) la estimación de N_e es menor a partir de secuencias ND2 que de secuencias ATPasa6-8, y más pronunciada en las dos localidades de estudio (Figura 3).

Tabla 5.

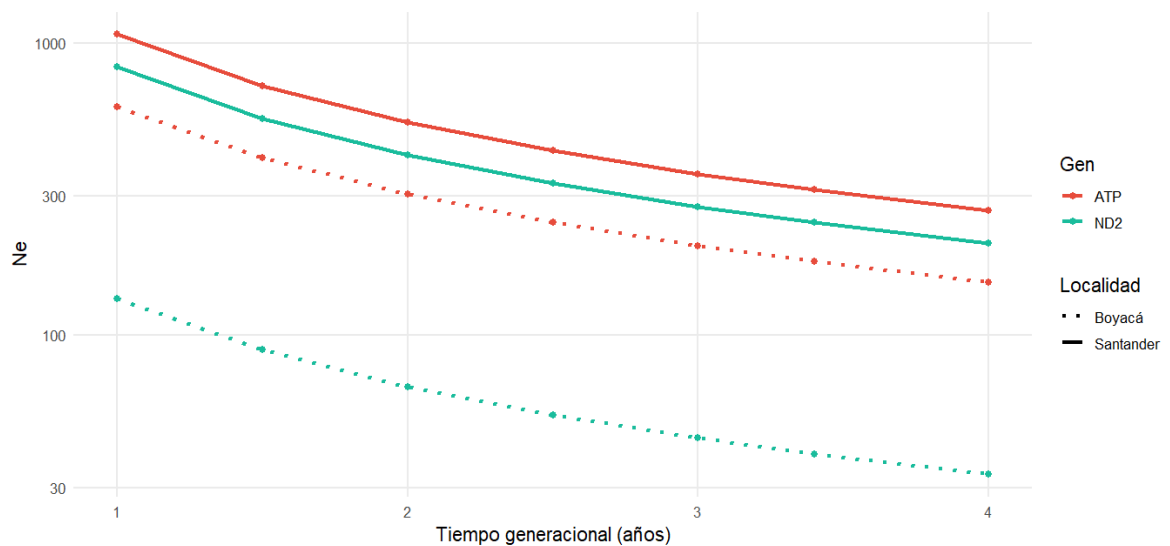
*Estimaciones de tamaño efectivo poblacional (N_e) de *Saucerottia castaneiventris* basadas en los loci mitocondriales ATPasa6-8 y ND2.*

Locus	N_e (Santander)	N_e (Boyacá)	Relación (San/Boy)
ATPasa6-8	1066	605	1,76×
ND2	824	133	6,2

Nota. N_e calculado como $\theta = 2N_e\mu$; las tasas de mutación de cada gen se tomaron de Licon-Vera y Ornelas (2014); los valores N_e redondeados a unidades de individuos efectivos.

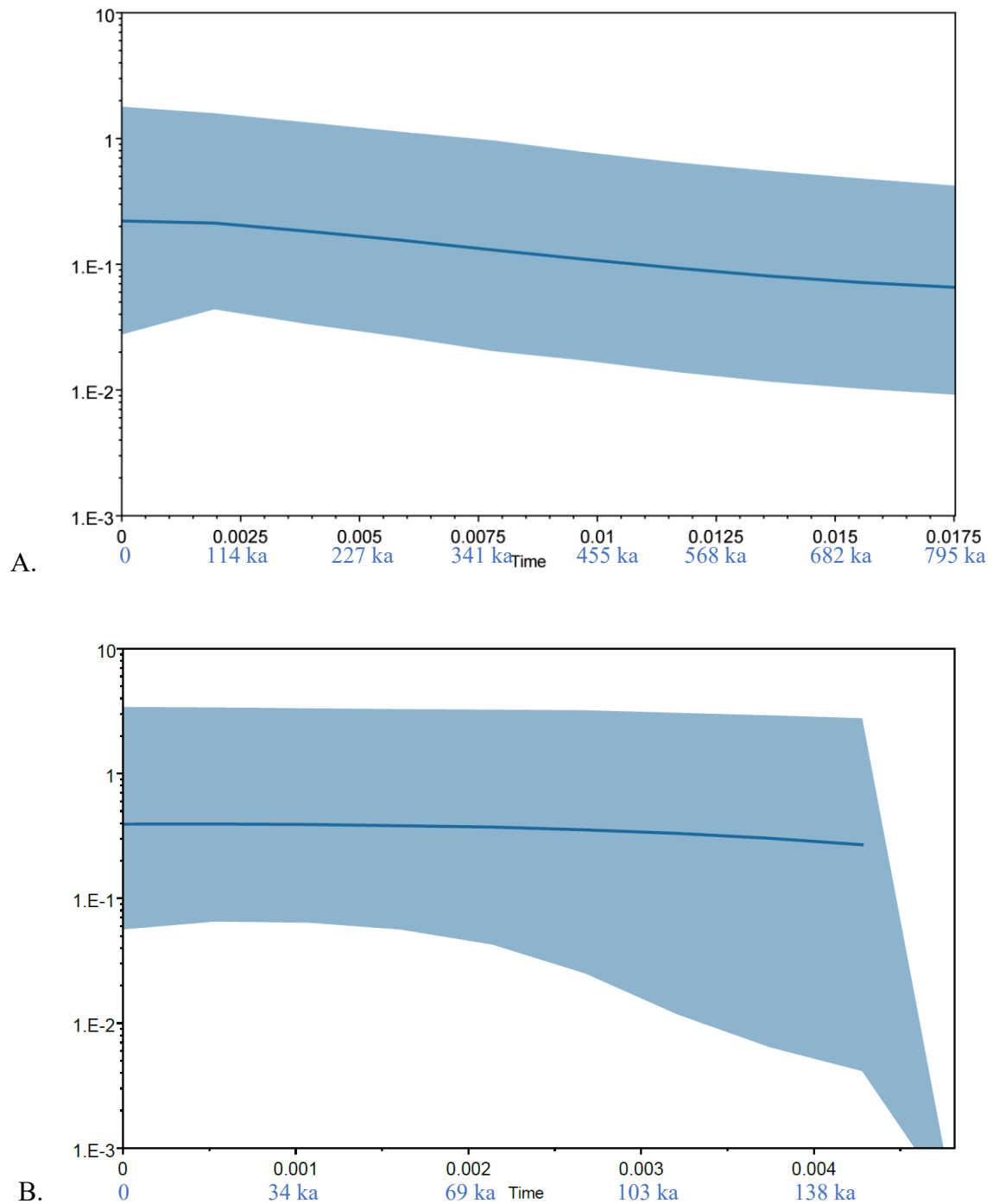
Figura 3.

*Relación entre el tamaño efectivo poblacional (N_e) y el tiempo generacional en *Saucerottia castaneiventris**



A partir de las estimas de N_e presentadas en la Tabla 5 se calculó la relación N_e/N , donde $N = 24120$ individuos, acorde con lo reportado por Rengifo et al., (2016). La mayor relación fue de 4,42% dada por el locus ATPasa6-8 en Santander y la menor fue de 0,55% para el gen ND2 en Boyacá. Este resultado indica que solo una fracción reducida del total de individuos contribuye efectivamente a la reproducción en *S. castaneiventris* (Apéndice F).

El análisis “*Coalescent Bayesian Skyline plot*” (BSLP) del gen ATPasa6-8 sugiere que la población de *S. castaneiventris* ha presentado leves fluctuaciones desde hace 114 mil años (Pleistoceno tardío), pese al tamaño poblacional reducido (Figura 4A). El patrón de leve fluctuación se identifica también a partir de las secuencias ND2, que permitió inferir la demografía desde hace 155 mil años (Pleistoceno tardío; Figura 4B).

Figura 4.*Tamaño efectivo poblacional histórico de Saucerottia castaneiventris (BSLP)*

Nota. A: Gen ATP6a6-8; B: Gen ND2. Eje Y: tamaño de la población estimado como unidades de $N_e\mu$ (N_e : tamaño efectivo de la población, μ : tasa de mutación por generación). Eje X: tiempo hacia atrás. Ka: Miles de años. Las líneas continuas representan estimaciones medianas y las áreas sombreadas representan intervalos de confianza al 95 %.

4.2 *Saucerottia cyanifrons*

4.2.1 *Muestras y secuencias de genes*

Un total de 42 muestras de ADN de *S. cyanifrons* con concentraciones y pureza similar a las descritas para *S. castaneiventris*, fueron extraídas. Se obtuvieron productos amplificados de 40 muestras y posterior a la edición los análisis genético poblacionales de esta especie se realizaron a partir de la información contenida en 37 secuencias del gen ATPasa6-8 (751 pb) y 27 del gen ND2 (1041 pb).

Todas las secuencias fueron depositadas en GenBank y estarán disponibles una vez se apruebe la publicación de los resultados en una revista indexada. Los números de acceso correspondientes a las secuencias inéditas de *S. cyanifrons* son gen ATPasa6-8: PX557856 - PX557871 y gen ND2: PX437265 - PX437283.

4.2.2 *Análisis a partir de secuencias*

La extensión de las secuencias obtenidas del gen ATPasa6-8 de *S. cyanifrons* incluye las posiciones 7833 a 8584 del mitogenoma de referencia KF624601.1 secuenciado de *Chrysuronia (Amazilia) versicolor*. En total se identificaron 25 sustituciones, 24 transiciones y una transversión (Apéndice G).

Por su parte las secuencias obtenidas del gen ND2 se corresponden con las posiciones 3989 a 5030 del mitogenoma de referencia KF624601.1. En total se detectaron ocho transiciones (Apéndice H).

4.2.2.1 Composición nucleotídica. La composición nucleotídica de los genes mitocondriales estudiados fue similar a lo descrito para *S. castaneiventris*, siendo Citocina la base más abundante (34,95 a 35,84%) y las pirimidinas se encuentran en mayor proporción (hasta 60%) respecto a las purinas (Apéndice D).

4.2.2.2 Haplotipos. Se identificaron 16 haplotipos ATPasa6-8 y siete ND2, de estos H4_ATPScya se detectó en nueve muestras ($f = 0,243 \pm 0,071$) y H3_ND2Scya en 14 ($f = 0,519 \pm 0,097$), confiriéndolos como los haplotipos más frecuentes para cada gen analizado. Del total, 11 ATPasa6-8 y tres ND2 se detectaron en un individuo con frecuencias de 0,027 y 0,037 respectivamente (Tabla 6).

Tabla 6.

Haplotipos de los genes mitocondriales ATPasa6-8 y ND2 de Saucerottia cyanifrons

Gen	N	pb	Haplotipos	F	f	s.d.
ATPasa6-8	37	751	H1_ATPScya	5	0,135	0,056
			H2_ATPScya	1	0,027	0,027
			H3_ATPScya	1	0,027	0,027
			H4_ATPScya	9	0,243	0,071
			H5_ATPScya	1	0,027	0,027
			H6_ATPScya	6	0,162	0,061
			H7_ATPScya	4	0,108	0,051
			H8_ATPScya	1	0,027	0,027
			H9_ATPScya	1	0,027	0,027
			H10_ATPScya	1	0,027	0,027
			H11_ATPScya	1	0,027	0,027
			H12_ATPScya	2	0,054	0,037
			H13_ATPScya	1	0,027	0,027
			H14_ATPScya	1	0,027	0,027
			H15_ATPScya	1	0,027	0,027
			H16_ATPScya	1	0,027	0,027
ND2	27	1041	H1_ND2Scya	6	0,222	0,081
			H2_ND2Scya	2	0,074	0,051
			H3_ND2Scya	14	0,519	0,097
			H4_ND2Scya	2	0,074	0,051
			H5_ND2Scya	1	0,037	0,037

H6 ND2Scya	1	0,037	0,037
H7 ND2Scya	1	0,037	0,037

Nota. N: número de secuencias; pb: longitud en pares de bases; H: haplotipo; F: frecuencia absoluta; *f*: frecuencia haplotípica; d.s.: desviación estándar.

4.2.3 Diversidad y estructura genética

4.2.3.1 Diversidad haplotípica y nucleotídica. La diversidad haplotípica y la nucleotídica del gen ATPasa6-8 se estimó en $h=0,898 \pm 0,03$ y $\pi=0,009 \pm 0,0015$, respectivamente; mientras que para el gen ND2 como $h=0,692 \pm 0,080$ y $\pi=0,0010 \pm 0,00027$, respectivamente (Tabla 7). Los valores de diversidad haplotípica y nucleotídica estimados para secuencias del gen ATPasa6-8, constituyen evidencia de un posible patrón de expansión demográfica reciente de *S. cyanifrons*.

4.2.3.2 Diferenciación y flujo genético. El AMOVA mostró que el 87,15 % de la variación genética de *S. cyanifrons* se encuentra dentro de la población (Apéndice I). Además, hay discrepancias en cuanto a la diferenciación genética: el gen ATPasa6-8 ($\Phi_{ST} = 0,12846$; $p > 0,0625$) denota moderada y la información del gen ND2 ($\Phi_{ST} = -0,015$; $p = 0,5$) sugiere que no presenta diferenciación (Tabla 7). *S. cyanifrons* se puede considerar como una sola población soportado por el valor pareado de $F_{ST}=-0,01577$; $p=0,527$.

Las pruebas de neutralidad evaluadas arrojaron valores positivos sin significancia estadística en ATPasa6-8 y valores negativos sin significancia estadísticas en ND2 del parámetro D de Tajima, mientras que la prueba FS de Fu resultó de manera consistente negativa con diferencias significativas ($p<0,02$) en los dos loci (Tabla 7), lo que posiblemente constituye evidencia de expansión demográfica reciente en la especie o el fenómeno denominado *genetic hitchhiking* o autostop genético.

Tabla 7.*Estimadores de diversidad, diferenciación genética y neutralidad de Saucerottia cyanifrons*

Locus	N	Hd $\pm$ s.d.	$\pi \pm$ s.d.	Φ_{ST}	p	D Tajima $\pm$ d.s.	p	FS de Fu $\pm$ d.s.	p
ATPasa6-8	37	0,898 $\pm$ 0,03	0,009 $\pm$ 0,001	0,127	0,062	0,491 $\pm$ 0,851	0,480	-16,106 $\pm$ 10,395	0,00**
ND2	27	0,69 $\pm$ 0,08	0,001 $\pm$ 0,000	-0,015	0,530	-1,157 $\pm$ 0,618	0,151	-19,469 $\pm$ 14,16	0,00**

Nota. N: número de secuencias. Hd: diversidad haplotípica; π : diversidad nucleotídica; d.s.: desviación estándar; Φ_{ST} : índice de diferenciación genética basado en secuencias; p: significancia estadística; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,02$.

La diferenciación genética detectada con el gen ATPasa6-8 sugiere flujo genético restringido. Esto se corrobora con el análisis implementado en Migrate v3.2.1, que mostró asimetría en el flujo genético de *S. cyanifrons*. En este sentido la mediana posterior para el gen ATPasa6-8 se estimó como $\theta_{San} = 0,055$ (IC95%: 0,1460 – 0,09953) y $\theta_{Boy} = 0,005$ (IC95%: 0,0 – 0,09953), para Santander y Boyacá respectivamente. Con esto valores se estimó el número de migrantes efectivos por generación $N_m > 62$ Boyacá $\rightarrow$ Santander (Tabla 8). Del mismo modo, las estimaciones para el gen ND2 fueron $\theta_{San} = 0,048$ (IC95%: 0,005 – 0,069) y $\theta_{Boy} = 0,001$ (IC95%: 0,000 – 0,003) y el número de migrantes efectivos por generación $N_m > 1$ en la dirección Santander $\rightarrow$ Boyacá (Tabla 8).

Los parámetros evaluados de θ presentaron valores de tamaño efectivo de muestra (ESS) superiores a 10.000 esto indica que las estimaciones obtenidas son robustas y que las cadenas de Markov han convergido adecuadamente, garantizando la fiabilidad de los resultados.

Tabla 8.*Estimaciones bayesianas de los parámetros de flujo para dos loci mitocondriales*

Loci	Parámetro	Mediana	IC 95 %	ESS	N _m
ATPasa6-8	θ_{San}	0,055	0,014 – 0,099	492400	
	θ_{Boy}	0,005	0,000 – 0,006	294006	
	$M_{Boy \rightarrow San}$	4557	1793 – 7860	149560	62
	$M_{San \rightarrow Boy}$	870	0,0 – 2367	96346	1,08
ND2	θ_{San}	0,048	0,005 – 0,069	650325	
	θ_{Boy}	0,001	0,000 – 0,003	511405	
	$M_{Boy \rightarrow San}$	6877	3913 – 9993	371329	81,8
	$M_{San \rightarrow Boy}$	1223	0,0 – 3353	226458	0,50

Nota. IC: intervalos creíbles del 95 %; ESS: tamaño efectivo de muestra; N_m: número de migrantes por generación.

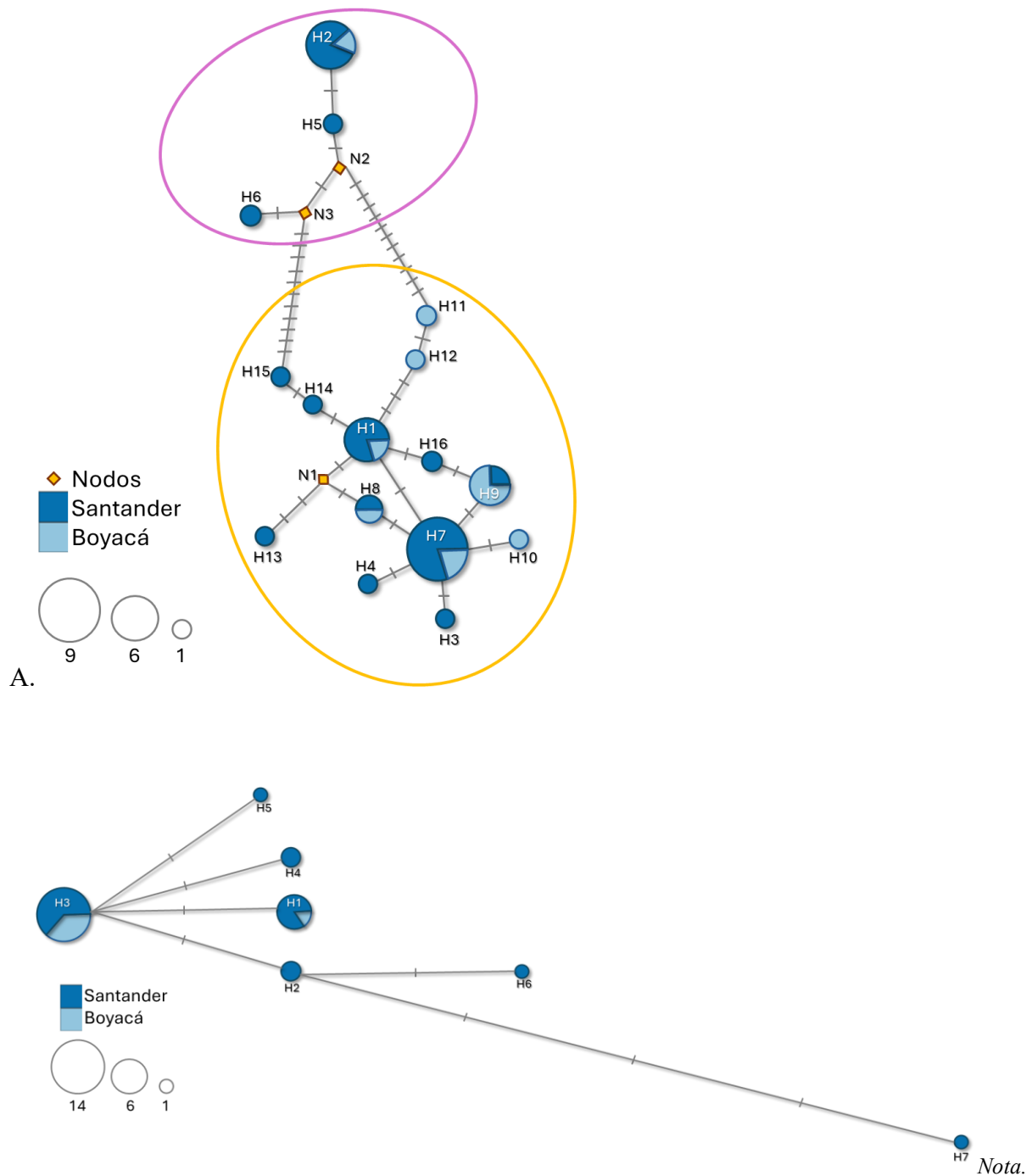
Las redes evidencian que los haplotipos H1_ATPScya; H2_ATPScya; H7_ATPScya H8_ATPScya, H9_ATPScya; H1_ND2Scya y H3_ND2Scya; están compartidos entre Santander y Boyacá, además, 11 haplotipos ATP (ocho en Santander y tres en Boyacá), conjuntamente se detectaron tres nodos hipotéticos (Figura 5A) y cinco haplotipos ND2 en Santander son exclusivos (Figura 5B).

En cuanto a la asociación de haplotipos, las secuencias del gen ATPasa6-8 se dividen en dos haplogrupos separados por 11 cambios mutacionales. El haplogrupo en estrella (naranja) contiene el haplotipo H1_ATPScya que da origen a H7_ATPScya y otros 10 haplotipos de baja frecuencia seis de Santander y tres únicos en Boyacá. El segundo haplogrupo (morado) contiene a H2_ATPScya, que da origen a dos haplotipos de baja frecuencia todos exclusivos de Santander (Figura 5A). Este agrupamiento puede brindar soporte adicional a la diferenciación genética dada por el parámetro Φ_{ST} (Tabla 7).

La red de haplotipos ND2 exhibe en la topología radial en la que a partir de H3_ND2Scya se originan todos los haplotipos separados por máximo tres eventos mutacionales (Figura 5B).

Figura 5.

*Redes de haplotipos Neighbor-joining (NJ) de secuencias de ADNmt de *Saucerottia cyanifrons**



Nota. (A) ATPase6-8 y (B) ND2. Los diámetros de los círculos (nodos) son proporcionales a la frecuencia del haplotipo. Las marcas representan los pasos mutacionales que separan los haplotipos.

4.2.3.3 Tamaño efectivo poblacional. Las estimaciones de N_e para los genes mitocondriales ATPasa6-8 y ND2, muestran mayor tamaño efectivo relativo en Santander respecto a Boyacá, presentándose una diferencia de al menos 29 veces mayor (Tabla 9).

Tabla 9.

*Estimaciones de tamaño efectivo poblacional (N_e) de *Saucerottia cyanifrons* basadas en loci mitocondriales ATPasa6-8 y ND2*

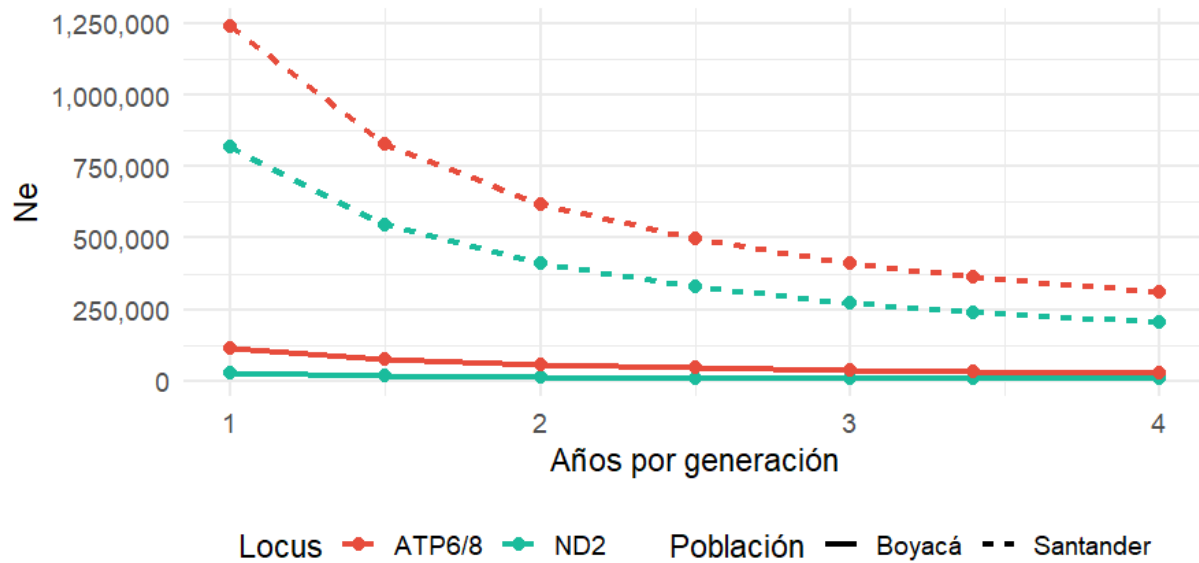
Locus	N_e (Santander)	N_e (Boyacá)	Relación (San/Boy)
ATPasa6-8	1'238.636	112.954	11×
ND2	820.172	28.103	29×

Nota. N_e calculado como $\theta = 2N_e\mu$; las tasas de mutación de cada gen se tomaron de Licon-Vera y Ornelas (2014); los valores N_e redondeados a unidades de individuos efectivos.

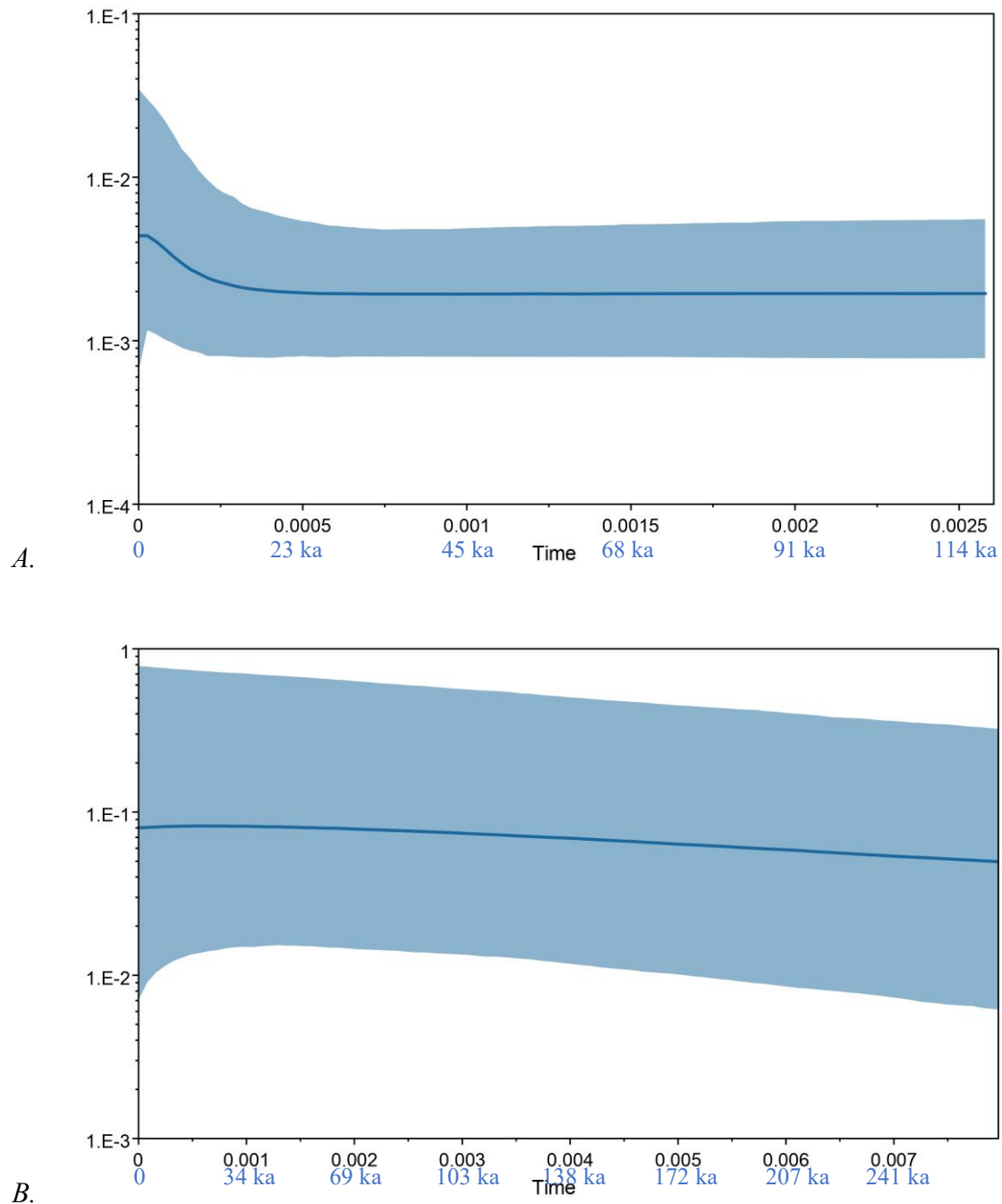
Adicionalmente, al comparar las estimaciones de N_e considerando diferentes tiempos generacionales de *S. cyanifrons*, se evidencia que: 1) existe una relación inversa entre N_e y la duración del tiempo generacional, es decir, por ejemplo, si los adultos reproductivos les tomase dos años en dejar descendencia la especie tendría entre 410.086 a 14.051 reproductores al cabo de dicho tiempo generacional; 2) la disminución de N_e ocurre en toda la población siendo más abrupta en Santander; y 3) el gen ATP muestra disminución más pronunciada en las dos localidades de estudio (Figura 6).

Figura 6.

*Relación entre el tamaño efectivo poblacional (N_e) y la duración generacional en *Saucerottia cyanifrons**



El análisis mediante el método “*Coalescent Bayesian Skyline plot*” de las secuencias del gen ATP6-8 indica que *S. cyanifrons* experimentó un incremento poblacional relativamente reciente, alrededor de hace 12 mil años; antes de ese periodo, su tamaño se mantuvo estable durante aproximadamente 114 mil años, lo que corresponde al Pleistoceno tardío (Figura 7A). Por otro lado, los datos del gen ND2 muestran una tendencia poblacional estable a lo largo del tiempo hasta cerca de 259 mil años, es decir, durante el Pleistoceno medio a tardío (Figura 7B).

Figura 7.*Tamaño efectivo poblacional histórico de Saucerottia cyanifrons (BSLP)*

Nota. A: Gen ATP6-8; B: Gen ND2. Eje Y: tamaño de la población estimado como unidades de $N_e\mu$ (N_e : tamaño efectivo de la población, μ : tasa de mutación por generación). Eje X: tiempo hacia atrás. Las líneas continuas representan estimaciones medianas y las áreas sombreadas representan intervalos de confianza al 95%.

4.3 Análisis a partir de secuencias concatenadas

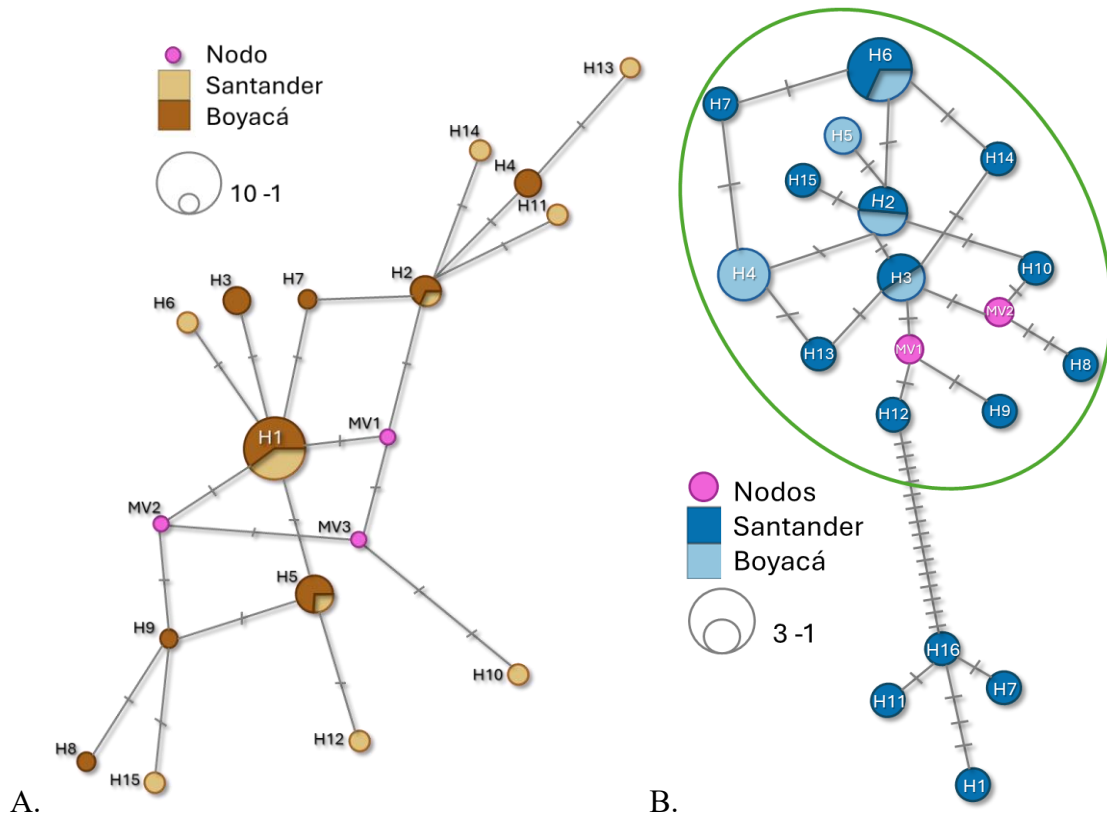
Al concatenar las secuencias de los genes considerados en el estudio, se obtuvieron secuencias de 1792 pb. A continuación, se describen los resultados genético poblacionales de *S. castaneiventris* y *S. cyanifrons*.

4.3.1 Diversidad y estructura genética

El análisis de 31 secuencias de *S. castaneiventris* permitió detectar 14 sitios polimórficos; los haplotipos identificados en esta especie de colibrí ascienden a 15 (Figura 8A) y se recuperaron tres nodos hipotéticos. El haplotipo más frecuente es H1_Scas, detectado en 10 muestras ($f=0,323\pm0,085$), mismo número de muestras dónde fueron detectados los haplotipos de menor frecuencia ($f=0,032\pm0,032$). La diversidad haplotípica se estimó en $Hd=0,863 \pm 0,059$ y la diversidad nucleotídica, a partir de estas secuencias, en $\pi=0,00102\pm0,00015$.

Para el caso de *S. cyanifrons*, se analizaron 22 secuencias en las que se detectaron 30 sitios polimórficos. Un total de 15 haplotipos y dos nodos hipotéticos se identificaron en esta especie de colibrí (Figura 8B). El haplotipo H6_Scya se detectó en tres muestras ($f=0,136\pm0,074$), siendo el más frecuente, en cambio los haplotipos con menor frecuencia ($f=0,045\pm0,045$) se detectaron en 13 muestras. Respecto a la diversidad haplotípica se determinó como $Hd=0,933\pm0,122$ y la diversidad nucleotídica $\pi=0,00086\pm0,00015$.

La red de haplotipos de *S. castaneiventris* evidencia un haplogrupo con H1_Scas como haplotipo central (Figura 8A). Para el caso de *S. cyanifrons*, se recuperaron dos haplogrupos separados por 15 pasos mutacionales (Figura 8B); el haplogrupo 1 contiene haplotipos compartidos entre Santander y Boyacá y el haplogrupo 2 únicamente contiene haplotipos identificados en Santander. Este último hallazgo brinda soporte adicional a la diferenciación moderada estimada ($\Phi_{ST}=0,127$) para secuencias del gen ATPasa6-8.

Figura 8.*Redes de haplotipos*

Las pruebas de neutralidad indicaron valores negativos del estimador D de Tajima (*S. castaneiventris* $D=-1,175$; *S. cyanifrons* $D=-0,242$) aunque no significativos ($p>0.05$). En contraste, el parámetro FS de Fu presentó significancia estadística (*S. castaneiventris* $FS=-26,782$; *S. cyanifrons* $FS=-17,395$; $p=0$), lo que sugiere exceso de haplotipos raros en las especies analizadas.

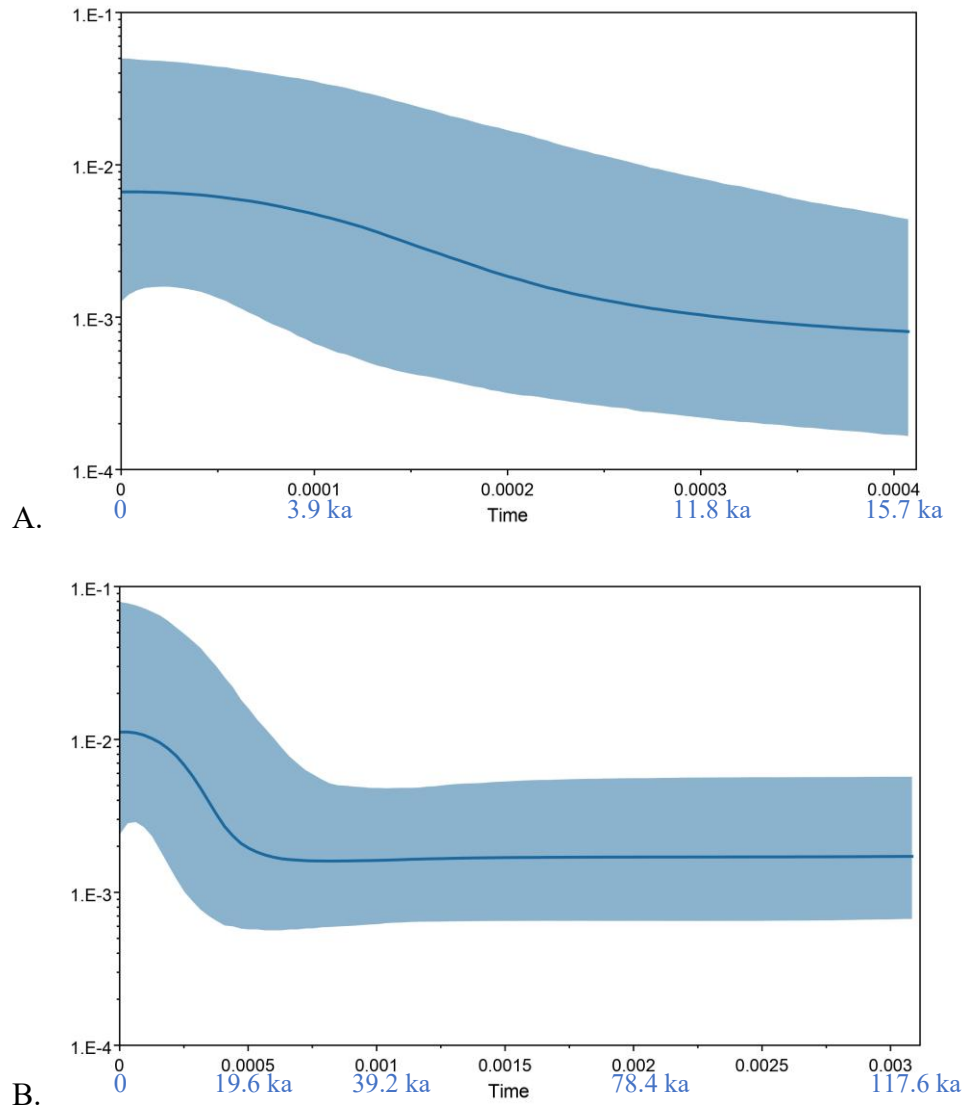
4.3.2 Tamaño efectivo poblacional histórico

La historia demográfica inferida para *S. castaneiventris* abarca aproximadamente cerca de los últimos 16 mil años, tiempo en el cual ha incrementado levemente N_e (Figura 9A); mientras

que para *S. cyanifrons* se evidencia señales demográficas remontadas a hace 120 mil años (Figura 9B), dentro del Pleistoceno tardío, denotando el incremento de N_e en los últimos 20 mil años.

Figura 9

Tamaño efectivo poblacional histórico (BSLP)



4.4 Aspectos de historia natural

En la búsqueda de sitios de muestreo se visitó Onzaga (Santander) a mediados de noviembre de 2023. En la vereda Siachia (1900 ms.n.m.) se observaron individuos de las especies

S. castaneiventris y *S. cyanifrons* en actividad reproductiva a menos de 20 metros una de la otra. *S. castaneiventris* construyó un nido en forma de copa, con abertura hacia arriba, sobre ramas bajas de arbustos, y presumiblemente, el macho transportaba frecuentemente alimento hacia este. *S. cyanifrons* nidificó sobre las ramas de *Scallonia pendula*, árbol ubicado en terreno abierto a tres metros de un riachuelo.

En todas las localidades de muestreo se registraron observaciones de comportamiento de las especies que se describen a continuación. Se detectó la coexistencia de *S. castaneiventris* y *S. cyanifrons* en cuatro localidades: Soatá, Aratoca, Piedecuesta y Barichara. En general, *S. castaneiventris* se avistó en áreas de cafetal alejadas de las viviendas y jardines, y utiliza principalmente recursos alimenticios y de percha árboles de *Inga sp.* En contraste, *S. cyanifrons* se avistó compitiendo con otras especies de colibríes en jardines y cafetales, y utiliza ocasionalmente la floración de *Coffea arabica* como recurso alimenticio (hecho observado en Piedecuesta).

Diferentes especies de colibríes fueron abundantes en Aratoca, cerca del 92% de las aves capturadas correspondieron a este grupo, coincidiendo con la floración de *Inga sp.* entre marzo y abril. Este hallazgo, sumado a observaciones previas realizadas en octubre (cuando predominó la familia *Thraupidae*), sugiere que las especies de *Saucerottia* endémicas realizan movimientos migratorios motivados por el recurso alimenticio. En esta localidad, las capturas solo se produjeron durante desplazamientos repentinos o enfrentamientos territoriales que involucraban individuos de las especies de interés, ya que los colibríes evitaban con facilidad las redes de niebla.

En las localidades al interior del Cañón del Chicamocha (Jordán, Girón y Soatá), los colibríes fueron menos abundantes. En Jordán, solo se capturaron tres individuos de *S. castaneiventris* mientras buscaban recurso alimenticio. A propósito, las especies vegetales

visitadas por el colibrí ventricastaño corresponden con *Aloe vera*, *Justicia bracteosa*, *J. erythrantha*, *Trichanthera gigantea*, *Melocactus pescaderensis* y *Opuntia schumannii*, así como de otras pertenecientes a las familias Acanthaceae, Xanthorrhoeaceae y Cactaceae (Fajardo et al., 2015). El pico de actividad se estableció entre las 6:00 y 9:00 h, seguido de un periodo de inactividad durante las horas de mayor calor en el día.

En Lebrija y Soatá diferentes especies de colibríes, incluidas las de interés, fueron capturadas en distintos momentos del día, como consecuencia de alterar el patrón de actividad por tener alimento disponible permanente (fuentes artificiales). A diferencia de los ambientes naturales, en estas localidades se evidenciaron entre tres a 50 bebederos que son llenados diariamente, y se registró actividad continua de los colibríes, extendiéndose a horarios poco habituales. Por ejemplo, en Soatá se observó a las especies *S. castaneiventris*, *S. cyanifrons*, *Colibri coruscans*, *Chlorostilbon gibsoni* y *Amazilia tzacatl* compitiendo por los bebederos, durante todo el día pese al hecho que la temperatura ambiental incrementó hasta 27 °C. En Lebrija se hizo registro de alimentación inusual, extendiéndose hasta las 20:00 h, de individuos de las especies *Florisuga mellivora*, *Phaethornis anthophilus*, *P. striigularis* y *A. tzacatl*. En Barichara se observó que las especies de interés evitaron con facilidad las redes de niebla, pese a que fueron ubicadas rodeando árboles en floración de *Bauhinia forficata*.

En general, el esfuerzo total del muestreo consistió en 2.025 horas/red y se obtuvo la recolección de 34 muestras sanguíneas de *S. castaneiventris* y 70 de *S. cyanifrons* (Apéndice A).

5. Discusión

Este es el primer estudio que genera conocimiento genético poblacional de *Saucerottia castaneiventris*, además aporta información novedosa de *S. cyanifrons*, especies de colibríes endémicas de Colombia.

Diversidad genética

A partir del análisis de secuencias de los genes mitocondriales estudiados se identificó en *S. cyanifrons* lo planteado por Fan et al., (2025), en el sentido que la diversidad genética en vertebrados tiende a aumentar con el tamaño del área de distribución, especialmente en Aves; aspecto no apreciado en *S. castaneiventris* dado su limitada área de distribución (9.648 Km²). De hecho, la diversidad haplotípica de las especies aquí estudiadas presenta estimas altas, mientras que la diversidad nucleotídica es la más baja con respecto a otras especies de Trochilidae (Tabla 10).

Tabla 10.

Parámetros de diversidad genética a partir de ADNmt en diferentes especies de Trochilidae.

Especie	País / Región	Marcadores	n	H	h	π	Referencia
Trochilidae norte de los Andes							
<i>Saucerottia castaneiventris</i>	Andes nororientales, Colombia	ATPasa6-8 + ND2	37	15	0,863	0,00102	Este estudio
<i>Saucerottia cyanifrons</i>	Andes nororientales, Colombia	ATPase6-8 + ND2	39	15	0,933	0,00086	Este estudio
<i>Saucerottia cyanifrons</i>	Andes nororientales, Colombia	ND2	65	39	0,973	0,00515	Celis (2021)
<i>Adelomyia melanogenys</i>	Andes nororientales, Ecuador	ATPasa					
clado A	Andes centrales		22	10	0,749	0,00449	Chaves et al. (2011)
clado B	Andes centrales		32	15	0,921	0,00532	
clado C Andes	Andes del norte		40	14	0,847	0,00206	

clado C Ecuador	Andes del norte		13	9	0,872	0,00221	
clado D	Andes		62	44	0,847	0,00975	
clado E	Andes		14	8	0,868	0,02231	
clado F	Andes		7	5	0,905	0,019	
<i>Coeligena bonapartei</i>	Andes nororientales, Colombia	Mitogenoma completo	22	—	—	0,00249	Palacios et al. (2023)
<i>Coeligena helianthea</i>	Andes nororientales, Colombia	Mitogenoma completo	20	—	—	0,00218	
Trochilidae fuera del norte de los Andes							
<i>Polytmus theresiae</i>	Amazonas	ND2	57	12	0,43	0,05%	Matos et al. (2016)
<i>Amazilia viridifrons</i>	Mesoamérica, México	ND2 + ND3	20	—	—	0,0799	García-Deras (2007)
	<i>A. viridifrons</i>			8	—	—	
	<i>A. violiceps</i>			4	—	—	
<i>Metallura tyrianthina</i>	Andes del Perú	ND2	23	—	0,604	0,0017	Benham & Witt (2016)
<i>Campylopterus curvipennis</i>	Mesoamérica, México	Región control + ATPasa 6-8 parcial	9	5	0,811	0,0033	González, Ornelas & Gutiérrez-Rodríguez (2011)
<i>Lamprolaima rhami</i>	Mesoamérica, México	Región control + ATPasa 6-8 parcial					
			22	9	0,81	0,0022	Zamudio-Beltrán & Hernández-Baños (2018)
			9	6	0,89	0,0026	
			21	15	0,94	0,0021	

Nota. n: tamaño de muestras; H: haplotipos; h: diversidad haplotípica; π : diversidad nucleotídica.

En comparación con otros colibríes los valores de diversidad genética estimados para *S. castaneiventris* difieren, mientras que los de *S. cyanifrons* son similares a los reportados para *Colibri thalassinus* (Hernández-Soto et al., 2018) a partir de secuencias concatenadas de los genes ATPasa 6-8 y ND2; adicionalmente, *C. thalassinus* y *S. cyanifrons* presentan alto número de haplotipos detectados en los mismos loci. De igual manera, la diversidad haplotípica y nucleotídica en secuencias concatenadas del gen ATPasa y la región control de *Amazilia cyanocephala* (Rodríguez-Gómez et al., 2013), resultan similares a los valores estimados en las especies de *Saucerottia* aquí consideradas. Los valores bajos de diversidad genética encontrados en este estudio se pueden atribuir al hecho de que las especies endémicas de distribución limitada son más susceptibles a la pérdida de la diversidad por efecto de la deriva genética (Fenster et al., 2018).

La variación genética detectada en las especies de *Saucerottia* con el gen ATP8 se puede deber a que es la región más variable del genoma mitocondrial de Aves, después de la región control, dada su ubicación cerca de otros genes como ATP6 y COI (Sorenson, 2003). Los genes ATP8 y ATP6 codifican polipéptidos del componente F0, un canal de protones en la membrana interna mitocondrial (Wang et al., 2018). Mutaciones detectadas en estas unidades podrían afectar la síntesis del ATP y a la cadena de respiración en las mitocondrias (Wang et al., 2018). En especies de gran altitud las adaptaciones moleculares podrían ser bioquímicamente importantes frente a otras alternativas existentes, que pudieron haberse ajustado durante la rápida radiación de las aves y haber exhibido los patrones de cambio radical en la adaptación para la diversidad de gran altitud (Gu et al., 2016). Lo descrito se evidencia en el presente estudio con el alto número de variantes haplotípicas en el gen ATP8a6-8 (Tablas 2 y 6). Además, la hipoxia a gran altitud puede ser una fuerte presión selectiva que conduce a una adaptación genética rápida y predecible, evidenciada en el colibrí gigante *Patagona gigas* (Williamson et al., 2024). No sería extraño pensar que las variantes detectadas puedan conferir una ventaja adaptativa teniendo en cuenta que *S. castaneiventris* realiza migraciones altitudinales hasta 2.200 ms.n.m. (Hilty, 2021), y *S. cyanifrons* se distribuye hasta 2.000 ms.n.m. (Hilty, 2021).

En cuanto a la variación detectada en el gen ND2 se puede deber a que este tiene la tasa de sustitución más alta y es el tercer gen más variable del genoma mitocondrial (Lerner et al., 2011; Sorenson, 2003). ND2 es una subunidad de la NADH deshidrogenasa que desempeña un papel fundamental en el control de la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) mitocondriales (Zhang et al., 2016). Por lo anterior, las secuencias de este gen son muy utilizadas en estudios de genética de colibríes (Cowles et al., 2022; García Deras, 2007; Hernández-Soto et al., 2023; Palacios et al., 2023; Rodríguez-Gómez y Ornelas, 2018).

Grant & Bowen, (1998) establecieron cuatro categorías para clasificar secuencias de ADNmt basadas en diferentes combinaciones de valores de diversidad haplotípica y nucleotídica. Los análisis de secuencias de *S. castaneiventris* y *S. cyanifrons* se ajustan a la segunda categoría definida por estos autores, esto es: alta diversidad haplotípica ($h > 0,5$) y baja diversidad nucleotídica ($\pi < 0,01\%$). Esta condición se atribuye a la expansión tras un periodo de tamaño efectivo de población reducido, donde el rápido crecimiento poblacional favorece la retención de nuevas mutaciones (Avise et al. 1984; Rogers & Harpending, 1987 citado en Grant & Bowen, 1998). Este fenómeno ha sido reportado previamente en colibríes aislados por barreras geográficas significativas, como el Istmo de Tehuantepec (Hernández-Soto et al., 2018) o el sistema de fallas Motagua-Polochic-Jocotán (MPJ) (Zamudio-Beltrán et al., 2020) y parece ser común en colibríes presentes en los Andes (Chaves et al., 2011; Palacios et al., 2019). Particularmente, estos resultados son consistentes con las pruebas de neutralidad realizadas por Celis, (2021) que indicaron una reciente expansión demográfica de la especie endémica *S. cyanifrons*.

Flujo genético y estructura

Los haplotipos son determinados por el conjunto de cambios con respecto a la Secuencia de Referencia (Terreros Ibáñez, 2010), generalmente de la misma especie. Sin embargo, en la base de datos del GenBank solo está disponible la secuencia de referencia del gen ND2 de la especie *S. castaneiventris*. Debido a esto se caracterizaron haplotipos del gen ATPasa6-8 usando los reportados para *S. saucerotiei* (Apéndice B); que, pese a presentar 99,20 % de identidad contra las secuencias del gen ATPasa6-8 de *S. castaneiventris*, esta comparación puede aumentar o sobre estimar los haplotipos debido a la diferencia entre especies (Boonseub et al., 2009). *S. cyanifrons* no cuenta con ninguna secuencia de referencia; por tanto, se utilizaron las secuencias de la muestra Sacy142 obtenidas en el presente estudio. Otra complejidad identificada en la asignación de

haplotipos de *S. cyanifrons* se relacionó con el análisis de similaridad dado por BLAST, ya que este relacionó las secuencias con dos especies diferentes y al no tener esta especie una posición resuelta en la filogenia (Stiles, Piacentini, et al., 2017), no se puede descifrar cual es la más cercana para ser utilizada como referencia.

En el estudio realizado por Celis (2021) el análisis de las secuencias del gen mitocondrial ND2 reveló que *S. cyanifrons*, muestreada en tres localidades del departamento de Santander, exhibió 31 sitios polimórficos y 39 haplotipos, confirmando alta diversidad de haplotipos ($h = 0,973 \pm 0,012$) y baja de nucleótidos ($\pi = 0,00515 \pm 0,00049$). Las muestras poblacionales presentan diferenciación genética moderada soportada por $\Phi_{ST} = 0,16211$ ($p < 0,05$) y el 83,79 % de la variación se le atribuyó a individuos dentro de las localidades. Los resultados obtenidos por Celis (2021) sugieren que *S. cyanifrons* constituye una metapoblación con flujo genético restringido mediado por las hembras, además que la diferenciación genética no se correlacionó con la distancia geográfica, posiblemente debido a impactos antropogénicos como la deforestación y la intensa actividad agrícola en la región.

Los resultados de este estudio soportan que *S. castaneiventris* conforma una única metapoblación distribuida entre los departamentos de Boyacá y Santander, principalmente en inmediaciones del Cañón del Chicamocha. Sin embargo, *S. cyanifrons* presente diferenciación moderada en la población, aspecto evidenciado anteriormente por Celis (2021) con el análisis de uno de los genes acá considerados.

En las redes de haplotipos obtenidas, se evidenció un grupo para *S. castaneiventris* (Figura 2A y 2B) y dos haplogrupos en *S. cyanifrons* (Figura 5A), además de distintos haplotipos privados. Cunningham (2008) asoció los haplotipos privados con un carácter nativo; es decir, se asume que si ciertos haplotipos se detectan únicamente en un área es porque habrían surgido allí, lo que

indicaría que la especie es nativa de ese territorio. Sin embargo, esta idea es difícil de ser garantizada sin que se haya realizado un muestreo completo de los haplotipos existentes en el área geográfica de distribución de la especie, lo que subraya la necesidad de identificar la riqueza haplotípica en función del esfuerzo de muestreo, tanto a nivel poblacional como en el número de individuos (Clavero et al., 2025). Para el caso de *S. castaneiventris* es posible, a la luz de los resultados, señalar a la región del Río Chicamocha en Boyacá como posible centro de origen, debido a que el muestreo incluye una localidad que abarca parte de la distribución de la especie donde se concentra un número importante de haplotipos. En cuanto a *S. cyanifrons*, se deberá realizar un muestreo más amplio en la longitud de la distribución geográfica de la especie para inferir su posible origen.

En el análisis de *Median Joining Network* se identificaron nodos hipotéticos para los genes ATPasa6-8, ND2 y en los 15 haplotipos resultantes de las secuencias concatenadas (Figura 8), estos son haplotipos que existen pero que aún no han sido descubiertos; es decir, no fueron recuperados en el muestreo, o existieron en el pasado y dieron origen a los que conocemos actualmente (Zermeño et al., 2013). Lo anterior, supone una limitación en el estudio con respecto al muestreo de *S. cyanifrons* ya que se realizó en una porción de su distribución. Otra limitación es el tipo de marcador utilizado, dado que las mitocondrias al ser de herencia materna no recombinan y acumulan más mutaciones en menos tiempo (Rentaría Alcántara, 2000), mientras que marcadores nucleares pueden complementar dicha historia porque provienen de procesos hereditarios diferentes (Godoy, 2009), además que permiten estimar directamente la tasa de aumento de endogamia (Waples, 2002).

El AMOVA evaluado para *S. castaneiventris* (Apéndice E) denota que esta especie no presenta diferenciación genética (Holsinger y Weir, 2009); por tanto, se debe considerar como una

sola población en la amplitud de su distribución entre los departamentos de Santander y Boyacá. Caso distinto a lo evidenciado por el AMOVA evaluado para *S. cyanifrons* (Apéndice I), especie que tendría diferenciación genética moderada (Holsinger y Weir, 2009) soportada con los dos haplogrupos recuperados en la red del gen ATPasa6-8 (Figura 5A); por tanto, debería considerarse como una población con demos que se están diferenciando, al menos en el área de estudio.

Las pruebas de neutralidad evalúan el hecho que las poblaciones se encuentran en equilibrio mutación-deriva (Holsinger, 2019). En este sentido, los análisis realizados revelaron valores negativos y no significativos con el parámetro D de Tajima a partir de las secuencias génicas analizadas para *S. castaneiventris* y *S. cyanifrons* (Tablas 3 y 7), lo que podría interpretarse como: i) exceso de mutaciones raras, ii) que el tamaño de la población esté aumentando o iii) que esté ocurriendo selección purificadora (Tajima et al., 1998) en los loci ATPasa6-8 y ND2 (Holsinger, 2019). Sin embargo, debido a la ausencia de significancia, no se rechaza la hipótesis de neutralidad y se debe tener cautela con las afirmaciones de expansión poblacional (Zink et al., 2006). Teniendo en cuenta lo anterior se evalúo el FS de Fu (Fu y Li, 1993) que es un indicador más sensible de la expansión de la población y del *autostop* genético; es decir, cambios en la frecuencia de un alelo debido a selección positiva, que ocurren cuando una nueva mutación selectivamente ventajosa se segrega en una población y puede proporcionar evidencia para la adaptación molecular además de dilucidar las relaciones genotipo-fenotipo (Nielsen, 2001). Los resultados referidos en las Tablas 3 y 7 muestran que los valores FS son significativos en las secuencias de los genes en ambas especies de *Saucerottia* estudiadas, confirmando la presencia de i) procesos demográficos, ii) selección positiva o iii) *autostop* genético, que opera sobre estos genes (Holsinger, 2010). Sin embargo, estos parámetros no son definitivos para inferir procesos como la expansión poblacional. Sobre el BSLP se podría inferir que para *S. castaneiventris* no

hay proceso de expansión reciente o histórica, mientras que para *S. cyanifrons* los resultados no son concluyentes ya que en el gen ATPasa6-8 se observa una ligera expansión demográfica a partir de la interpretación de la Figura 7A. Sin embargo, en la Figura 7B no se observa dicha expansión, por consiguiente, se considera prudente interpretar que no existe consenso en los estimadores que permita afirmar o descartar de manera concluyente un proceso de expansión demográfica.

Los hallazgos de diferenciación genética y estructura poblacional, así como los procesos de expansión demográfica evidenciados en *S. castaneiventris* y *S. cyanifrons* con el estimador de FS de FU podrían haber sido conducidos por los cambios geológicos relacionados con el Cañón del Chicamocha en donde antes existió un inmenso lago, lo cual permitió la formación de cavernas y el albergue de animales (Oviedo-Chávez, 2018). Posteriormente, en lo que se conoce ahora como “Los Andes colombianos”, los datos paleobotánicos sugieren un rápido levantamiento de la Cordillera Oriental entre 2 y 5 Ma (Rodríguez-Muñoz et al., 2022). Sumado a lo anterior, las condiciones climáticas del Cañón son muy variables por su profundidad lo que podría favorecer el movimiento altitudinal de los individuos de *S. castaneiventris* (Hilty, 2021). En el sentido expuesto, el Cañón del Chicamocha mantiene corrientes húmedas y cálidas concentradas en la parte baja de sus montañas que contribuyen a la formación de nubes en sus partes altas, la temperatura media anual fluctúa entre 25 y 28 °C (Gobernación de Santander, 2025), y las precipitaciones anuales alcanzan dos picos en mayo y octubre (Albesiano y Rangel, 2006).

Por su parte *S. cyanifrons* pudo experimentar diferentes procesos además de los ya mencionados considerando que los resultados sugieren que la especie se está diferenciando y que, además, un análisis de similitud realizado con las muestras indicó que en promedio la identidad de las secuencias de *S. cyanifrons* con respecto a la referencia es de 99,14%, específicamente es idéntica a *S. viridigaster* en un 99,18% y *S. saucerottei* en 99,04%. Sumado a esto los haplotipos

como H3_ND2Scya difieren con respecto a la secuencia de referencia en sólo una sustitución. Lo anterior se puede abordar desde las perspectivas: 1) el concepto de especie entendiendo que la "identidad" depende de la acumulación de diferencias (De Queiroz, 2007); 2) por la identificación errónea de las especies en la base de datos, considerando que la literatura reporta que se pueden confundir con *S. saucerottei* (Ayerbe-Quñones, 2024); y 3) han ocurrido procesos más complejos similares a los de *Adelomyia* (Chaves et al., 2011) quienes explican por una combinación de procesos geológicos, biogeográficos y demográficos la diferenciación de la especie; que con los genes aquí analizados no se pueden descifrar y requiere ampliación del muestreo como de genes nucleares. Lo anterior se podría llegar a dilucidar si se contara con la posición filogenética de *S. cyanifrons*.

Demografía

La relación entre el tamaño efectivo y el tamaño censal ($N_e:N_c$) en las poblaciones naturales es de importancia general para la conservación de las especies (Allendorf y Luikart, 2007), porque permite predecir la tasa de pérdida de variación genética (Waples, 2002). Como punto de partida se tiene que Renjifo et al., (2016) utilizaron la densidad y estimaron $N_c=24.120$ individuos de *S. castaneiventris*. La estimación de la relación $N_e:N_c$ a partir de la información de las secuencias de los genes ATPasa6-8 y ND2, se ubicó en el rango 0,55 % a 4,42 % (Tabla 5), valores que están por debajo del 10 % de las medias de la estimación del parámetro cuando se considera proporción desigual de sexos, la varianza en el éxito reproductivo y las fluctuaciones en el tamaño de la población acorde con lo predicho por Frankham (1995). Adicionalmente, Allendorf y Luikart, (2007) sugirieron que el 20 % del tamaño de la población adulta es un mejor valor general para N_e porque incluye el efecto de los cambios temporales; aun así, las estimas para *S. castaneiventris* están muy por debajo de lo sugerido en la literatura (Figura 3) lo que evidencia

la pérdida de diversidad a causa de la deriva génica (Hedrick, 2000). Estos resultados podrían indicar que *S. castaneiventris* está en riesgo de extinción por el declive poblacional. Dado que en *S. cyanifrons* no se cuenta con un valor censal poblacional y considerar únicamente los datos de recolecta podría subestimar la comparación $N_e:N_c$, para esta especie no se realizó el análisis anterior.

Los tamaños efectivos poblacionales estimados muestran diferencias notables entre especies. *Saucerottia cyanifrons* presentó valores de N_e considerablemente mayores, lo que sugiere poblaciones históricamente grandes y conectadas a lo largo de su distribución en la Cordillera Oriental. Aunque los registros de eBird son más numerosos en Santander que en Boyacá, esta diferencia probablemente refleja variaciones en el esfuerzo de observación más que en la abundancia poblacional. En contraste, *S. castaneiventris* exhibe valores de N_e sustancialmente menores, particularmente en Boyacá, lo cual es consistente con el menor número de registros observacionales y podría indicar poblaciones más pequeñas o estructuradas regionalmente.

Las estimas de tamaño efectivo obtenidas mediante métodos genéticos representan un promedio a lo largo de un periodo de tiempo determinado por la tasa de mutación por generación del locus analizado (Beerli y Felsenstein, 1999). Los resultados del *Bayesian Skyline Plot* indican que el tamaño efectivo histórico no ha variado de forma considerable. En este sentido, *S. castaneiventris* se mantiene entre 114 y 795 mil años antes del presente (Figura 4), mientras que *S. cyanifrons* oscila entre aproximadamente 23 y 241 mil años (Figura 7). La datación estimada se ubica dentro del Pleistoceno, similar como ocurre con otros colibríes del género *Calothorax* (Licona-Vera et al., 2018). De acuerdo con Grant et al., (2012), las secciones planas o “humps” observadas en las curvas del *BSP* (Figuras 4 y 7) pueden corresponder a artefactos o a pérdida de

información, más que a periodos reales de estabilidad o expansión poblacional. Teniendo en cuenta que las distribuciones del ADNmt pueden informar sobre la historia de los cambios en el tamaño de la población (Rogers, 1995); estos resultados de “estabilidad” difieren con respecto a los hallados en otras especies de aves. Ejemplo de lo descrito se identifica en McLaughlin, (2022), quien encontró cambios genéticos asociados a la dinámica historia geológica y climática de los Andes, que también, se ha señalado como impulsora de la rápida especiación en múltiples grupos taxonómicos, y por los repetidos ciclos de contracción y expansión del hábitat durante el Pleistoceno (Ferreira *et al.* 2017). A pesar de lo anterior, los análisis con los genes concatenados evidencian expansión poblacional en ambas especies (Figura 9), hace 12 mil años aproximadamente en *S. castaneiventris* y hace 20 mil años en *S. cyanifrons*.

Con respecto al número de individuos actuales de las especies consideradas, los datos obtenidos en este estudio proporcionaron información que permite hacer inferencias para cada una de las especies, siendo este uno de los indicadores de conservación de especies silvestres, debido a que permite establecer la viabilidad de la población en función de la tasa de cambio de la frecuencia alélica mientras que a largo plazo se define en términos de diversidad nucleotídica (Waples, 2022). Adicionalmente, es preciso tener en cuenta que los modelos genéticos predicen que poblaciones con $N_e \leq 100$ son altamente vulnerables a la extinción (Allendorf y Luikart, 2007). Los resultados presentados en la Tabla 5 y la Figura 3 sugieren que *S. castaneiventris* es vulnerable a la extinción (Allendorf y Luikart, 2007), especialmente en Boyacá, comparada con *S. cyanifrons*, especie que alcanza estimas de $N_e \sim 2000$ individuos (Tabla 9).

Lynch y Lande (1998) establecieron que la variación genética es similar a la de poblaciones infinitamente grandes cuando $N_e > 1.000$. Pese a esto, se alentará a revisar el Criterio B: Distribución Geográfica (IUCN, 2025), debido a la diferenciación genética detectada en *S.*

cyanifrons. Franklin (1980) sugirió que, a corto plazo, el tamaño efectivo de la población no debería ser inferior a 50, y a largo plazo no debería ser inferior a 500 (regla 50/500), directriz útil para la gestión de las poblaciones (Allendorf y Luikart, 2007). Considerando que Renjifo et al., (2016) reportaron que las generaciones de *S. castaneiventris* son de 3,4 años, el N_e estimado para el gen ATPase6-8 con esa duración generacional sería ~ 300 y para el gen ND2 ~ 40 (Apéndice B), en consecuencia, está por debajo de los límites teóricos para el mantenimiento de la diversidad genética a largo plazo, por consiguiente, requiere acciones inmediatas para su conservación. Lo anterior implica que *S. castaneiventris* se encuentra en riesgo y se deberían reconsiderar el Criterio C y el Criterio D (IUCN, 2025).

Conservación

Desde una perspectiva de conservación, los resultados acá presentados indican que *S. castaneiventris* forma una unidad genética amplia, sin evidencia de aislamiento prolongado (Tabla 3). La ausencia de diferenciación sugiere que los procesos de flujo génico han mantenido la diversidad genética dentro de un único acervo mitocondrial, lo cual podría favorecer su resiliencia evolutiva (Thorogood et al., 2023). Desde esta misma perspectiva, *S. cyanifrons* forma una unidad genética amplia que se está diferenciando (Tabla 9), a pesar de que los procesos de flujo génico han mantenido la diversidad genética dentro de un único acervo mitocondrial. Además, *S. cyanifrons* presenta una marcada expansión poblacional asociada con los cambios geológicos del Pleistoceno.

En Colombia se han realizado 19 Programas de Conservación y Planes de manejo para especies y ecosistemas (Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, 2025); sin embargo, estos no incluyen las especies en peligro de extinción como *S. castaneiventris* y de Preocupación Menor como *S. cyanifrons*. Cabe destacar que el único relacionado con Aves ha sido el Condor Andino

(*Vultur gryphus*), y no está vigente, ni hay una actualización en curso (Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, 2025). La única aproximación a la conservación de *S. castaneiventris* está en el plan de acción de polinizadores (Nates-Parra et al., 2021); sin embargo, *S. cyanifrons* no está considerado. En dicho plan simplemente se enlista como especie de polinizadores amenazados. Considerando los resultados obtenidos en el análisis genético de *Saucerottia castaneiventris* y *S. cyanifrons*, se proponen las siguientes líneas de acciones para fortalecer la conservación de ambas especies y su entorno:

Línea de acción 1. Conocimiento de las especies:

- *Complementar con información de S. castaneiventris y S. cyanifrons que contribuyan a reducir las limitaciones del presente estudio.*
- *Profundizar en el estudio genético de cada especie, especialmente en medir los niveles de endogamia que puedan existir al objeto de promover iniciativas que incrementen el flujo de individuos desde Santander hacia Boyacá. Esta medida contribuirá a mantener la diversidad y disminuir los efectos de la deriva genética, además de fortalecer la resiliencia de las especies ante cambios ambientales y presiones antrópicas.*
- *El departamento de Santander tiene la oportunidad de desarrollar un plan de manejo y conservación de la especie bandera S. castaneiventris. Este plan no solo contribuiría a la preservación de este colibrí, sino que también impactaría positivamente en la conservación del ecosistema y otras especies. Se anima a los tomadores de decisiones (Gobernación, Corporaciones Autónomas e Instituciones de Educación Superior y otros actores) a formular un plan de acción de conservación de colibríes, más allá de lo que se resuelve en las ordenanzas 019 de 2015 y 35 de 2025 del Departamento de Santander.*

Línea de acción 2. Educación ambiental:

- *Desarrollar programas de educación ambiental dirigidos a las comunidades de las localidades muestreadas para fomentar la conservación y reducir el uso de alimentadores artificiales. Esta práctica puede alterar los patrones naturales de alimentación y comportamiento de los colibríes, afectando su salud y supervivencia, además de contribuir a la reducción de la polinización en los ecosistemas donde estos prestan dicho servicio.*

Línea de acción 3. Conservación *in situ*:

- *Implementar estrategias de monitoreo de nidos (nacimientos) como las descritas para *Florisuga mellivora* (Cardona & Infante, 2025), *Aglaeactis castelnaudii* y *A. cupripennis* (Ocampo et al., 2020). Quienes monitorearon el comportamiento de incubación en un nido, bajo número de individuos efectivos pone en riesgo la viabilidad genética y la supervivencia a largo plazo de *S. castaneiventris*.*
- *Promover el Cuidado del Ecosistema y el Ecoturismo. La conservación del ecosistema debe integrarse con iniciativas de ecoturismo responsable, involucrando a las comunidades en la protección de los hábitats y la promoción de prácticas sostenibles. El cuidado del entorno natural beneficiará no solo a *S. castaneiventris* y *S. cyanifrons*, sino también a otras especies que comparten su hábitat.*
- *A propósito de las observaciones de historia natural de *S. castaneiventris* y *S. cyanifrons*, se registra por primera vez para Santander la época de nidificación de estas especies de colibríes. La información registrada da cuenta que la nidificación ocurre al final de año (noviembre), de manera que el desarrollo de crías y juveniles coincide con la floración de diferentes especies vegetales (obs. pers.). En el caso de *S. castaneiventris*, la observación que la nidificación ocurre a finales de año confirma lo reportado por Renjifo et al., (2016). Sin embargo, de *S. cyanifrons* se cuenta con información que indica que la nidificación ocurre entre abril y agosto (Weller et al., 2021).*

Otros aspectos genéticos

Pese a que existen pocos reportes de la composición nucleotídica de las secuencias estudiadas aquí en especies de colibríes, es importante describirlas dado que es la primera vez que se presentan secuencias haplotípicas de estas especies, además, esta descripción permite entender la estabilidad de la doble hélice y analizar la evolución filogenética (NIH, 2026). Los genes mitocondriales secuenciados en el presente estudio mostraron mayor proporción de Citosina (C) y baja de Guanina (G), hallazgo similar se ha reportado a partir del análisis de secuencias del gen ND2 en el complejo *Amazilia rutila* (Vázquez-López et al., 2021) y el genoma completo de *Aglaeactis castelnaudii* (Liu et al., 2024). Pese a que los datos por genes no son reportados en la composición del genoma mitocondrial de *Goldmania violiceps* en términos generales mantiene este modelo de mayor proporción de C y menor G (Aguilar et al., 2025). Característica común de los ADN mitocondriales de los metazoos (Parrilla-Martínez y Guevara-Chumacero, 2015). Los

resultados aquí presentados de la composición nucleotídica son consistentes con el ADNmt de vertebrado típico, una cadena tiene más A y C, mientras que la otra tiene más G y T (Guo, 2017).

Al comparar la composición de las dos especies de este estudio se evidencia similitud de la proporción de nucleótidos entre los loci analizados (Apéndice D); dicha similitud puede atribuirse a su cercanía filogenética (Stiles et al., 2017). Se podría objetar que ninguna de las filogenias de la familia Trochilidae incluye a *S. cyanifrons*, sin embargo, los listados taxonómicos para Colombia reportados por Chaparro-Herrera et al., (2024) y Echeverry-Galvis et al., (2022) las catalogan en el mismo género. Adicionalmente, la composición de nucleótidos de los genes aquí reportado en ambas especies es también similar a trabajos realizados en el laboratorio de genética, como el de Celis, (2021); Vargas Núñez, (2017) quienes utilizaron el Gen ND2 para estimar diversidad genética en *S. cyanifrons* y *Ramphocelus dimidiatus* y *R. icteronotus* respectivamente. También a secuencias concatenadas de tres genes (ND1, CO1 y ATP6) de 27 genomas mitocondriales de diversas aves (Amer et al., 2013). Lo que refuerza la idea de que estos genes mitocondriales son altamente conservados en los diversos grupos taxonómicos (Avendaño-Monsalve et al., 2021).

Aspectos de historia natural

En cuanto al movimiento altitudinal de *S. castaneiventris* (Naranjo et al., 2012) esta guarda relación con la marcada dependencia de néctar en los colibríes, presión de adaptación reportada en Trochilidae (Rappole et al., 2003). En este estudio se observaron individuos de *S. castaneiventris* alimentándose en flores de *Inga* sp. y otras especies de plantas durante los periodos de mayor floración (abril y mayo) de *Coffea arabica* en el departamento de Santander. En este sentido el estudio realizado por Angarita-Báez y García-Ríos, (2011), reportó, para el departamento de

Boyacá, el uso de *Inga edulis* por parte de *S. castaneiventris*, principalmente entre diciembre y enero, época que bien puede coincidir con el levantamiento de crías de este colibrí.

No obstante, el uso de comederos artificiales observado en dos localidades muestreadas (Soatá y Lebrija), podría modificar el comportamiento, el uso del hábitat y la dieta por la presencia de dichos elementos artificiales (obs. pers.). A diferencia de las flores, los comederos ofrecen una fuente de alimento ilimitada siempre que se mantengan llenos (Rico-Guevara et al., 2019), lo cual puede reducir la polinización de las especies vegetales nativas, aspecto documentado en Colombia por Ramírez-Burbano et al., (2022) quienes verificaron la alteración de las redes de interacción entre colibríes y plantas, y en Costa Rica por Avalos et al., (2012) quienes apreciaron la disminución de la carga de polen en individuos capturados. En conjunto, estas evidencias sugieren que el suministro artificial de alimento puede reducir el principal servicio ecosistémico que los colibríes prestan, es decir, la polinización (Nates-Parra et al., 2021). Desde el punto de vista de la conservación, la extinción de especies de organismos polinizadores, entre estos los colibríes, puede tener consecuencias ecológicas más devastadoras que la extinción de especies no polinizadoras (Sodhi et al., 2009).

Limitaciones de este estudio

Una limitación importante de este estudio es el uso exclusivo de marcadores mitocondriales, los cuales, al ser de herencia materna y no recombinar, reflejan únicamente una parte de la historia genética de las poblaciones (Rentarí Alcántara, 2000). La incorporación de marcadores nucleares permitiría complementar esta información y estimar con mayor precisión procesos como el flujo génico y la endogamia (Waples, 2002; Godoy, 2009).

Asimismo, la ampliación del muestreo geográfico, particularmente en *S. cyanifrons*, permitiría evaluar con mayor precisión los patrones de diversidad genética a lo largo de su

distribución y determinar si los haplogrupos identificados corresponden a poblaciones diferenciadas o a variación genética dentro de una misma metapoblación.

Finalmente, la resolución de la posición filogenética de *S. cyanifrons* dentro del género *Saucerottia* también contribuiría a interpretar de manera más robusta los patrones de similitud genética observados con otras especies del grupo.

6. Conclusiones

Este estudio contribuye con aspectos de la diversidad genética de dos especies endémicas de colibríes del género *Saucerottia* presentes en los departamentos de Santander y Boyacá, que incluyen estimación de niveles de diferenciación, dirección del flujo genético y tamaño efectivo poblacional con base en la evaluación de dos genes mitocondriales y aportes a la historia natural.

A partir de los resultados generados y las evidencias aportadas se concluye que:

- *Saucerottia castaneiventris* conforma una sola población cuya diversidad genética se ha reducido desde el Pleistoceno. El tamaño efectivo poblacional es crítico respecto a los mínimos recomendados por la literatura para la conservación a largo plazo; por tanto, es urgente realizar acciones orientadas a la conservación de la especie, encaminadas a incrementar su diversidad genética y que favorezcan el intercambio de individuos desde Santander hacia Boyacá.
- *Saucerottia cyanifrons* presenta moderada diferenciación, alta diversidad haplotípica y baja diversidad nucleotídica que sustentan procesos de expansión poblacional. La mayor variación genética de la especie es aportada por los individuos más que por las subpoblaciones (Santander y Boyacá). El rango de tamaño efectivo poblacional está en los límites teóricos a lo recomendado para conservación a corto y largo plazo; sin embargo, se le debe prestar atención, especialmente a la conservación de los ecosistemas donde está presente, incluidos aquellos en los que coexiste con *S. castaneiventris*.
- La identificación de haplotipos únicos y las estimaciones de tamaño efectivo poblacional en las dos especies de *Saucerottia* consideradas, constituyen información importante para la conservación de especies endémicas de colibríes de Colombia que debe servir para la revisión de los criterios de amenaza de ambas especies a nivel nacional e internacional. Así mismo, la distribución exclusiva de *S. castaneiventris* y la presencia de *S. cyanifrons* en el Cañón del Chicamocha, ponen de manifiesto la urgencia de conservar este ecosistema bajo la premisa que actúa como conductor de dinámicas poblacionales de especies endémicas de diferentes grupos biológicos.

7. Recomendaciones

Se recomienda:

Evaluar marcadores nucleares en ambas especies del género *Saucerottia* que permitan dilucidar, entre otros aspectos, los niveles de endogamia potencialmente presentes en ellas.

Generar acciones, por parte de los tomadores de decisiones, que contribuyan de manera efectiva con la conservación de *S. castaneiventris*, bajo la consideración de lo establecido en la Ordenanza 019 de 2015 de la Gobernación de Santander.

Realizar estudios dirigidos a la identificación e implementación de corredores biológicos que conecten diferentes ecosistemas que usa *S. castaneiventris* en su migración altitudinal en el Cañón del Chicamocha.

Ampliar el muestro y análisis de la diversidad genética de *S. cyanifrons* en diferentes localidades a lo largo de su distribución en la cordillera oriental, así como se hace imperativo dilucidar la incertidumbre filogenética de esta especie de colibrí endémica de Colombia.

Referencias Bibliográficas

- Aguilar, C., Garzon, J. L., & De León, L. F. (2025). Mitochondrial genome and phylogenetic position of the endemic Violet-capped hummingbird, *Goldmania violiceps*. *Molecular Biology Reports* 2025 52:1, 52(1), 768-. <https://doi.org/10.1007/S11033-025-10865-W>
- Albesiano, S., & Rangel-CH, J. O. (2006). Estructura de la vegetación del Cañón del Río Chicamocha, 500- 1200 m; Santander-Colombia: una herramienta para la conservación. *Caldasia*, 28(2). http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0366-52322006000200013&script=sci_arttext
- Allendorf, F. W., & Luikart, G. (2007). *Conservation and the Genetics of Populations*. Blackwell Publishing Ltd.
- Amer, S. A. M., Ahmed, M. M., & Shobrak, M. (2013). Efficient newly designed primers for the amplification and sequencing of bird mitochondrial genomes. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 77(3), 577–581. <https://doi.org/10.1271/BBB.120819>
- Angarita-Báez, J. A., & García-Ríos, C. (2011). *Uso de recursos florales por Amazilia castaneiventris en la Vereda La Chorrera, cuarto el Ceibo, del Municipio de Soatá (Boyacá, Colombia)* [Trabajo de Grado para Optar el Título Profesional de Licenciatura en Biología, Universidad Distrital Francisco José de Caldas]. <https://www.researchgate.net/publication/331276798%0AUSO>
- Avalos, G., Soto, A., & Alfaro, W. (2012). Effect of artificial feeders on pollen loads of the hummingbirds of Cerro de La Muerte, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 60(1), 65–73. http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442012000100004&lng=en&nrm=iso&tlng=en

- Avendaño-Monsalve, M. C., Ponce-Rojas, J. C., & Funes, S. (2021). Viaje al centro de la mitocondria: importación de proteínas, sus alteraciones y enfermedades relacionadas. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 24, 1–25. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2021.370>
- Avice, J. C. (2000). *Phylogeography: The History and Formation of Species*. Harvard.
- Ayerbe-Quiñones, F. (2019). *Guía ilustrada de la avifauna colombiana* (Segunda). Puntoaparte.
- Ayerbe-Quiñones, F. (2024). *Guía ilustrada de colibríes de Colombia* (Segunda). Puntoaparte.
- Ballard, J. W. O., & Whitlock, M. C. (2004). The incomplete natural history of mitochondria. *Molecular ecology*, 13(4), 729–744. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2003.02063.x>
- Bandelt, H. J., Forster, P., & Rohl, A. (1999). Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16(1), 37–48. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026036>
- Beerli, P., Mashayekhi, S., Sadeghi, M., Khodaei, M., & Shaw, K. (2019). Population Genetic Inference With MIGRATE. *Current Protocols in Bioinformatics*, 68(1). <https://doi.org/10.1002/cpbi.87>
- Benham, P. M., Cuervo, A. M., McGuire, J. A., & Witt, C. C. (2015). Biogeography of the Andean metaltail hummingbirds: Contrasting evolutionary histories of tree line and habitat-generalist clades. *Journal of Biogeography*, 42(4), 763–777. <https://doi.org/10.1111/jbi.12452>
- Benham, P. M., & Witt, C. C. (2016). The dual role of Andean topography in primary divergence: Functional and neutral variation among populations of the hummingbird, *Metallura tyrianthina*. *BMC Evolutionary Biology*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/s12862-016-0595-2>

- BirdLife International. (2017). *Amazilia cyanifrons* (Indigo-capped Hummingbird). The IUCN Red List of Threatened Species. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2017-3.RLTS.T119194033A119196095>
- BirdLife International. (2019). *Saucerottia castaneiventris* (Chestnut-bellied Hummingbird). The IUCN Red List of Threatened Species 2019: e.T22687614A156112287. <https://www.iucnredlist.org/species/22687614/156112287>
- Boonseub, S., Tobe, S. S., & Linacre, A. M. T. (2009). The use of mitochondrial DNA genes to identify closely related avian species. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 2(1), 275–277. <https://doi.org/10.1016/J.FSIGSS.2009.08.050>
- Bouckaert, R., Vaughan, T. G., Barido-Sottani, J., Duchêne, S., Fourment, M., Gavryushkina, A., Heled, J., Jones, G., Kühnert, D., De Maio, N., Matschiner, M., Mendes, F. K., Müller, N. F., Ogilvie, H. A., Du Plessis, L., Poppinga, A., Rambaut, A., Rasmussen, D., Siveroni, I., ... Drummond, A. J. (2019). BEAST 2.5: An advanced software platform for Bayesian evolutionary analysis. *PLOS Computational Biology*, 15(4), e1006650. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PCBI.1006650>
- Celis, K. J. (2021). *Análisis de la diversidad genética en Saucerottia cyanifrons (Trochilidae) a partir de secuencias del gen ND2 en localidades del departamento de Santander, Colombia*. Universidad Industrial de Santander.
- Chaparro-Herrera, S., Acevedo-Charry, O., Ocampo, D., & Echeverry-Galvis, M. A. (2024). *Atlas de la biodiversidad de Colombia: Aves endémicas*. <https://www.researchgate.net/publication/379950818>

- Chaparro-Herrera, S., Acevedo-Charry, O., Ocampo, D., Echeverry-Galvis, M., & et al. (2024). *Atlas de la biodiversidad de Colombia: Aves endémicas*. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. www.humboldt.org.co
- Chaves, J. A., Weir, J. T., & Smith, T. B. (2011). Diversification in *Adelomyia* hummingbirds follows Andean uplift. *Molecular Ecology*, 20(21), 4564–4576. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05304.x>
- Clavero, M., Bedmar, S., & Oficialdegui, F. J. (2025). Oportunidades y errores en el uso de la genética para conocer el origen de una especie: el cangrejo italiano en la península ibérica. *Ecosistemas*, 34(3), 2892. <https://doi.org/10.7818/ECOS.2892>
- Cortés-Herrera, J. O. (2006). *Aspectos ecológicos y de historia natural en Amazilia castaneiventris, Colibrí en peligro crítico de extinción en Soatá (Boyacá, Colombia)* [Tesis]. Universidad Distrital.
- Cowles, S. A., Witt, C. C., Bonaccorso, E., Grewe, F., & Uy, J. A. C. (2022). Early stages of speciation with gene flow in the Amazilia Hummingbird (*Amazilis amazilia*) subspecies complex of Western South America. *Ecology and Evolution*, 12(5). <https://doi.org/10.1002/ece3.8895>
- De Queiroz, K. (2007). Species Concepts and Species Delimitation. *Systematic Biology*, 56(6), 879–886. <https://doi.org/10.1080/10635150701701083>
- Drummond, A. J., & Rambaut, A. (2007). BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology*, 7(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-7-214/TABLES/1>

- Echeverry-Galvis, M. Á., Acevedo-Charry, O., Avendaño, J. E., Gómez, C., Stiles, F. G., Estela, F. A., & Cuervo, A. M. (2022). Lista oficial de las aves de Colombia 2022: Adiciones, cambios taxonómicos y actualizaciones de estado. *Ornitología Colombiana*, (22), 25–51.
- Excoffier, L., & Lisher, H. E. L. (2010). Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10(3), 564–567. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x>
- Fajardo, F. G., Catalina Montealegre, B., & Marco Pardo P, B. E. (2015). *Guía de plantas del cañón del Chicamocha*. www.natura.org.co
- Fan, P., Song, G., Qiao, H., Zhang, D., Ji, Y., Qu, Y., Fjeldsø, J., & Lei, F. (2025). Revaluation of the genetic diversity–area relationship by integrating nucleotide and haplotype diversity. *Current Zoology*, 71(5), 645–651. <https://doi.org/10.1093/cz/zoae078>
- Fenster, C. B., Ballou, J. D., Dudash, M. R., Eldridge, M. D. B., Frankham, R., Lacy, R. C., Ralls, K., & Sunnucks, P. (2018). Conservation and Genetics. En *YALE JOURNAL OF BIOLOGY AND MEDICINE* (Vol. 91).
- Frankham, R., Ballou, J. D., & Briscoe, D. A. (2004). *A Primer of Conservation Genetics: Nº3*. Cambridge University Press. <https://www.cambridge.org/co/academic/subjects/life-sciences/ecology-and-conservation/primer-conservation-genetics?format=PB&isbn=9780521538275>
- Fu, Y. X., & Li, W. H. (1993). Statistical tests of neutrality of mutations. *Genetics*, 133(3), 693–709. <https://doi.org/10.1093/GENETICS/133.3.693>
- García Deras, G. M. (2007). *Revaluación del estatus taxonómico del complejo Amazilia viridifrons (Aves: Trochilidae) utilizando herramientas moleculares*. https://ru.dgb.unam.mx/handle/DGB_UNAM/TES01000614231

- Gobernación de Santander. (2025). *Geoparque cañón del Chicamocha – Cañón del Chicamocha Geoparque*. <https://proyectos.uis.edu.co/ccg/geoparque-canon-del-chicamocha/>
- Godoy, J. A. (2009). La genética, los marcadores moleculares y la conservación de especies. *Ecosistemas*, 18(1), 23–33.
- Grant, W. S., & Bowen, B. W. (1998). Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *Journal of Heredity*, 89(5), 415–426. <https://doi.org/10.1093/jhered/89.5.415>
- Grant, W. S., Liu, M., Gao, T. X., & Yanagimoto, T. (2012). Limits of Bayesian skyline plot analysis of mtDNA sequences to infer historical demographies in Pacific herring (and other species). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 65(1), 203–212. <https://doi.org/10.1016/J.YMPEV.2012.06.006>
- Gu, P., Liu, W., Yao, Y. F., Ni, Q. Y., Zhang, M. W., Li, D. Y., & Xu, H. L. (2016). Evidence of adaptive evolution of alpine pheasants to high-altitude environment from mitogenomic perspective. *Mitochondrial DNA Part A*, 27(1), 455–462. <https://doi.org/10.3109/19401736.2014.900667>
- Guo, Y. (2017). An overview on the DNA nucleotide compositions across kingdoms. *Gene Reports*, 8(47), 45–48. <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2017.05.003>
- Hall, T. A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic acids symposium series*, 41, 95–98. <https://www.academia.edu/download/29520866/1999hall1.pdf>
- Harmon, L. J., & Braude, S. (2010). Conservation of small populations: Effective population sizes, inbreeding, and the 50/500 rule. *An Introduction to Methods and Models in Ecology, Evolution, and Conservation Biology*, 125–138. <https://doi.org/10.1515/9781400835454-017>

- Hernández-Soto, M., Licona-Vera, Y., Lara, C., & Ornelas, J. F. (2018). Molecular and climate data reveal expansion and genetic differentiation of Mexican Violet-ear *Colibri thalassinus thalassinus* (Aves: Trochilidae) populations separated by the Isthmus of Tehuantepec. *Journal of Ornithology*, 159(3), 687–702. <https://doi.org/10.1007/s10336-018-1540-5>
- Hernández-Soto, M., Licona-Vera, Y., & Ornelas, J. F. (2023). Mitochondrial DNA sequences and nuclear microsatellites reveal population genetic structure of the range-restricted hummingbird *Phaeoptila sordida* in the Balsas Basin. *Ornithology*, 140(2). <https://doi.org/10.1093/ornithology/ukac059>
- Hill, V., & Baele, G. (2019). Bayesian Estimation of Past Population Dynamics in BEAST 1.10 Using the Skygrid Coalescent Model. *Molecular Biology and Evolution*, 36(11), 2620–2628. <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSZ172>
- Hilty, S. L. (2021). *Birds of Colombia*. Lynx and BirdLife International field guides Lynx Editions.
- Holsinger, K. E. (2010). Tajima's D, Fu's FS, Fay and Wu's H, and Zeng et al.'s E. *Molecular Evolution*, 1–7.
- Holsinger, K. E. (2019). *Lecture Notes in Population Genetics*. University of Connecticut.
- Holsinger, K. E., & Weir, B. S. (2009). Genetics in geographically structured populations: defining, estimating and interpreting FST. *Nature Reviews Genetics*, 10(9), 639–650. <https://doi.org/10.1038/nrg2611>
- IUCN. (2025). *Red List of Threatened Species*. <https://www.iucnredlist.org/es/about/faqs>
- Izquierdo-Palma, J., Del Coro Arizmendi, M., Lara, C., & Ornelas, J. F. (2021). Forbidden links, trait matching and modularity in plant-hummingbird networks: Are specialized modules characterized by higher phenotypic floral integration? *PeerJ*, 9, e10974. <https://doi.org/10.7717/peerj.10974>

- Kumar, S., Stecher, G., Suleski, M., Sanderford, M., Sharma, S., & Tamura, K. (2024). MEGA12: Molecular Evolutionary Genetic Analysis Version 12 for Adaptive and Green Computing. *Molecular Biology and Evolution*, 41(12). <https://doi.org/10.1093/molbev/msae263>
- Leimberger, K. G., Dalsgaard, B., Tobias, J. A., Wolf, C., & Betts, M. G. (2022). The evolution, ecology, and conservation of hummingbirds and their interactions with flowering plants. *Biological Reviews*, 97(3), 923–959. <https://doi.org/10.1111/brv.12828>
- Lerner, H. R. L., Meyer, M., James, H. F., Hofreiter, M., & Fleischer, R. C. (2011). Multilocus resolution of phylogeny and timescale in the extant adaptive radiation of Hawaiian honeycreepers. *Current Biology*, 21(21), 1838–1844. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2011.09.039>
- Licona-Vera, Y., & Ornelas, J. F. (2014). Genetic, Ecological and Morphological Divergence between Populations of the Endangered Mexican Sheartail Hummingbird (*Doricha eliza*). *PLOS ONE*, 9(7), e101870. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0101870>
- Licona-Vera, Y., Ornelas, J. F., Wethington, S., & Bryan, K. B. (2018). Pleistocene range expansions promote divergence with gene flow between migratory and sedentary populations of *Calothorax* hummingbirds. *Biological Journal of the Linnean Society*, 124(4), 645–667. <https://doi.org/10.1093/biolinnean/bly084>
- Liu, G., Liu, J., Zhang, X., & Gao, X. (2024). The complete mitochondrial genome of *Aglaeactis castelnaudii* (Bourcier & Mulsant, 1848) (Apodiformes: Trochilidae: *Aglaeactis*) and phylogenetic analysis. *Mitochondrial DNA Part B*, 9(9), 1181–1184. <https://doi.org/10.1080/23802359.2024.2397980>
- Lozano-Jaramillo, M., Rico-Guevara, A., & Cadena, C. D. (2014). Genetic differentiation, niche divergence, and the origin and maintenance of the disjunct distribution in the blossomcrown

Anthocephala floriceps (Trochilidae). *PLoS ONE*, 9(9).
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108345>

- Malpica, A., & Ornelas, J. F. (2014). Postglacial northward expansion and genetic differentiation between migratory and sedentary populations of the broad-tailed hummingbird (*Selasphorus platycercus*). *Molecular Ecology*, 23(2), 435–452. <https://doi.org/10.1111/mec.12614>
- Matos, M. V., Borges, S. H., d'Horta, F. M., Cornelius, C., Latrubesse, E., Cohn-Haft, M., & Ribas, C. C. (2016). Comparative Phylogeography of Two Bird Species, *Tachyphonus phoenicius* (Thraupidae) and *Polytmus theresiae* (Trochilidae), Specialized in Amazonian White-sand Vegetation. *Biotropica*, 48(1), 110–120. <https://doi.org/10.1111/btp.12292>
- McGuire, J. A., Witt, C. C., Remsen, J. V., Corl, A., Rabosky, D. L., Altshuler, D. L., & Dudley, R. (2014). Molecular phylogenetics and the diversification of hummingbirds. *Current Biology*, 24(8), 910–916. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.03.016>
- McLaughlin, J. F. (2022). *Why are there so many birds in the tropics: using comparative approaches to investigate the confluence of landscape, ecology, and genome in the generation of neotropical avian diversity* [Degree of Doctor of Philosophy]. University of Oklahoma.
- Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible. (2025). *Planes de acción para la conservación de especies y ecosistemas, herramientas indispensables en la conservación de la biodiversidad*. <https://archivo.minambiente.gov.co/index.php/sala-de-prensa/130-notas-de-interes/4059-plan-de-accion-para-la-conservacion-de-especies-y-ecosistemas-herramientas-indispensables-en-la-conservacion-de-la-biodiversidad>
- Naranjo, L. G., Amaya, J. D., Eusse-González, D., & Cifuentes-Sarmiento, Y. (Eds.). (2012). *Guía de las Especies Migratorias de la Biodiversidad en Colombia. Aves. Vol. 1.* (Vol. 1). WWF Colombia.

- Nates-Parra, G., Higuera, D., Velez, D., Gutiérrez, C., Gasca, H., Muñoz, Y., & Amarillo, A. (2021). *Plan de acción de la iniciativa colombiana de polinizadores [Recurso electrónico]* (G. Nates Parra, D. Higuera Díaz, & A. J. Gómez Hoyos, Eds.). Dirección de Bosques, Biodiversidad y Servicios Ecosistémicos. https://archivo.minambiente.gov.co/images/BosquesBiodiversidadyServiciosEcosistemicos/pdf/fauna_flora/PLAN_DE_ACCIÓN_INICIATIVA_COLOMBIANA_DE_POLINIZADORES.pdf
- Nielsen, R. (2001). Statistical tests of selective neutrality in the age of genomics. *Heredity*, 86(6), 641–647. <https://doi.org/10.1046/J.1365-2540.2001.00895.X>;KWRD
- NIH. (2026). *Nucleótido*. <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Nucleotido>
- Ortega-Jimenez, V. M., Badger, M., Wang, H., & Dudley, R. (2016). Into rude air: Hummingbird flight performance in variable aerial environments. En *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* (Vol. 371, Número 1704). The Royal Society. <https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0387>
- Oviedo-Chávez, G. (2018). Criterios de valoración para la declaratoria del Cañón del Chicamocha como Patrimonio Mundial. *Revista Santander*, 10, 48–59.
- Owen, J. C. (2011). Collecting, processing, and storing avian blood: A review. *Journal of Field Ornithology*, 82(4), 339–354. <https://doi.org/10.1111/j.1557-9263.2011.00338.x>
- Palacios, C., Campagna, L., Parra, J. L., & Cadena, C. D. (2023). Mito-nuclear discordance in the phenotypically variable Andean hummingbirds *Coeligena bonapartei* and *Coeligena helianthea* (Trochilidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 139(2), 145–157. <https://doi.org/10.1093/biolinnean/blad013>

- Parra, J. L. (2010). Color evolution in the hummingbird genus *Coeligena*. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 64(2), 324–335. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2009.00827.x>
- Parrilla-Martínez, W., & Guevara-Chumacero, L. M. (2015). Comparison of Mitochondrial Genome Sequences of Cetartiodactyls (Mammalia, Laurasiatheria). *International Journal of Genetics and Genomics* 2015, Volume 3, Page 26, 3(3), 26–31. <https://doi.org/10.11648/J.IJGG.20150303.11>
- Posada, D. (2009). Selection of models of DNA evolution with jModelTest. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 537, 93–112. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-251-9_5
- R Core Team. (2024). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing.
- Ralph, J., Geupel, G. R., Pyle, P., Martin, T. E., Desante, D. F., & Milá, B. (1996). *Manual de métodos de campo para el monitoreo de aves terrestres*. Gen. Tech. Rep. PSW-GTR- 159. <http://www.psw.fs.fed.us/techpub.html>
- Rambaut, A., Drummond, A. J., Xie, D., Baele, G., & Suchard, M. A. (2018). Posterior Summarization in Bayesian Phylogenetics Using Tracer 1.7. *Systematic Biology*, 67(5), 901–904. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syy032>
- Ramírez-Burbano, M. B., Amorim, F. W., Torres-González, A. M., Sonne, J., & Maruyama, P. K. (2022). Nectar provision attracts hummingbirds and connects interaction networks across habitats. *Ibis*, 164(1), 88–101. <https://doi.org/10.1111/ibi.12988>
- Renjifo, L. M., Amaya-Villarreal, Á. M., Burbano-Girón, J., & Velásquez-Tibatá, J. (Eds.). (2016). *Libro rojo de aves de Colombia, Volumen II: Ecosistemas abiertos, secos, insulares, acuáticos continentales, marinos, tierras altas del Darién y Sierra Nevada de Santa Marta y*

bosques húmedos del centro, norte y oriente del país: Volumen II. Pontificia Universidad Javeriana e Instituto Alexander von Humboldt.

<https://asociacioncolombianadeornitologia.org/producto/libro-rojo-de-aves-de-colombia-volumen-ii/>

Rentaría Alcántara, M. (2000). Breve revisión de los marcadores moleculares. En *Las herramientas moleculares* (Vol. 113, pp. 541–566). <https://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>

Rico-Guevara, A., Rubega, M. A., Hurme, K. J., & Dudley, R. (2019). Shifting Paradigms in the Mechanics of Nectar Extraction and Hummingbird Bill Morphology. *Integrative Organismal Biology*, 1(1). <https://doi.org/10.1093/IOB/OBY006>

Rodríguez-Gómez, F., & Ornelas, J. F. (2018). Genetic structuring and secondary contact in the white-chested *Amazilia* hummingbird species complex. *Journal of Avian Biology*, 49(4), 1–19. <https://doi.org/10.1111/jav.01536>

Rodriguez-Muñoz, E., Montes, C., Rojas-Runjaic, F. J. M., & Crawford, A. J. (2022). Synthesis of geological data and comparative phylogeography of lowland tetrapods suggests recent dispersal through lowland portals crossing the Eastern Andean Cordillera. *PeerJ*, 10, e13186. <https://doi.org/10.7717/PEERJ.13186/SUPP-6>

Rogers, A. R. (1995). Genetic Evidence for a Pleistocene Population Explosion. *Evolution*, 49(4), 608. <https://doi.org/10.2307/2410314>

Rokas, A., Williams, B. I., King, N., & Carroll, S. B. (2003). Genome-scale approaches to resolving incongruence in molecular phylogenies. *Nature*, 425(6960), 798–804. <https://doi.org/10.1038/nature02053>

- Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Sanchez-DelBarrio, J. C., Guirao-Rico, S., Librado, P., Ramos-Onsins, S. E., & Sanchez-Gracia, A. (2017). DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. *Molecular Biology and Evolution*, 34(12), 3299–3302. <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSX248>
- Sambrook, J., & Russell, D. W. (2001). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (3a ed.). Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Sodhi, N. S., Brook, B. W., & Bradshaw, C. J. A. (2009). *Causes and Consequences of Species Extinctions*. <https://doi.org/10.1515/9781400833023.514/PDF/FIRSTPAGE>
- Sorenson, M. (2003). Avian mtDNA primers. En *Avian mtDNA primers*. <http://people.bu.edu/MSOREN/Bird.mt.Primers.pdf>
- Stiles, F. G., Piacentini, V. D. Q., & Remsen, J. V. (2017). A brief history of the generic classification of the Trochilini (Aves: Trochilidae): the chaos of the past and problems to be resolved. *Zootaxa*, 4269(3), 396–412. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4269.3.4>
- Stiles, F. G., Remsen, J. V., & McGuire, J. A. (2017). The generic classification of the Trochilini (Aves: Trochilidae): Reconciling taxonomy with phylogeny. *Zootaxa*, 4353(3), 401–424. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4353.3.1>
- Tajima, F., Misawa, K., & Innan, H. (1998). The amount and pattern of DNA polymorphism under the neutral mutation hypothesis. *Genetica*, 102–103(0), 103–107. <https://doi.org/10.1023/A:1017011631572/METRICS>
- Tell, L. A., Hazlehurst, J. A., Bandivadekar, R. R., Brown, J. C., Spence, A. R., Powers, D. R., Agnew, D. W., Woods, L. W., & Andrew Engilis, Jr. (2021). Hummingbird (Family Trochilidae) Research: Welfare-conscious Study Techniques for Live Hummingbirds and Processing of Hummingbird Specimens. En R. D. Bradley (Ed.), *Special Publications of the*

- Museum of Texas Tech University* (Vol. 79). Museum of Texas Tech University.
<http://ieeexplore.ieee.org/document/6367467/>
- Terreros Ibáñez, G. A. (2010). *Determinación de la variación de las secuencias de las regiones HVI y HVII de la región control del DNA mitocondrial en una muestra de la población Caribe Colombiana*. <https://doi.org/10.11144/JAVERIANA.10554.831>
- Thorogood, R., Mustonen, V., Aleixo, A., Aphalo, P. J., Asiegbu, F. O., Cabeza, M., Cairns, J., Candolin, U., Cardoso, P., Eronen, J. T., Hällfors, M., Hovatta, I., Juslén, A., Kovalchuk, A., Kulmuni, J., Kuula, L., Mäkipää, R., Ovaskainen, O., Pesonen, A.-K., ... Vanhatalo, J. (2023). Understanding and applying biological resilience, from genes to ecosystems. *npj Biodiversity*, 2(1), 16. <https://doi.org/10.1038/s44185-023-00022-6>
- VARGAS NÚÑEZ, L. C. (2017). *EVALUACIÓN DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA A PARTIR DE SECUENCIAS DEL GEN ND2 EN POBLACIONES SIMPÁTRICAS DE Ramphocelus dimidiatus Y R. icteronotus PRESENTES EN EL DEPARTAMENTO DE SANTANDER, COLOMBIA*.
- Vázquez-López, M., Cortés-Rodríguez, N., Robles-Bello, S. M., Bueno-Hernández, A., Zamudio-Beltrán, L. E., Ruegg, K., & Hernández-Baños, B. E. (2021). Phylogeography and morphometric variation in the Cinnamon Hummingbird complex: *Amazilia rutila* (Aves: Trochilidae). *Avian Research*, 12(1). <https://doi.org/10.1186/s40657-021-00295-0>
- Venable, G. X., Gahm, K., & Prum, R. O. (2022). Hummingbird plumage color diversity exceeds the known gamut of all other birds. *Communications Biology* 2022 5:1, 5(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s42003-022-03518-2>
- Villarreal, H., Álvarez, M., Córdoba, S., Escobar, F., Fagua, G., Gast, F., Mendoza, H., Ospina, M., & Umaña, A. M. (2004). Manual de métodos para el desarrollo de inventarios de

- biodiversidad. *Programa Inventarios de Biodiversidad; Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt*, 236.
- Wang, J., Shi, Y., Elzo, M. A., Dang, S., Jia, X., & Lai, S. (2018). Genetic diversity of ATP8 and ATP6 genes is associated with high-altitude adaptation in yak. *Mitochondrial DNA Part A*, 29(3), 385–393. <https://doi.org/10.1080/24701394.2017.1285292>
- Waples, R. S. (2002). Definition and estimation of effective population size in the conservation of endangered species. En *Population viability analysis* (pp. 147–168).
- Waples, R. S. (2022). What Is Ne, Anyway? *Journal of Heredity*, 113(4), 371–379. <https://doi.org/10.1093/jhered/esac023>
- Weller, A. A., Boesman, P. F. D., & Kirwan, G. M. (2021). Indigo-capped Hummingbird (*Saucerottia cyanifrons*), version 1.1. *Birds of the World*. <https://doi.org/10.2173/BOW.INCHUM1.01.1>
- Wiens, J. J. (1998). Combining Data Sets with Different Phylogenetic Histories. *Systematic Biology*, 47(4), 568–581. <https://doi.org/10.1080/106351598260581>
- Williamson, J. L., Gyllenhaal, E. F., Bauernfeind, S. M., Bautista, E., Baumann, M. J., Gadek, C. R., Marra, P. P., Ricote, N., Valqui, T., Bozinovic, F., Singh, N. D., & Witt, C. C. (2024). Extreme elevational migration spurred cryptic speciation in giant hummingbirds. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 121(21), 1–11. <https://doi.org/10.1073/PNAS.2313599121>
- Zermeño, V., Ximénez, C., Morán, P., Valadez, A., Valenzuela, O., Rascón, E., Díaz, D., & Cerritos, R. (2013). Worldwide genealogy of *Entamoeba histolytica*: An overview to understand haplotype distribution and infection outcome. *Infection, Genetics and Evolution*, 17, 243–252. <https://doi.org/10.1016/J.MEEGID.2013.04.021>

- Zhang, W., Hou, L., Wang, T., Lu, W., Tao, Y., Chen, W., Du, X., & Huang, Y. (2016). The expression characteristics of mt-ND2 gene in chicken. *Mitochondrial DNA*, 27(5), 3787–3792. <https://doi.org/10.3109/19401736.2015.1079904>;CTYPE:STRING:JOURNAL
- Zink, R. M., Drovetski, S. V., & Rohwer, S. (2006). Selective neutrality of mitochondrial ND2 sequences, phylogeography and species limits in *Sitta europaea*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 40(3), 679–686. <https://doi.org/10.1016/J.YMPEV.2005.11.002>

Apéndices

Apéndice A.

Información de las localidades muestreadas

Localidades donde se recolectaron muestras de
Saucerottia castaneiventris

Altitud	Localidad	Ecosistema	Cód.
1300	Los Santos	Agroecosistema	Saca2 Saca3 Saca4 Saca5 Saca6 Saca7 Saca9
1900	Soatá	Sub xerofítico	Saca10 Saca11 Saca12 Saca13 Saca14 Saca15 Saca16 Saca17 Saca18 Saca19 Saca20 Saca21 Saca22 Saca23 Saca24 Saca25 Saca26 Saca27 Saca28 Saca29 Saca30 Saca31 Saca32
1600	Aratoca	Agroecosistema	Saca33 Saca34 Saca35 Saca36 Saca37 Saca38

Localidades donde se recolectaron muestras de
Saucerottia cyanifrons

Altitud	Localidad	Ecosistema	Cód.
1300	Los Santos	Agroecosistema	Sacy 4 Sacy 5 Sacy 6 Sacy 7 Sacy 8 Sacy 13 Sacy 25 Sacy 42 Sacy 49 Sacy 50 Sacy 51 Sacy 52 Sacy 53 Sacy 54 Sacy 55 Sacy 56
700	San Vicente	Agroecosistema	Sacy 45
1370	Hato	Agroecosistema	Sacy 46
1000	El silencio	Agroecosistema	Sacy 47
1900	Soata	Sub xerofítico	Sacy 48 Sacy 107 Sacy 109 Sacy 110 Sacy 116 Sacy 121 Sacy 122 Sacy 123 Sacy 124 Sacy 125 Sacy 126 Sacy 127 Sacy 128 Sacy 129 Sacy 130 Sacy 131 Sacy 132
1600	Aratoca	Agroecosistema	

120	Jordán	Xerofítico	Saca39	Sacy 133
			Saca40	Sacy 134
			Saca41	Sacy 136
130	Girón	Sub xerofítico	Saca42	Sacy 137
			Saca43	Sacy 140
			Saca44	Sacy 142
			Saca45	Sacy 144
				Sacy 146
				Sacy 150
				Sacy 151
				Sacy 152
				Sacy 153
				Sacy 155

Apéndice B.*1. Sitios polimórficos de S. castaneiventris en el gen ATPasa6-8*

Sitios	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
KF624601.1	7914	7954	7957	8030	8169	8285	8361	8483	8521	8555	8579
KF640818.1 ATP	A	A	T	C	G	A	G	C	C	T	A
ATPSaca2	G	G	.	.	A	.	.	T	.	C	G
ATPSaca4	G	G	.	T	A	.	.	T	.	.	G
ATPSaca5	G	G	.	.	A	.	.	T	.	C	G
ATPSaca11	G	G	.	.	A	.	.	T	.	C	G
ATPSaca12	G	G	.	.	A	.	.	T	.	C	G
ATPSaca13	G	G	.	.	A	.	.	T	.	C	G
ATPSaca14	G	G	.	T	A	.	.	T	.	C	G
ATPSaca15	G	G	.	.	A	.	.	T	.	C	G
ATPSaca16	G	G	.	.	A	G	.	T	.	C	G
ATPSaca17	G	G	.	.	A	G	.	T	.	C	G
ATPSaca18	G	G	.	T	A	.	.	T	.	.	G
ATPSaca19	G	G	.	.	A	.	.	T	.	.	G
ATPSaca20	G	G	.	.	A	.	.	T	.	.	G
ATPSaca21	G	G	.	T	A	.	.	T	.	C	G
ATPSaca22	G	G	.	.	A	.	.	T	T	.	.
ATPSaca23	G	G	.	T	A	.	.	T	.	.	G
ATPSaca24	G	G	.	T	A	.	.	T	.	C	G
ATPSaca25	G	G	.	.	A	.	.	T	.	.	G
ATPSaca26	G	G	.	.	A	.	.	T	.	C	G
ATPSaca27	G	G	.	.	A	.	.	T	.	C	G
ATPSaca28	G	G	.	.	A	.	.	T	.	C	G
ATPSaca29	G	G	.	.	A	.	.	T	.	.	.
ATPSaca30	G	G	.	T	A	.	.	T	.	C	G
ATPSaca32	G	G	.	.	A	.	.	T	.	C	.
ATPSaca33	G	G	.	.	A	.	.	T	.	C	G
ATPSaca34	G	G	.	.	A	.	.	T	.	C	G
ATPSaca35	G	G	.	.	A	.	.	T	.	.	G
ATPSaca36	G	G	C	T	A	.	.	T	.	C	G
ATPSaca37	G	G	.	.	A	.	.	T	.	.	G
ATPSaca38	G	G	.	.	A	.	A	T	.	.	G
ATPSaca40	G	G	.	.	A	.	.	T	.	.	G
ATPSaca41	G	G	.	T	A	.	.	T	.	.	G
ATPSaca42	G	G	.	.	A	.	.	T	.	C	G
ATPSaca43	G	G	.	T	A	.	.	T	.	C	G
ATPSaca44	G	G	.	T	A	.	.	T	.	C	G
ATPSaca45	G	G	.	.	A	.	.	T	.	.	.

Nota. **KF624601.1** corresponde a la secuencia del mitogenoma completo que indica la posición, y **KF640818.1** a la secuencia de referencia con la que se alinearon las secuencias de este estudio. Los puntos significan que no hay cambios.

Apéndice C.*1. Sitios polimórficos de S. castaneiventris en el gen ND2*

Sitios	1	2	3	4	5	6	7	8
KF624601.1	4850	4914	4951	4975	4997	4998	4999	5000
KJ602165	G	A	C	C	T	C	C	A
ND2Saca2	.	.	.	.	.	T	.	.
ND2Saca3	A	.	.	.	.	A	.	.
ND2Saca4	A	.	.	.	.	.	.	C
ND2Saca5	.	.	.	.	.	.	.	.
ND2Saca6	.	.	.	.	.	.	.	.
ND2Saca7	.	.	.	.	.	.	.	.
ND2Saca9	.	.	.	.	.	.	.	.
ND2Saca11	.	.	.	.	.	.	.	.
ND2Saca12	.	.	.	.	.	.	.	.
ND2Saca13	.	.	.	.	.	.	.	.
ND2Saca14	A	.	.	.	.	.	.	.
ND2Saca16	.	.	.	.	.	.	.	.
ND2Saca17	.	.	.	.	.	.	.	.
ND2Saca18	A	.	.	.	.	.	.	.
ND2Saca19	.	.	.	.	.	.	.	.
ND2Saca20	.	.	.	.	.	.	.	.
ND2Saca21	.	.	.	.	.	.	.	.
ND2Saca22	.	.	.	.	.	.	.	.
ND2Saca23	A	.	.	.	.	.	.	.
ND2Saca25	.	.	.	.	.	.	.	.
ND2Saca26	.	.	.	.	.	.	.	.
ND2Saca27	.	.	.	.	.	.	.	.
ND2Saca28	.	.	.	.	.	.	.	.
ND2Saca29	.	.	.	.	.	.	.	.
ND2Saca30	A	.	.	.	.	.	.	.
ND2Saca31	.	.	T	.	.	.	.	.
ND2Saca32	A	.	.	.	A	.	T	.
ND2Saca33	.	.	.	.	.	.	.	.
ND2Saca34	.	.	.	.	.	.	.	.
ND2Saca36	A	.	.	.	.	.	.	.
ND2Saca37	.	.	.	.	.	.	.	.
ND2Saca38	.	.	.	.	.	.	.	.
ND2Saca39	A	.	.	.	.	.	.	.
ND2Saca42	.	.	.	.	.	.	.	.
ND2Saca43	A	T	.	.	.	.	.	.
ND2Saca44	A	.	.	.	.	.	.	.
ND2Saca45	.	.	.	A	.	.	.	.

Nota. **KF624601.1** corresponde a la secuencia del mitogenoma completo que indica la posición, y **KJ602165** corresponde a la secuencia de referencia con la que se alineó las secuencias de este estudio. Los puntos significan que no hay cambios.

Apéndice D.

Composición nucleotídica de los genes mitocondriales ATPasa6-8 y ND2 de S. castaneiventris y

S. cyanifrons

	<i>Saucerottia castaneiventris</i>		<i>Saucerottia cyanifrons</i>	
	ATPasa6-8	ND2	ATPasa6-8	ND2
C:	35,86%	34,38%	35,86%	34,94%
T:	25,13%	24,22%	25,14%	23,65%
A:	29,31%	31,06%	29,94%	30,91%
G:	9,71%	10,35%	9,07%	10,49%

Apéndice E.

Resultados de AMOVA y diferenciación genética de S. castaneiventris

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Componente de varianza	% de variación
Entre poblaciones			
ATPasa6-8	0,403	-0,0176	-2,534
ND2	0,357	-0,00409	-0,955
En las poblaciones			
ATPasa6-8	24,152	0,71	102
ND2	15,129	0,432	100

Apéndice F.

Estimaciones bayesianas del tamaño efectivo poblacional (N_e) y su relación con el tamaño

censal (N) para los loci mitocondriales ATPasa6-8 y ND2 en S. castaneiventris

Locus	Relación N_e/N (%)	Interpretación
ATPasa6-8	4,42 – 2,51	Proporción moderada de individuos efectivos
ND2	3,42 – 0,55	Proporción baja; posible efecto de deriva

Nota. El tamaño censal total se tomó de Renjifo *et al.* (2016): 24.120 individuos.

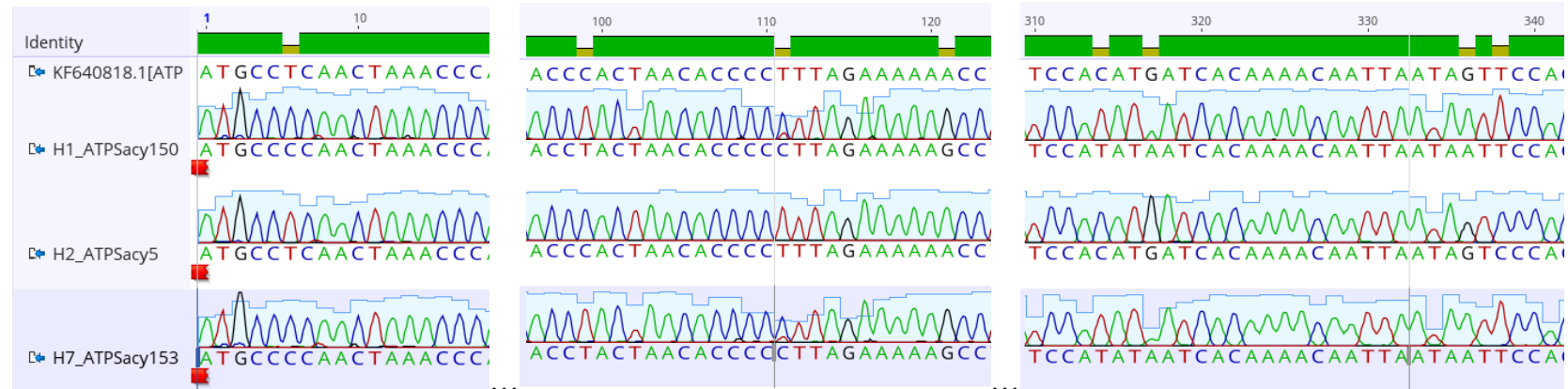
Apéndice G.

1. Sitios polimórficos de *S. cyanifrons* en el gen *ATPasa6-8*

Sitio	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
KF624601.1	7801	7876	7894	7906	7916	7919	7939	7989	8022	8041	8082	8109	8112	8115	8131	8133	8178	8215	8253	8262	8323	8331	8406	8463
ATPSacy142	C	A	T	C	G	C	A	T	C	T	C	T	A	C	A	T	G	T	T	A	G	A	A	A
ATPSacy4	C	A	T	C	G	T	A	T	C	T	C	T	A	C	A	T	G	T	T	A	G	A	A	A
ATPSacy5	T	.	C	T	A	.	.	C	.	C	T	C	G	.	G	C	A	C	.	G	.	G	.	G
ATPSacy6	T	.	C	T	A	.	.	C	.	C	T	C	G	.	G	C	A	C	.	G	.	G	.	G
ATPSacy7	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
ATPSacy8	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.
ATPSacy13	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.
ATPSacy25	T	.	C	T	A	.	.	C	.	C	T	C	G	.	G	.	A	C	.	G	.	G	.	G
ATPSacy42	T	G	C	T	.	.	.	C	.	C	T	C	G	.	.	.	A	C	.	G	.	G	.	G
ATPSacy67	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.
ATPSacy79	T	.	C	T	A	.	.	C	.	C	T	C	G	.	G	C	A	C	.	G	.	G	.	G
ATPSacy98	T	.	C	T	A	.	.	C	.	C	T	C	G	.	G	C	A	C	.	G	.	G	.	G
ATPSacy107	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.
ATPSacy109	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.
ATPSacy116	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.
ATPSacy121	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
ATPSacy122	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.
ATPSacy123	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.
ATPSacy124	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	G	.	.	.	.
ATPSacy125	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.
ATPSacy126	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.
ATPSacy127	.	.	.	T	A	.	.	C	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.
ATPSacy128	.	.	.	.	A	.	.	C	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.
ATPSacy129	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.
ATPSacy130	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.
ATPSacy131	.	.	.	.	.	.	T	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.
ATPSacy132	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G
ATPSacy133	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.
ATPSacy134	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
ATPSacy136	T	.	C	T	A	.	.	C	.	C	T	C	G	.	G	C	A	C	.	G	.	G	.	G
ATPSacy137	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.
ATPSacy139	T	.	C	T	A	.	.	C	.	C	T	C	G	.	G	C	A	C	.	G	.	G	.	G
ATPSacy140	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G
ATPSacy150	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
ATPSacy151	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
ATPSacy152	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.
ATPSacy153	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.

Nota. **KF624601.1** a la secuencia del mitogenoma completo que indica la posición, y **ATPSacy142** corresponde a la secuencia de referencia con la que se alineó las secuencias de este estudio. Los puntos significan que no hay cambios.

2. Electroferogramas de los haplotipos de *S. cyanifrons*. Se muestran la secuencia de referencia KF640818.1, los haplotipos H1, H2 y H7; los nucleótidos 6, 99, 111, 121, 314, 317, 336 y 338 sitios de cambio.

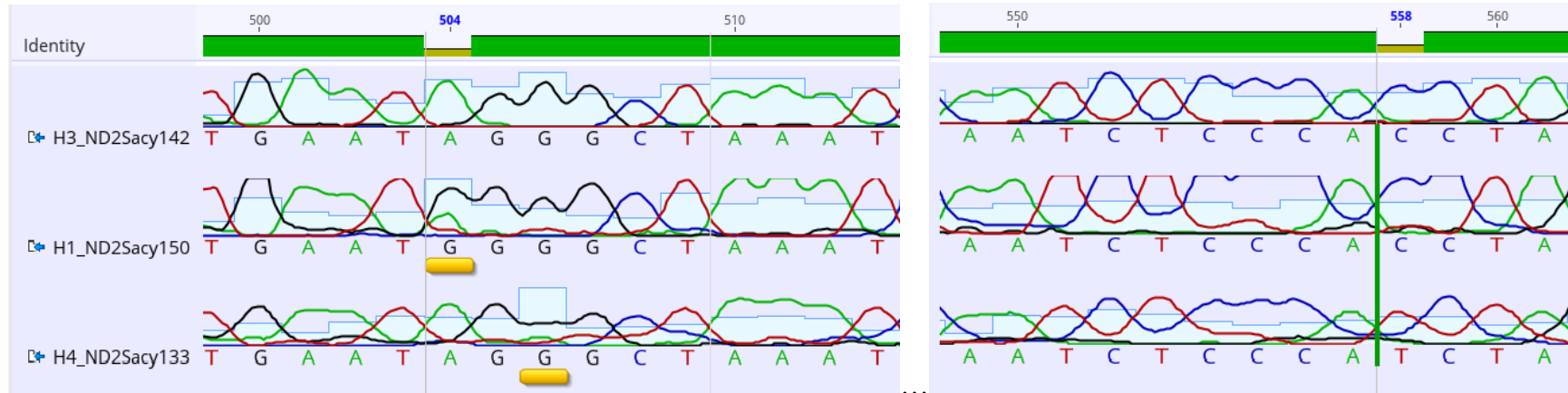


Apéndice H.*1. Sitios polimórficos de S. cyanifrons en el gen ND2*

Sitios	1	2	3	4	5	6	7	8
KF624601.1	4095	4113	4437	4438	4491	4494	4545	4721
ND2Sacy142	T	T	C	C	A	G	C	C
ND2Sacy4	.	.	.	.	.	.	.	.
ND2Sacy5	.	.	.	.	.	.	.	T
ND2Sacy6	.	.	.	.	.	.	.	T
ND2Sacy45	.	.	.	.	.	.	.	.
ND2Sacy107	C	C	T	.	.	.	.	T
ND2Sacy110	.	.	.	.	.	.	.	.
ND2Sacy121	.	.	.	.	.	.	.	.
ND2Sacy122	.	.	.	.	.	.	.	.
ND2Sacy124	.	.	.	.	.	.	.	.
ND2Sacy125	.	.	.	.	.	.	.	.
ND2Sacy126	.	.	.	.	.	.	.	.
ND2Sacy127	.	.	.	.	G	.	.	.
ND2Sacy131	.	.	.	.	G	.	.	.
ND2Sacy132	.	.	.	.	.	.	.	.
ND2Sacy133	.	.	.	.	.	.	T	.
ND2Sacy134	.	.	.	.	.	.	.	.
ND2Sacy136	.	.	.	T	.	.	.	T
ND2Sacy137	.	.	.	.	.	.	.	.
ND2Sacy140	.	.	.	.	.	.	.	.
ND2Sacy146	.	.	.	.	.	.	.	.
ND2Sacy148	.	.	.	.	G	.	.	.
ND2Sacy150	.	.	.	.	G	.	.	.
ND2Sacy151	.	.	.	.	G	.	.	.
ND2Sacy152	.	.	.	.	G	.	.	.
ND2Sacy153	.	.	.	.	.	A	.	.
ND2Sacy155	.	.	.	.	.	.	T	.

Nota. **ATPSacy142** corresponde a la secuencia de referencia con la que se alineó las secuencias de este estudio, y **KF624601.1** a la secuencia del mito genoma completo que indica la posición. Los puntos significan que no hay cambios.

2. *Electroferogramas de los haplotipos de S. cyanifrons. Se muestran la secuencia de referencia Sacy142, los haplotipos H1, H3 y H4. Los nucleótidos 504 y 558 sitios de cambio.*



Apéndice I.*Resultados de AMOVA y diferenciación genética de Saucerottia cyanifrons*

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Componente de varianza	% de variación
Entre poblaciones			
ATPasa6-8	9,735	0,411	9,931
ND2	0,471	0,00886	-1,58
En las poblaciones			
ATPasa6-8	130,589	3,731	90,0069
ND2	14,270	0,57079	101,58