



UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO

Facultad de Ciencias Agrarias

Licenciatura en Recursos Naturales

**Historia biogeográfica del Gran Chaco: análisis  
filogeográfico y modelado de nicho de *Microspingus  
melanoleucus* (Aves: Thraupidae).**

Tesinista: **Bárbara Ruth Delgado**

Director: **Dr. Gustavo Sebastián Cabanne**

Co- directora: **Dra. Virginia Yanina Mogni**

Lugar de trabajo: Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia,  
Ciudad Autónoma de Buenos Aires.

- Zavalla, 28 de diciembre de 2020 -

## ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS.....	4
RESUMEN .....	5
ABSTRACT .....	6
INTRODUCCIÓN .....	7
HIPÓTESIS Y PREDICCIONES .....	10
OBJETIVOS.....	10
MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
Modelo de estudio .....	11
Muestreo para análisis genéticos.....	11
Procesamiento de datos genéticos .....	13
Redes de haplotipos.....	14
Índices de diversidad, varianza y neutralidad.....	14
Dimensión espacial de los polimorfismos .....	14
Modelados de distribución .....	15
RESULTADOS .....	17
Análisis de secuencias .....	17
Modelados de distribución .....	20
DISCUSIÓN.....	24
Diferenciación Norte-Sur versus Oeste-Este.....	24
Reconstrucción climática y dinámicas biogeográficas chaqueñas.....	25
Dinámicas biogeográficas extra-chaqueñas.....	28
CONCLUSIÓN .....	29
BIBLIOGRAFÍA.....	30

*A mi papá, quien está sonriéndome desde lejos*

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer en primer lugar a la Universidad Pública, ya que sin sus puertas abiertas nunca hubiera llegado hasta aquí.

Agradezco a mi familia, por todo el esfuerzo realizado para que yo pueda estudiar y alcanzar un título de grado.

A quienes me acompañaron y a quienes me acompañan con amor todos estos años, por su comprensión, apoyo incondicional y por enseñarme que la vida está llena de magia.

A toda la gente hermosa que conocí en la Facultad de Ciencias Agrarias, que me dieron los mejores años de mi vida. Son quienes me inspiraron y me inspiran, y la familia que construí y elegí. Gracias por hacerme experimentar la alegría, la amistad y la responsabilidad y el deseo de construir un mundo menos injusto, siempre acompañados/as. Banda Activando, Birra La Lic y Linces, gracias!

A mi compañera fiel, la Negrita, quien literalmente estuvo a mi lado por 7 largos años de estudios.

Agradezco a la Facultad de Ciencias Agrarias, mi segunda casa por todos estos años y a la Cátedra de Botánica por abrirme sus puertas desde casi el comienzo de mi formación. Asimismo, y particularmente a Virginia Mogni, co-directora de esta tesina y a quien admiro mucho, ha sabido acompañarme y abrazarme con palabras en este año tan particular.

Agradezco al Museo Argentino de Ciencias Naturales, por recibirme en sus instalaciones y a Sebastián Cabanne, director de mi tesina y posibilitador y guía de esta gran experiencia.

Gracias a quienes me apoyaron de alguna u otra forma, por confiar en mí, darme palabras de aliento siempre que las necesité, un abrazo o un oído gentil.

Nunca me alcanzarán las palabras para agradecer,

**GRACIAS GRACIAS GRACIAS!!**

## RESUMEN

Las fluctuaciones climáticas del Cuaternario afectaron a nivel global la distribución de la vegetación, condicionando conjuntamente la distribución y evolución de la fauna asociada. El Gran Chaco integra la Diagonal de formaciones abiertas, y es objeto fundamental en hipótesis de conexiones pasadas entre la Selva Atlántica y la Amazonía y las Yungas. El objetivo de esta investigación fue evaluar si el Gran Chaco fue escenario de expansión de bosques higrófilos durante las fluctuaciones climáticas del Pleistoceno, que podrían haber conectado la Selva Atlántica y las Yungas. Para poner a prueba la hipótesis se utilizó como modelo de estudio un ave endémica chaqueña, la Monterita Cabeza Negra *Microspingus melanoleucus* (Aves: Thraupidae). Se estudiaron secuencias de ADN de marcadores nucleares y mitocondriales de 27 muestras de distintas localidades de Argentina y Bolivia, y se las dividió en cuatro grupos (Norte, Sur, Este y Oeste). Se generaron redes de haplotipos, se estimó la diversidad, estadísticas sumarias y se realizaron AMOVAs. El análisis genético se complementó con modelados de nicho ecológico para el presente y períodos pasados (Último Interglacial, Último Glacial Máximo y Holoceno Medio). Los resultados indicaron alto flujo génico en toda la distribución del ave, sin que existan linajes restringidos geográficamente. Los modelados de nicho no reflejaron grandes modificaciones en la distribución, aunque sugirieron para el presente, ausencia de hábitat a lo largo de una diagonal en sentido noreste-sudoeste, la cual se agudizó en el Holoceno Medio y desapareció en el Último Glacial Máximo. Estas variaciones se encontrarían relacionadas con cambios microclimáticos dentro del Gran Chaco. Los resultados obtenidos permiten concluir estabilidad temporal de la ecorregión chaqueña, por lo que se rechaza la hipótesis de expansiones de bosques higrófilos en el área, en una magnitud tal que haya fragmentado la distribución del modelo de estudio en Norte/Sur para el período histórico analizado.

**Palabras clave:** Filogeografía – Gran Chaco – *Microspingus* – Modelado de Nicho Ecológico – Pleistoceno.

## ABSTRACT

Quaternary climatic fluctuations affected the distribution of vegetation at a global level, conditioning the distribution and evolution of the associated fauna. The Gran Chaco, included in the Diagonal of open formations, is a fundamental region to test hypothesis of past connections between the Atlantic Forest and the Amazon and the Yungas. The aim of this study was to evaluate whether the Gran Chaco was the stage of expansion of wet forests during Pleistocene climatic oscillations, which could have connected the Atlantic Forest and the Yungas. To test the hypothesis, an endemic Chaco bird, the Black-capped Warbling Finch *Microspingus melanoleucus* (Aves: Thraupidae) was used as study model. DNA sequences of nuclear and mitochondrial markers from 27 samples of different locations from Argentina and Bolivia were divided into four groups (North, South, East and West) and studied using a phylogeographic approach. Haplotype networks were generated, diversity and summary statistics were estimated and AMOVAs were performed. The genetic analysis was complemented with ecological niche modeling (ENM) for the present and past periods (Last Interglacial, Last Glacial Maximum and Middle Holocene). The results indicated high gene flow among the studied populations, with no geographically restricted lineages. The niche models showed a relatively conserved distribution range across historic periods, although they suggested for the present and particularly in the Mid Holocene absence of habitat suitability along a diagonal in the northeast-southwest direction. These variations would be related to microclimatic changes within the Gran Chaco. The results obtained support the temporal stability of the Gran Chaco ecoregion, and reject the hypothesis of expansions of hygrophilous forests in an extent that they have fragmented the distribution of the study model into North/South for the historical period considered.

**Key words:** Ecological Niche Modelling – Gran Chaco – *Microspingus* – Phylogeography – Pleistocene.

## INTRODUCCIÓN

Históricamente, el clima global ha sido variable, fluctuando entre períodos glaciales e interglaciales, atribuidos fundamentalmente a cambios en los principales parámetros orbitales (Pisias y Moore, 1981; Paillard, 1998). La intensidad y duración de estos ciclos se profundizaron durante el Cuaternario, luego de la Transición del Pleistoceno Medio, hace alrededor de 900 miles de años –ka-, dando lugar a períodos glaciales e interglaciales más intensos (Pisias y Moore, 1981; Clark *et al.*, 2006). Esta alternancia climática intervino a escala global en la modificación de las condiciones ambientales, introduciendo cambios en la distribución de la vegetación (Haffer, 1969; Vuilleumier, 1971; Ab'Sáber, 1977). Las consecuencias de estos cambios en los procesos de diversificación biológica han sido ampliamente estudiadas en distintos grupos de organismos y biomas, dando origen a una gran variedad de hipótesis al respecto (Solbrig, 1976; Moritz *et al.*, 2000). Por ejemplo, según Haffer (1969) en sus estudios en los bosques tropicales del Amazonas, el clima seco y frío de las etapas glaciales propiciaría una contracción/fragmentación de las formaciones húmedas y sus especies asociadas, mientras que el clima húmedo y cálido de las etapas interglaciales se asocia a una expansión de estas formaciones y sus especies. No obstante, el impacto de los cambios climáticos pasados en muchas regiones, aún es controvertido y discutido, particularmente en relación a la biogeografía histórica de los biomas de áreas abiertas (Werneck, 2011).

La ecorregión del Gran Chaco comprende la vegetación espinosa que cubre las llanuras del centro-norte de Argentina, oeste de Paraguay y sudeste de Bolivia, ingresando en Brasil como una franja estrecha que sigue el curso del río Paraguay en Mato Grosso do Sul (Prado, 1993). Desde un punto de vista climático (aunque de manera poco frecuente en la sección nordeste), es compatible para prácticamente toda la región del Gran Chaco la ocurrencia de heladas (Sarmiento, 1972), y existe una variación N-S en las temperaturas medias anuales desde aproximadamente 26° en el N de Paraguay a 17° o menos en el Chaco Serrano (Prado, 1993). En relación a las precipitaciones, existe un gradiente E-O que va desde alrededor de 1.200 mm a 450 mm anuales, disminuyendo hasta 350 mm hacia el sudoeste (Prado, 1993; Sarmiento, 1972). La estación seca es el invierno, cuya duración varía entre 2 a 7 meses de este a oeste (Sarmiento, 1972). Dada la alta presencia de gradientes en las variables climáticas, edáficas, geomorfológicas y botánicas de esta gran región muchos autores la han sectorizado para su mayor comprensión y facilidad de estudio

(Cabrera, 1976; Morello y Adámoli, 1968; Popolizio, 1970; Prado, 1993). En este trabajo se toma de referencia la regionalización simplificada de Prado (1993) a partir de aquella llevada a cabo por Morello y Adámoli (1968): Chaco Oriental, Chaco Central, Chaco Occidental y Chaco Serrano.

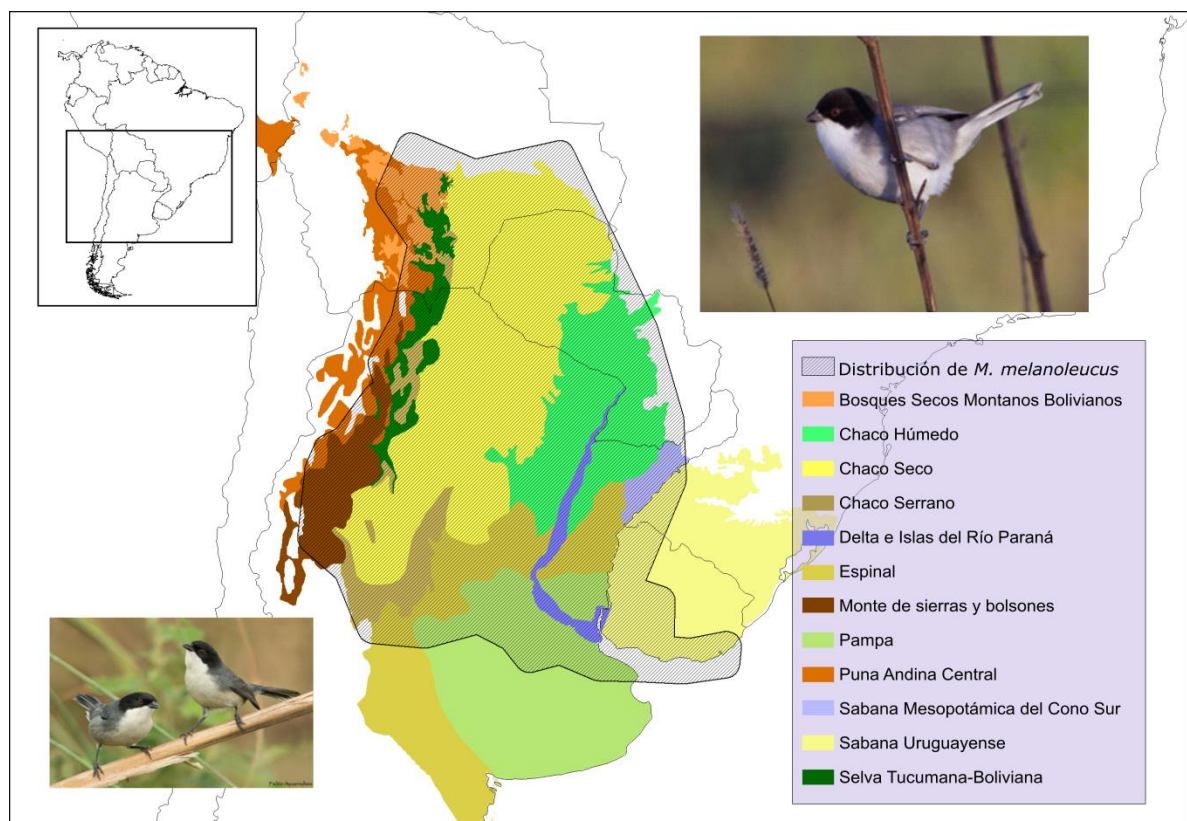
Esta región, al igual que el resto del continente, también experimentó cambios climáticos durante el Cuaternario (Iriondo, 1993), pero aún no existe un consenso claro de la magnitud, ni del impacto de estos en la flora y fauna. Según Iriondo (1993), en estas latitudes los cambios se expresan en las precipitaciones y no tanto en las temperaturas, por lo tanto, la alternancia de períodos glaciales e interglaciales se expresaría en el territorio en forma de alternancia de períodos más húmedos y más secos respectivamente. Así, para el Último Máximo Glacial se registra un período árido para la región según análisis estratigráficos (Iriondo, 1993), una transición hacia un clima con mayor humedad en el Pleistoceno Superior-Holoceno Inferior, mientras que en el Holoceno Medio se ha reportado un período de mayor aridez (Piovano *et al.*, 2009). Luego, sobrevino un aumento relativamente progresivo de la humedad, con algunos episodios áridos de baja intensidad y duración (como la Pequeña Edad de Hielo), hasta valores similares al clima actual (Werneck, 2011; Piovano *et al.*, 2009).

La dinámica del Chaco podría reflejar fenómenos en fase ocurridos en biomas vecinos más húmedos. Por ejemplo, las alopatrías encontradas en las aves de las Yungas y la Selva Atlántica surgirían principalmente a partir de aislamientos y reconexiones sucesivas entre estas dos regiones, a causa de las variaciones climáticas del Pleistoceno incidentes en la vegetación, condicionando respectivamente la distribución y movilidad de la fauna asociada (Nores, 1992). Particularmente en los períodos húmedos, el Chaco habría sido escenario de expansiones de bosques higrófilos desde el sur de las Yungas hasta la Selva Atlántica, y viceversa, por ejemplo, a lo largo de los ríos Bermejo y Pilcomayo (Nores, 1992). Estudios recientes evaluaron la conexión entre estas formaciones húmedas, a través de áreas que actualmente están ocupadas por las regiones del Cerrado y/o el Chaco (Trujillo-Arias *et al.*, 2017; Trujillo-Arias *et al.*, 2018; Cabanne *et al.*, 2019). Las expansiones de bosques higrófilos en el seno del Gran Chaco podrían haber impactado a la distribución de organismos asociados a esta última región, por ejemplo, actuando como barrera e impidiendo el intercambio génico entre poblaciones al sur y al norte de esta.

El abordaje complementario entre métodos genéticos y modelado de distribución es una herramienta útil e integrada para intentar dilucidar fenómenos pasados (Chan *et*

*al.*, 2011). De esta manera, en los últimos años, estudios que combinan modelado de nicho ecológico y enfoques filogeográficos han permitido avanzar en la reconstrucción de historias demográficas de especies endémicas y sus patrones de diversificación, que contribuyen al sustento de hipótesis biogeográficas de los distintos biomas en los que habitan (Graham *et al.*, 2004; Knowles y Alvarado-Serrano, 2010; Trujillo-Arias *et al.*, 2018). Para la región del Gran Chaco, son escasas las investigaciones filogeográficas, y más aún aquellas que utilizan aves como modelo de estudio. Las aves endémicas de áreas abiertas, a pesar de su capacidad de dispersión y, por ende, de la posibilidad de alcanzar mayores valores de flujo génico, pueden encubrir altos niveles de estructuración por presencia de barreras geográficas vigentes o ya ausentes (Rocha *et al.*, 2020).

La Monterita Cabeza Negra (*Microspingus melanoleucus* -D'Orbigny & Lafresnaye, 1837-, Aves: Thraupidae), se distribuye en bosques, sabanas y cercanías de selvas (Narosky e Yzurieta, 2010) de Sudamérica del Gran Chaco y áreas aledañas (eBird, [www.ebird.com](http://www.ebird.com)), y se considera un buen modelo para estudiar eventos históricos de esas regiones debido a que es abundante y endémico (Figura 1).



**Figura 1.** Distribución actual de *Microspingus melanoleucus* e imágenes de la especie. Las ecorregiones están basadas en Dinerstein *et al.* (2017), con modificaciones. Créditos fotográficos: Gustavo Fernando Durán (arriba) y Pablo Aguerrebere (abajo).

Es por ello que se propone poner a prueba hipótesis sobre la dinámica biogeográfica del Gran Chaco, por medio del estudio filogeográfico y de modelado de nicho de la Monterita cabeza negra. Para esto se utilizaron datos genéticos pre existentes y se realizaron análisis de genética de poblaciones y de nicho para el presente y el pasado.

## HIPÓTESIS Y PREDICCIONES

Las expansiones de comunidades vegetales higrófilas dentro del Gran Chaco, asociadas a fluctuaciones climáticas del Pleistoceno fragmentaron y redujeron el área ocupada por organismos vinculados a ambientes xerofíticos chaqueños.

Predicciones:

1- Las poblaciones de organismos asociados a bosques xerofíticos como *Microspingus melanoleucus*, ubicadas a cada lado de la barrera de bosques higrófilos, estarán aisladas genéticamente. A su vez, se espera encontrar un gradiente de diversidad genética entre las regiones afectadas por la expansión de bosques higrófilos y aquellas más estables, siendo mayor en estas últimas.

2- Los modelos de nicho de organismos chaqueños proyectados al período de máxima expansión de bosques higrófilos presentarán baja disponibilidad de hábitat en comparación al presente, en particular en las regiones de supuesta expansión de bosques higrófilos.

## OBJETIVOS

**Objetivo general:** Poner a prueba hipótesis sobre la dinámica biogeográfica histórica del Gran Chaco, a través del estudio filogeográfico y el modelado de nicho de la especie endémica *Microspingus melanoleucus* (Aves: Thraupidae).

**Objetivos específicos:**

- Analizar la demografía histórica de poblaciones de *Microspingus melanoleucus* mediante el estudio de secuencias de ADN mitocondriales y nucleares.
- Modelar el nicho y distribución geográfica de la especie en el presente y en el pasado.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Modelo de estudio*

La Monterita cabeza negra (*Microspingus melanoleucus*) es una especie monotípica de ave paseriforme perteneciente a la familia Thraupidae. De comportamiento inquieto, se desplaza generalmente en parejas o en grupos de seis-ocho individuos (De la Peña, 2020). En relación a su dieta, Malizia *et al.* (2005) la clasifica como granívora-insectívora, aunque también existen registros de ejemplares alimentándose de frutos, flores y excepcionalmente de corteza de agalla y néctar (De la Peña y Pensiero, 2003; Fracchia y Aranda-Rickert, 2015). El nido tiene forma de tacita, es sostenido o atado a tallos de plantas y aloja tres huevos claros ovoidales con manchas oscuras concentradas en el polo mayor (De la Peña, 2020). Como depredadores de adultos se ha registrado al Esparvero común (*Accipiter striatus*), mientras que de huevos al Tordo renegrado (*Molothrus bonariensis*) (De la Peña, 2020). Su distribución incluye bosques xerófilos y sabanas del norte y centro de Argentina, oeste y sur de Uruguay, oeste, centro y sur de Paraguay, sudeste de Bolivia y sur de Brasil (Narosky y Yzurieta, 2010; Figura 1). Se considera un buen modelo de estudio para evaluar la hipótesis de trabajo debido a que es abundante y asociada a la región y ambiente analizados en este proyecto. Además, es fácilmente reconocible lo que brinda gran confiabilidad a las bases de datos de registros utilizadas para los modelos de nicho.

### *Muestreo para análisis genéticos*

Los datos genéticos para el presente trabajo fueron colectados en el contexto de un proyecto previo; no obstante, esta es la primera vez que son analizados. Se estudiaron 27 muestras de *Microspingus melanoleucus* colectadas en 11 localidades de Argentina y Bolivia (ver Tabla 1 y Figura 2). Se extrajo ADN de muestras de músculo y sangre. El ADN fue extraído siguiendo el protocolo de extracción en filtros de fibra de vidrio (Ivanova *et al.*, 2006). Fueron amplificadas y secuenciadas muestras propias del gen mitocondrial Citocromo B (Cit B, 1.021 pares de bases –pb-) y dos marcadores nucleares, resultando en 16 secuencias para Lipoproteína de muy baja densidad (VLDL, 487 pb) ligado al cromosoma sexual Z, y seis para Gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa (G3-pDH, 377 pb). Para amplificar Citocromo B se siguió a Loughheed *et al.* (2000). En el caso de los marcadores nucleares se siguieron los protocolos de Fjeldså *et al.* (2003) para G3-pDH, y los de Borge *et al.* (2005an) para VLDL. Las

secuencias de ADN fueron obtenidas en Macrogen (Seúl, Corea) o en el Instituto de Biotecnología de INTA Castelar (Buenos Aires, Argentina).

El set de secuencias de Cit B fue complementado con secuencias disponibles en bases de datos online (ver Tabla 1).

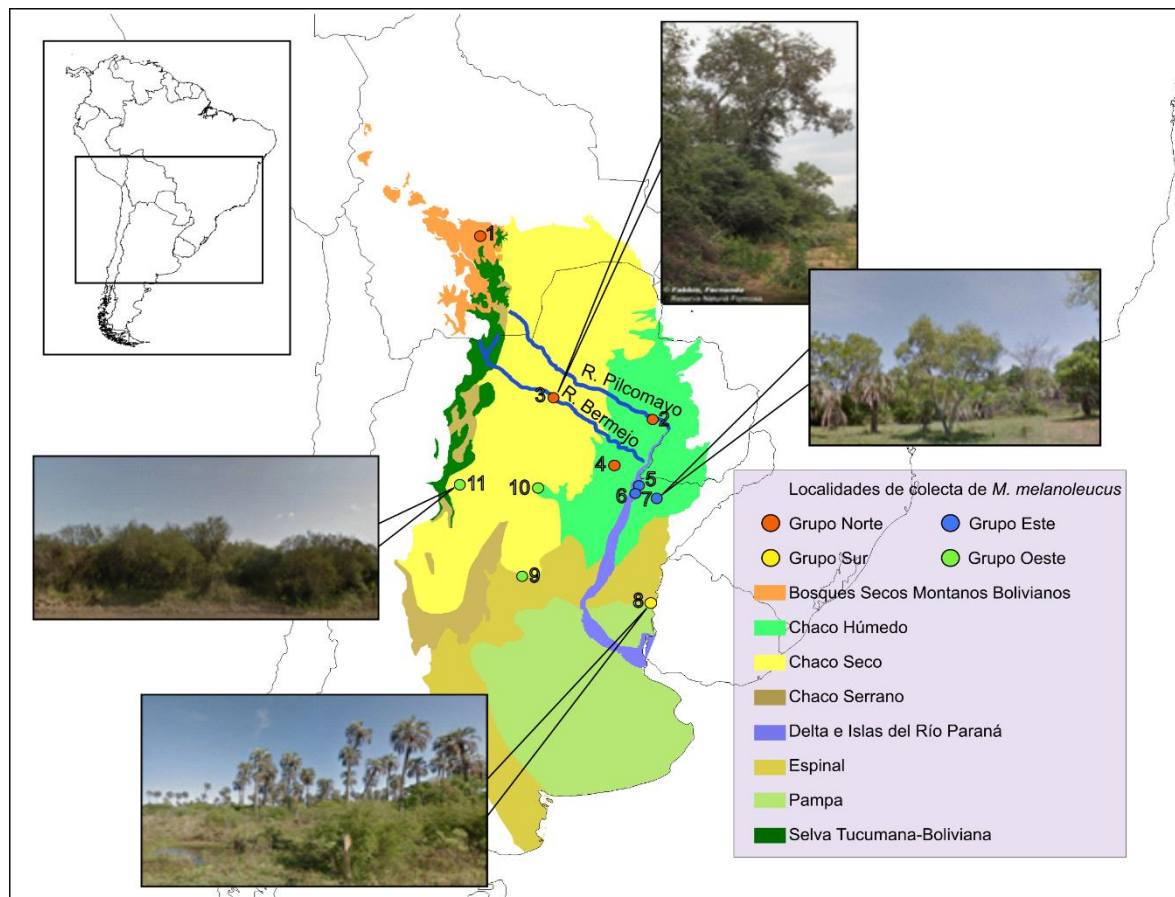
**Tabla 1.** Detalle de los ejemplares de *M. melanoleucus* y su localidad de colecta. También se indica para cuáles marcadores se obtuvieron secuencias de alta calidad, utilizadas posteriormente. Las secuencias disponibles en GenBank están acompañadas del código de acceso correspondiente.

ID de localidad	Localidad	ID de muestra	Origen accesión	Cyt B	VLDL	G3-pdh
1	Palmarcito, Chuquisaca, Bolivia	-	GenBank	AY005210.1	No	No
2	PN <sup>a</sup> Pilcomayo, Estero "Poi", Formosa	MACN CtOr <sup>b</sup> -3178	Propia	Sí	Sí	No
	PN Pilcomayo, Estero "Poi", Formosa	MACN CtOr-3182	Propia	Sí	Sí	No
3	RN Formosa, Seccional Río Teuco, Formosa	MACN CtOr-5367	Propia	Sí	No	No
	RN <sup>a</sup> Formosa, Seccional Río Teuco, Formosa	MACN CtOr-5379	Propia	Sí	No	Sí
	RN Formosa, Seccional Río Teuco, Formosa	MACN CtOr-5397	Propia	Sí	No	Sí
	RN Formosa, Seccional Río Teuco, Formosa	MACN CtOr-5429	Propia	Sí	Sí	No
4	PN Chaco, Chaco	MACN CtOr-4794	Propia	Sí	Sí	No
	PN Chaco, Chaco	MACN CtOr-4801	Propia	Sí	No	Sí
	PN Chaco, Chaco	MACN CtOr-4802	Propia	Sí	No	Sí
	PN Chaco, Chaco	MACN CtOr-4803	Propia	Sí	Sí	No
	PN Chaco, Chaco	MACN CtOr-4804	Propia	Sí	Sí	No
5	EBCO, Corrientes	MACN CtOr-1434	Propia	Sí	Sí	No
	EBCO, Corrientes	MACN CtOr-1632	Propia	Sí	Sí	No
	EBCO, Corrientes	MACN CtOr-1644	Propia	Sí	Sí	No
6	Manuel Derqui, Corrientes	-	GenBank	FJ799880.1	No	No
7	PN Mburucuyá, Corrientes	MACN CtOr-4986	Propia	Sí	Sí	No
	PN Mburucuyá, Corrientes	MACN CtOr-5009	Propia	Sí	Sí	No
	PN Mburucuyá, Corrientes	MACN CtOr-5010	Propia	Sí	Sí	No
8	PN El Palmar, Entre Ríos	MACN CtOr-4316	Propia	Sí	Sí	No
	PN El Palmar, Entre Ríos	MACN CtOr-4323	Propia	Sí	Sí	No
	PN El Palmar, Entre Ríos	MACN CtOr-4324	Propia	Sí	Sí	No
	PN El Palmar, Entre Ríos	MACN CtOr-4378	Propia	Sí	Sí	No
9	La Para, Río Primero, Córdoba	MACN CtOr-5298	Propia	Sí	No	Sí

	La Para, Río Primero, Córdoba	MACN CtOr-5319	Propia	Sí	No	Sí
10	Quimilí, Santiago del Estero	-	GenBank	AY005208.1	No	No
11	Monteagudo, Tucumán	-	GenBank	AY005209.1	No	No

<sup>a</sup> PN: Parque Nacional; RN: Reserva Natural

<sup>b</sup> MACN CtOr: muestras de la colección de tejidos de Ornitología del MACN (Museo Argentino de Ciencias Naturales)



**Figura 2.** Distribución de las localidades de colecta de datos genéticos de *M. melanoleucus*, con su número ID correspondiente (Tabla 1). Se encuentran indicados los grupos de pertenencia geográfica con colores distintivos. Las imágenes corresponden a los paisajes de algunos de los sitios de colecta y fueron tomadas de Google Maps y del Sistema de Información de Biodiversidad - APN. Ecorregiones según Dinerstein *et al.* (2017), con modificaciones.

### Procesamiento de datos genéticos

Los electroferogramas se procesaron en CodonCode Aligner v 8.0.2 (Codon Code Corp., Dedham, MA). Se utilizó el algoritmo Clustal para alinear las secuencias. La edición manual consistió en el corte de los extremos, y la interpretación de las posiciones heterocigotas en el caso de los marcadores nucleares. Posteriormente se procedió a separar las fases de los marcadores nucleares con la función PHASE

(Stephens y Donnelly, 2003) de DNAsp v 6.12.03 x64 (Rozas *et al.*, 2017). En el caso de VLDL, un marcador nuclear asociado a los cromosomas sexuales, el *phasing* sólo se realizó para especímenes macho (heterocigotas), pues las hembras solo poseen un cromosoma Z (secuencia única de VLDL).

Para facilitar los análisis posteriores, los ejemplares fueron clasificados en cuatro grupos según su localidad de origen y afín a la hipótesis de trabajo, de la siguiente manera: Norte (con secuencias de Formosa, Chaco y Bolivia), Este (con secuencias de Corrientes), Sur (con secuencias de Entre Ríos) y Oeste (con secuencias de Córdoba, Tucumán y Santiago del Estero). Los grupos mencionados fueron conformados en DNAsp v 6.12.03 x64 (Rozas *et al.*, 2017). Su distribución geográfica puede apreciarse en la Figura 2.

#### *Redes de haplotipos*

Mediante el programa Network v5.0.0.3 (Bandelt *et al.*, 1999) se analizó la distribución y el agrupamiento de los haplotipos con el armado de redes (*Median Joining Network*). Posteriormente se identificó a cada grupo geográfico con un color.

#### *Índices de diversidad, varianza y neutralidad.*

Se calcularon los valores de diversidad nucleotídica ( $\pi$ ) y diversidad haplotípica (H) de cada grupo geográfico con MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms (Kumar *et al.*, 2018). Arlequin v 3.5.2.2 (Excoffier y Lischer, 2010) fue utilizado para evaluar distintos agrupamientos entre regiones mediante un análisis de varianza molecular (AMOVA), y para evaluar la evolución y el tamaño poblacional mediante las pruebas de neutralidad de Tajima (Tajima, 1989) y de Fu (Fu, 1997). El AMOVA no se realizó para el marcador G3pdh por poseer secuencias de sólo dos grupos geográficos, lo que imposibilita evaluar agrupamientos.

#### *Dimensión espacial de los polimorfismos*

Se utilizó Geneland (Guillot *et al.*, 2005) en el entorno de R Studio (RStudio Team, 2015) para estimar el número más probable de poblaciones genéticamente diferenciadas, mediante un análisis genético-espacial. En primer lugar, mediante

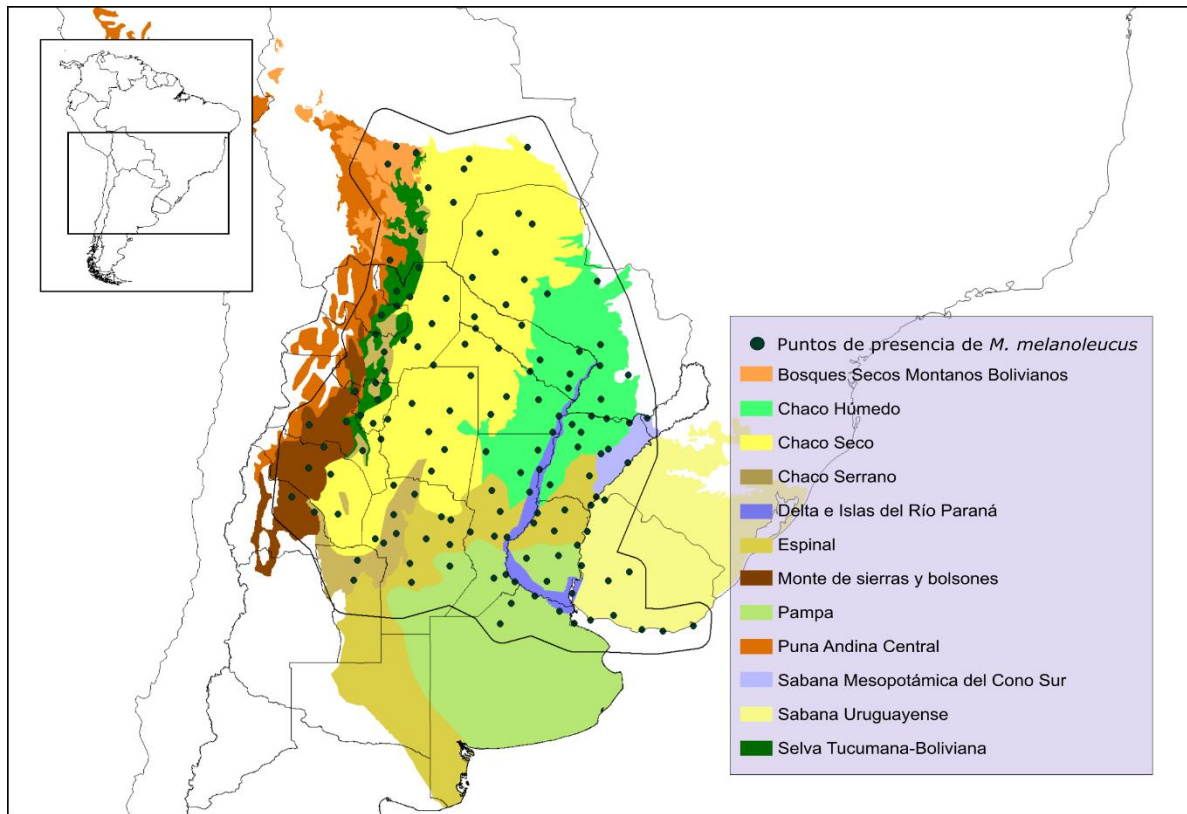
*Multiple independent runs* (10) se infirió el número más probable de poblaciones, para luego configurar el programa en base a este resultado y obtener mapas más confiables. Se realizaron tres repeticiones con los mismos parámetros.

#### *Modelados de distribución*

Se utilizaron modelos de nichos del Pleistoceno Superior como indicadores de cambios en la distribución del ave de estudio durante tales períodos, así como durante periodos previos semejantes. Debido a que durante la segunda mitad del Pleistoceno los cambios climáticos habrían sido cíclicos y relativamente semejantes, se asumió que los modelos obtenidos para tales períodos son indicadores de periodos previos (Anderson *et al.*, 2013).

Para realizar los modelados de distribución, se utilizaron las capas climáticas disponibles en WorldClim (worldclim.org) para cuatro períodos: presente, Holoceno Medio –HM– (~6.000 años antes del presente –ap–), Último Máximo Glacial –UMG– (~22.000 años ap) y Último Interglacial –UI– (~140.000-120.000 años ap). En el caso de los tres períodos más recientes fueron descargadas las capas climáticas con una resolución de 2,5 minutos, mientras que para el Último Interglacial la resolución inicial fue de 30 segundos, y posteriormente fue modificada a 2,5 minutos en QGIS v3.6.3 (QGIS Development Team, 2019). En el caso del Holoceno Medio y el Último Máximo Glacial se utilizaron las capas correspondientes a dos modelos climáticos: CCSM v4 y MIROC-ESM. Todas las capas fueron cortadas al área de estudio en DIVA-GIS v7.5 (Hijmans *et al.*, 2007).

Se seleccionaron 140 puntos de presencia uniformemente distribuidos (ver Figura 4) de *Microspingus melanoleucus* disponibles en bases de datos online como Global Biodiversity Information Facility (GBIF; www.gbif.org), y se proyectó el mapa del modelado de distribución para el presente en el programa Maxent -Maximum Entropy Species Distribution Modeling- v3.4.1 (Phillips *et al.*, 2006). En primera instancia se seleccionaron las variables que más influyeron con un *Permutation importance* superior a 5. A partir de ello, se generaron los mapas para todos los períodos estudiados. Todas las proyecciones fueron realizadas con la siguiente configuración: *Random seed=25, Replicates=10, Replicates type=subsample*.



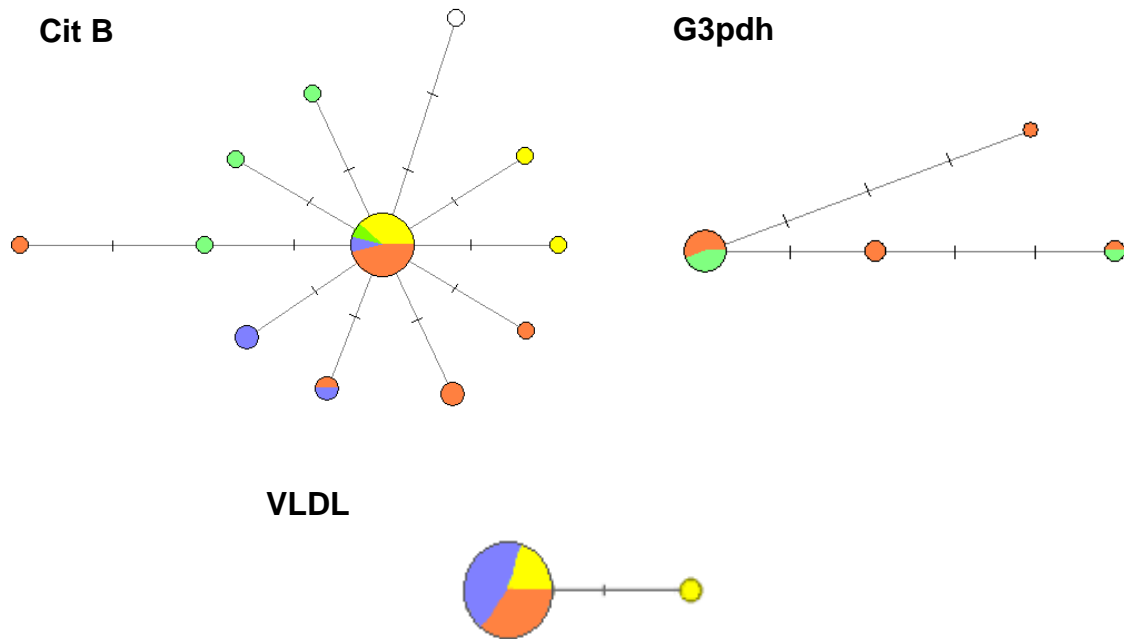
**Figura 3.** Distribución de puntos de presencia de *M. melanoleucus* utilizados para los modelados de nicho en MaxEnt. Ecorregiones según Dinerstein *et al.* (2017) con modificaciones.

Con el software DIVA-GIS fueron realizados los mapas binarios, usando como límite el valor estándar de *Equal training sensitivity and specificity Cloglog threshold* de cada proyección. En base a los mapas binarios se utilizó la herramienta Histograma para realizar la comparación de píxeles entre los diferentes períodos.

## RESULTADOS

### Análisis de secuencias

Las redes de haplotipos para los tres marcadores utilizados no presentaron linajes exclusivos a ninguna región (Figura 4, Tabla 2). Para Citocromo B la región Oeste presentó el mayor porcentaje de haplotipos exclusivos, como también la mayor diversidad haplotípica.



**Figura 4.** Redes de haplotipos para las secuencias de Citocromo b, G3pdh y VLDL de *M. melanoleucus*. Los colores representan la región geográfica de donde provienen las muestras: naranja=norte; amarillo=sur; azul=este; verde=oeste; blanco=Bolivia (se decidió colorear distintivamente a pesar de considerarse dentro del grupo Norte para el resto de los análisis). Las líneas perpendiculares a las ramas representan los pasos mutacionales.

**Tabla 2.** Cantidad y distribución de los haplotipos de *M. melanoleucus* en los distintos grupos geográficos. n: número de secuencias en cada grupo; h: número de haplotipos; e: porcentaje de haplotipos exclusivos de cada grupo; H: diversidad haplotípica.

Grupo	Citocromo B				VLDL				G3-pdh			
	n	h	e (%)	H	n	h	e (%)	H	n	h	e (%)	H
Norte	12	6	66,6667	0,7575	7	1	0	0	8	4	50	0,75
Este	7	3	33,3333	0,5238	9	1	0	0	0	0	-	-
Sur	4	3	66,6667	0,8333	6	2	50	0,5333	0	0	-	-
Oeste	4	4	75	1	0	0	-	-	4	2	0	0,5

El grupo geográfico con mayor diversidad nucleotídica y haplotípica de Cit B fue el grupo Oeste, mientras que aquel que presentó valores menores para H fue el grupo Este. El grupo Sur fue el que presentó menores valores para  $\pi$  (Tabla 3). El grupo Norte presentó siempre valores medios de diversidad respecto a los demás grupos de secuencias. En el caso de los análisis de diversidad de los marcadores nucleares, para VLDL no se consiguieron secuencias de la región Oeste, y fue el grupo Sur el más diverso para ambos valores evaluados. Para el marcador G3-pdh sólo se pudieron evaluar los grupos Norte (mayor diversidad haplotípica) y Oeste (mayor diversidad nucleotídica).

**Tabla 3.** Diversidad genética de poblaciones de *M. melanoleucus*. n: número de secuencias en cada grupo,  $\pi$ : diversidad nucleotídica y H: diversidad haplotípica.

Grupo	Citocromo B			VLDL			G3-pdh		
	n	$\pi$	H	n	$\pi$	H	n	$\pi$	H
Norte	12	0,00539	0,7575	7	0	0	8	0,00488	0,75
Este	7	0,00309	0,52381	9	0,00040	0	0	-	-
Sur	4	0,00249	0,83333	6	0,00184	0,53333	0	-	-
Oeste	4	0,00730	1	0	-	-	4	0,00549	0,5

En relación a las estadísticas sumarias calculadas, todas fueron no significativas (valor  $p \geq 0,05$ ), indicando una evolución neutral y/o estabilidad poblacional dentro de los grupos (Tabla 4).

**Tabla 4.** Índices de neutralidad de Tajima (D) y de Fu (FS), para los tres marcadores utilizados y las cuatro. Ninguno de los valores fue significativo (valor  $p \geq 0,05$  para D de Tajima; valor  $p \geq 0,02$  para FS de Fu).

Grupo	Citocromo B			VLDL			G3-pdh		
	n	D	FS	n	D	FS	n	D	FS
Norte	12	-1,59365	8,76939	7	0	0	8	-1,06428	2,44506
Este	7	-1,02379	0,90397	9	0	0	0	-	-
Sur	4	0,86015	1,60646	6	1,03194	1,72310	0	-	-
Oeste	4	0,06671	3,05126	0	-	-	4	-0,78012	4,60454
TOTAL	27	-1,27575	11,3243	22	-0,8354	0,81309	12	-0,94609	2,48971

Se realizaron AMOVA con las secuencias de Citocromo B para distintas agrupaciones geográficas (Tabla 5). En el caso del marcador VLDL sólo fue evaluada la agrupación Norte//Este y Sur, cuyos valores resultantes fueron no significativos ( $p > 0,05$ ).

**Tabla 5.** Análisis de la Varianza Molecular (AMOVA) de *Microspingus melanoleucus* para el marcador mitocondrial Citocromo B. Los valores estadísticamente significativos ( $p < 0,05$ ) están resaltados en negrita.

Agrupación evaluada	Porcentaje de variación (%)			Índice de fijación		
	Entre grupos	Entre poblaciones dentro de grupos	Intra-poblacional	F <sub>CT</sub>	F <sub>SC</sub>	F <sub>ST</sub>
1) Norte // Oeste, Este y Sur	-43,97	<b>57,73</b>	86,24	-0,43971	<b>0,40098</b>	0,13759
2) Norte // Oeste // Este y Sur	35,95	<b>-9,50</b>	73,56	0,35946	<b>-0,14834</b>	0,26444
3) Oeste // Norte, Este y Sur	53,64	-4,16	<b>50,52</b>	0,53638	-0,08976	<b>0,49476</b>

La mayoría de los valores de las estadísticas F no fueron significativos, implicando flujo génico homogéneo entre los diferentes grupos. En la última agrupación testeada (Tabla 5, grupo 3), cuando consideramos al grupo Oeste separado del resto, el AMOVA fue significativo para  $F_{ST}=0,49476$ .

También se estimaron  $F_{ST}$  pareados para las secuencias de Citocromo b y VLDL entre los grupos geográficos (ver Tablas 6 y 7). El  $F_{ST}$  pareado para las secuencias de G3-pdh (sólo grupos Norte y Oeste) fue -0,11942, no significativo. Se obtuvieron dos valores significativos para Citocromo B: Este-Oeste ( $F_{ST}= 0,47023$ ) y Este-Sur ( $F_{ST}= 0,37916$ ). Estos valores permiten asumir diferenciación genética, mediada por una disminución del intercambio genético pasado o presente entre dichos grupos.

**Tabla 6.** Valores de  $F_{ST}$  pareados para los grupos geográficos a partir de secuencias de Citocromo b. Los valores significativos se señalan en negrita.

Grupo	Norte	Este	Sur	Oeste
Norte	0,00000	-	-	-
Este	-0,05052	0,00000	-	-
Sur	-0,06025	<b>0,37916</b>	0,00000	-
Oeste	0,30555	<b>0,47023</b>	0,31807	0,00000

**Tabla 7.** Valores de  $F_{ST}$  pareados para los grupos geográficos a partir de secuencias de VLDL. Ningún valor fue significativo.

Grupo	Norte	Este	Sur
Norte	0,00000	-	-
Este	0,00000	0,00000	-
Sur	0,23288	0,28713	0,00000

El análisis en Geneland sugirió la existencia de tres poblaciones. Teniendo en cuenta este dato, se configuró el programa para la existencia de tres poblaciones, sin embargo, en las sucesivas iteraciones este generó mapas muy diferentes de pertenencia geográfica, sin ningún patrón congruente.

#### *Modelados de distribución*

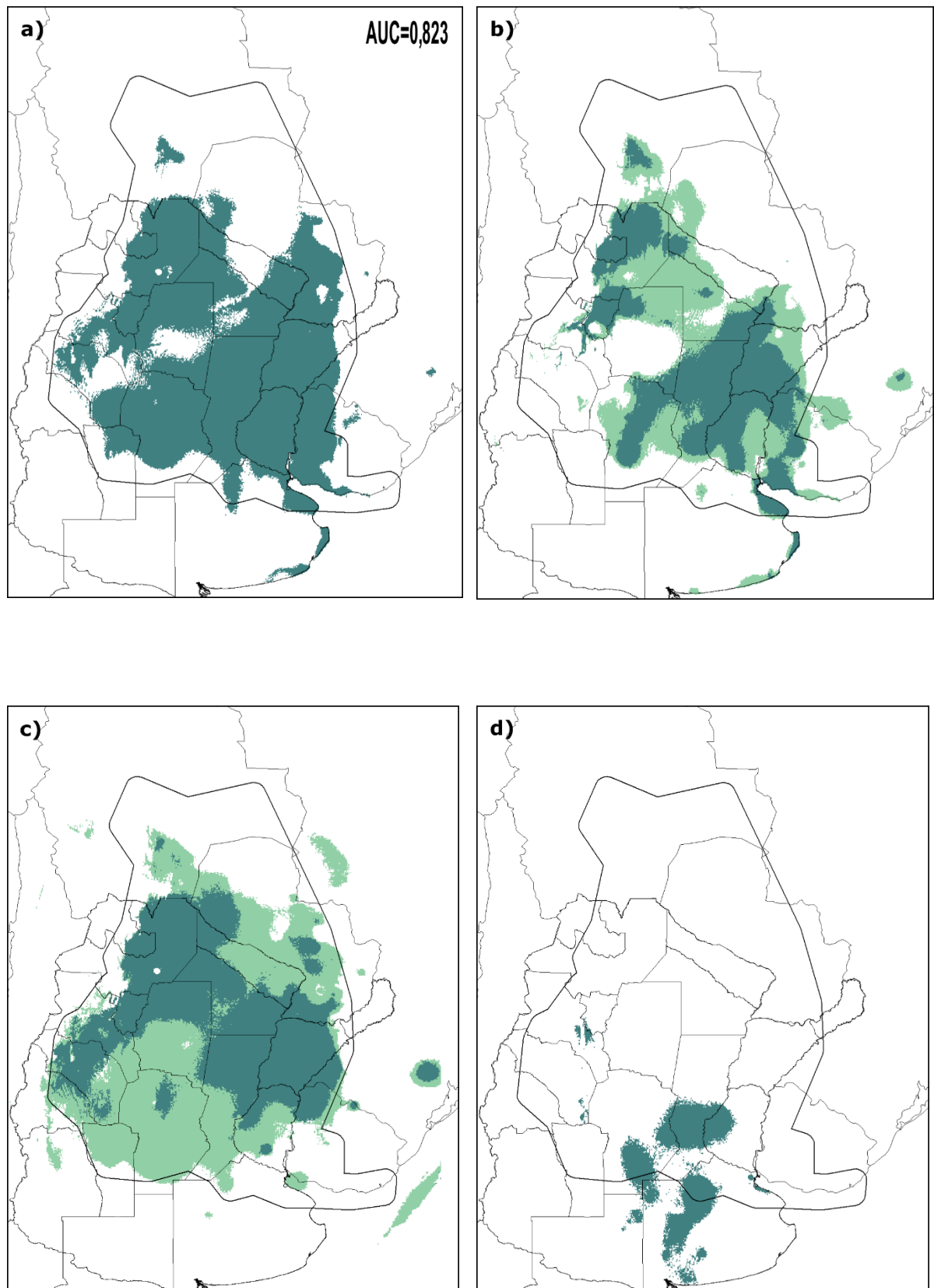
Se generaron modelos de distribución correspondientes a cuatro períodos históricos (Figura 5). Las variables que más contribuyeron a los modelados fueron las siguientes (en orden de mayor a menor importancia): BIO4 (estacionalidad de la temperatura), BIO17 (precipitación del cuarto anual más seco), BIO19 (precipitación del cuarto anual más frío), BIO15 (estacionalidad de la precipitación), BIO7 (rango anual de la temperatura) y BIO14 (precipitación del mes más seco). El valor promedio del AUC (*Area Under the Curve*) para el modelado del período presente fue de 0,823 con una desviación estándar de 0,024.

En relación al modelado del presente, se observa cierta discontinuidad en la distribución en forma de una diagonal en sentido NE-SO que cruza el centro de las

provincias de Formosa, Chaco, Santiago del Estero hasta el sur de Catamarca y el centro de La Rioja (Figura 5a). Dicha tendencia diagonal está ausente en el Último Máximo Glacial (Figura 5c), mientras que se agudiza en el Holoceno Medio (Figura 5b). En el Último Interglacial, los patrones de distribución de áreas con hábitats adecuados son completamente diferentes, y el porcentaje de superficie con probabilidad de ocurrencia para la región estudiada (Tabla 8) desciende desde un 28,2872% en el Último Máximo Glacial a un 3,3263% en el Último Interglacial.

**Tabla 8.** Valores obtenidos en los histogramas de los mapas binarios de distribución de *M. melanoleucus* para cada período estudiado.

Período	Sin probabilidad de ocurrencia (px)	Con probabilidad de ocurrencia (px)	Porcentaje de superficie total con probabilidad de ocurrencia (%)	Diferencia con respecto a Presente (%)
Presente	199.825	59.986	23,0883	0
Holoceno Medio	210.367	49.444	19,0308	4,0575
Último Glacial Máximo	195.200	76.997	28,2872	-5,1989
Último Interglacial	250.758	8.628	3,3263	19,7620



**Figura 5.** Mapas de modelados de distribución de distintos períodos correspondientes a *M. melanoleucus*. Períodos históricos: a) Presente; b) Holoceno Medio (~6.000 años ap); c) Último Máximo Glacial (~22.000 años ap); d) Último Interglacial (~140.000-120.000 años ap).

Por otro lado, si observamos los mapas del Holoceno Medio y del Último Máximo Glacial (Figura 5b y 5c), podemos identificar que los núcleos de hábitats representados en color azul, en el primero son de menor tamaño que en el segundo (ver valores en Tabla 9). Sin embargo, en términos porcentuales se mantiene la correlación de aproximadamente un 50% de la superficie con hábitat adecuado ocupada por núcleos de mayor probabilidad (Tabla 9).

**Tabla 9.** Valores en píxel de las superficies de mayor y de menor probabilidad de ocurrencia para dos períodos estudiados, el Holoceno Medio y el Último Glacial Máximo, para *M. melanoleucus*.

	Núcleos de mayor probabilidad de presencia (px)	Superficies con menor probabilidad de presencia (px)	Porcentaje de superficie con alta probabilidad de ocurrencia (%)
Holoceno Medio	24.164	25.280	48,87145
Último Glacial Máximo	39.619	37.378	51,45525

## DISCUSIÓN

En este estudio se evaluó la hipótesis de expansiones pasadas de bosques higrófilos en el actual Gran Chaco, las cuales habrían conectado las Yungas con la Selva Atlántica. Mediante un estudio genético y de modelado de nicho de un ave chaqueña se puso a prueba la predicción de fragmentación pasada en sentido Norte-Sur de la distribución del ave de estudio. Los datos no indicaron diferenciación genética poblacional, ni presencia de barreras que impidan el flujo genético en el área total de estudio. Este resultado no soporta la hipótesis de expansión de bosques higrófilos en el área, al menos en magnitud que haya fragmentado la distribución de organismos chaqueños como *Microspingus melanoleucus*.

### *Diferenciación Norte-Sur versus Oeste-Este*

Los resultados genéticos no confirmaron la predicción de que el ave de estudio presentaría estructura genética en el sentido Norte-Sur. Particularmente, se esperó que las poblaciones asociadas a los ríos Bermejo y Pilcomayo se diferencien de las del resto y/o que presenten la menor diversidad genética. Las redes de haplotipos resultaron en forma de estrella, sin linajes restringidos geográficamente. Ningún grupo geográfico presentó todos sus haplotipos exclusivos, siendo el grupo Oeste el grupo con mayor exclusividad (Tabla 2) y el grupo Este el que presentó el menor valor. En los análisis de diversidad, el grupo Oeste fue el más diverso para el marcador mitocondrial (Tabla 3), mientras que, para los marcadores nucleares, el grupo Sur resultó el más diverso para VLDL. En el caso de G3-pdh, el mayor H lo presentó el grupo Norte y el mayor valor de  $\pi$  fue del grupo Oeste. En los AMOVA del marcador mitocondrial los valores de  $F_{CT}$  para todos los agrupamientos fueron no significativos. Los valores de  $F_{ST}$  también fueron no significativos, excepto para la agrupación Oeste vs. Norte, Este y Sur ( $F_{ST}= 0,49476$ ). En relación a los valores de  $F_{ST}$  de a pares se observó una diferenciación del grupo Este respecto de Sur (Tabla 6), y en mayor medida, del grupo Oeste. Estos resultados reflejan la existencia de flujo génico entre los grupos evaluados, por lo que no se soporta la presencia histórica de barreras de gran magnitud, indicado principalmente por la configuración en forma de estrella de las redes de haplotipos, la baja exclusividad de haplotipos en los grupos geográficos y los valores no significativos de  $F_{CT}$  y  $F_{ST}$ .

En los modelados de nicho no se observó patrones de distribución que impliquen algún nivel de aislamiento en sentido Norte-Sur, tanto en el presente como en el pasado (Figura 5). No obstante, en el presente existió ausencia de hábitat para el ave en forma de diagonal fragmentando la distribución en noroeste vs. sudeste. Esta fragmentación aparece también en otros períodos, como el Holoceno Medio en el cual es de gran intensidad, mientras que en el Último Máximo Glacial aparece atenuada, pudiéndose observar sólo en los núcleos de hábitat con mayor probabilidad (regiones coloreadas con azul oscuro, Figura 5c).

Este segmento diagonal resulta menos favorable climáticamente para el ave, pudiendo actuar como barrera al flujo génico. La extensión completa de esta franja corresponde a la zona transicional o ecotonal entre el Chaco Oriental y Occidental (Chaco Central según Prado, 1993) y al Chaco Occidental, desde el límite con el Chaco Oriental en el noreste de la distribución, al límite con el Monte hacia el sudoeste de la distribución. Tanto el Chaco Central como el Occidental se caracterizan por una disminución en las precipitaciones respecto al Oriental. La franja diagonal ya mencionada, abarca en Paraguay, Formosa y Chaco la transición Chaco Oriental-Chaco Central. En Santiago del Estero, Catamarca y La Rioja parece coincidir con un aumento en el rango anual de la temperatura (temperaturas extremas), según los patrones de las capas individuales de los modelos climáticos utilizados.

### *Reconstrucción climática y dinámicas biogeográficas chaqueñas*

Durante el Holoceno Medio existió una reducción del hábitat para el modelo de estudio. La evidencia de que el Holoceno Medio fue un período árido para el continente (May *et al.*, 2008; Ledru, 2002; Behling y Hooghiemstra, 1998; Prado *et al.*, 2013) podría ser el factor con mayor influencia en la alteración climática de la región en estudio, teniendo en cuenta que las variaciones climáticas afectaron a Sudamérica principalmente en la modificación de las precipitaciones, y no tanto las temperaturas (Iriondo, 1993). A raíz de las evidencias climáticas mencionadas, y de estudios basados en análisis de polen para otras regiones que sugieren el reemplazo de bosques húmedos por arbustales y pastizales (Prado *et al.*, 2013), se soporta la hipótesis de una expansión durante el Holoceno medio de las condiciones actualmente observadas para el Chaco Central sobre el área actual ocupada por el

Chaco Oriental, siendo más notoria y corriéndose hacia el este los límites de dicha transición.

En el Último Máximo Glacial ocurrió una extensión del hábitat propicio para el ave respecto al período presente, pero siempre dentro de los límites de la distribución actual (Figura 1), por lo que se puede hipotetizar un pequeño avance de la ecorregión del Gran Chaco sobre el ecotono con el Monte de Llanuras y Mesetas, particularmente en el sentido sur. La desaparición de la franja diagonal de aislamiento, bien identificada en otros períodos, puede atribuirse a una disminución en el rango de temperaturas en el centro-sudoeste, y hacia el norte una modificación en las condiciones climáticas del Chaco Central. Para el Último Máximo Glacial existen controversias en la bibliografía respecto al nivel de humedad en diferentes zonas del continente, en muchos casos por escasez de datos y en otros por evidencias regionales muy heterogéneas. Aun así, la mayoría de los trabajos caracterizan al área de estudio con un período más seco que el actual (Sylvestre, 2009).

Con respecto al Último Interglacial, podrían haberse dado modificaciones en la distribución de la fauna por grandes cambios en vegetación y clima, dado que han sido hallados indicios de climas tropicales/subtropicales en estudios paleontológicos para regiones con climas templados en la actualidad (e.g. Entre Ríos en Brunetto *et al.*, 2015). El Último Interglacial se caracterizó por presentar condiciones más cálidas y húmedas que las actuales (Brunetto *et al.*, 2015; Ferrero *et al.*, 2017), con importantes variaciones en el nivel del mar, sin embargo, aún resta mucho trabajo para encontrar mayores evidencias correspondientes a ese período.

En términos generales, el Chaco ha sido caracterizado como una región estable, aunque dentro de esa macro-estabilidad, se han registrado modificaciones en la vegetación en el pasado o especies con cierta estructura genética, que serían evidencias de dinámicas climáticas de menor escala (Brusquetti *et al.*, 2019; Contreras y Zucol, 2019). Los resultados de esta investigación corroboran la hipótesis de alta estabilidad temporal de la ecorregión chaqueña. En lo que concierne a la estabilidad ambiental y ecológica del Chaco en los períodos analizados, es interesante en primer lugar resaltar lo propuesto en numerosos estudios acerca de las características de las regiones históricamente estables, que no han sufrido alternancia de temperaturas extremas en su paleoclima. Dichas áreas permitirían el establecimiento y persistencia de especies, con un consiguiente aumento en la diversidad genética y el nivel de endemismo (Graham *et al.*, 2006; Carnaval y Moritz, 2008). Por el contrario, en las

regiones inestables climáticamente la cobertura vegetal sería variable y las dinámicas evolutivas se modificarían, según este modelo, reduciendo la diversidad genética y los niveles de endemismo (Harrison y Noss, 2017; Werneck, 2011). Aun así, estudios avalan que las regiones inestables propician otro tipo de fenómenos como especiaciones alopátricas y endemismos relacionados a condiciones ecológicas propias de la variabilidad climática (Harrison y Noss, 2017). El Chaco en cuestión ha sido caracterizado como una región pobre en endemismos y con poca diversidad, lo que fue refutado en los últimos años con numerosos trabajos científicos, dando cuenta de su composición taxonómica particular (Biani *et al.*, 2006; Prado, 1993). Respecto a reconstrucciones de historias biogeográficas, la mayoría de las investigaciones que incluyen parcialmente al Gran Chaco se han realizado en torno a otras regiones (como los Bosques Secos Estacionales Neotropicales), o bien con el fin de evaluar hipótesis de conexiones entre otras áreas, sin ser foco de estudio central la ecorregión chaqueña. Sin embargo, los escasos trabajos orientados a la misma han encontrado, al igual que en la presente investigación, baja o ausente estructura genética y baja diversidad intraespecífica, siendo asociado esto a modificaciones en el curso de ríos e inestabilidad climática durante el Cuaternario (Camps *et al.*, 2018) y a altos niveles de flujo génico y expansiones poblacionales recientes (Brusquetti *et al.*, 2019).

En relación a la hipótesis inicialmente propuesta por Nores (1992) al respecto de un corredor chaqueño de bosques higrófilos que permitió un contacto Yungas-Selva Atlántica durante los períodos húmedos del Cuaternario, y las investigaciones posteriores de contactos Yungas-Selva Atlántica vía la diagonal de formaciones abiertas, conformada por las regiones de Caatinga, Cerrado y Chaco (Vanzolini, 1963), este estudio no soporta la opción de un corredor vía Chaco, de acuerdo a los resultados obtenidos. Esta ausencia de evidencia va en sintonía con otras investigaciones que apoyan en cambio la hipótesis de un corredor principal vía el Cerrado o vía transición Chaco-Cerrado (Sobral-Souza *et al.*, 2015; Trujillo-Arias *et al.*, 2017, 2018; Cabanne *et al.*, 2019). Sin embargo, es también necesario remarcar que la reconstrucción de historias biogeográficas es un proceso complejo, y está sujeto a la historia biogeográfica de las especies en estudio, por ejemplo, sí existen evidencias de conexiones a través del Chaco para otras especies (Turchetto-Zolet *et al.*, 2016). Por esto es posible pensar en más de un corredor que conectó las dos áreas selváticas en distintos períodos y por diferentes sectores, permitiendo la configuración de dinámicas complejas que aún no han sido dilucidadas.

### *Dinámicas biogeográficas extra-chaqueñas*

Por otra parte, es posible hacer algunos comentarios sobre la historia biogeográfica de regiones aledañas también incluidas dentro del área de distribución de *Microspingus melanoleucus*. En general, se espera que las poblaciones residentes en áreas históricamente más estables desarrollen mayor diversidad genética intraespecífica, y mayor exclusividad haplotípica que aquellas residentes en áreas inestables (Carnaval *et al.*, 2009). A partir de esto, es notable la relación entre la baja diversidad encontrada en los grupos Este y Sur, y la zona de influencia de los cauces Paraguay-Paraná. Contreras *et al.* (2019) describe una heterogeneidad ambiental en las formaciones geológicas de la región (provincia de Corrientes) correspondientes al Pleistoceno Superior que podrían ser atribuidas a cambios en el paisaje debido a la actividad de los cauces de los ríos, con una alternancia periódica entre inundaciones y mal drenaje, lo cual podría explicar la baja diversidad genética observada en el presente trabajo para los grupos Este y Sur. Para la región de influencia Paraguay-Paraná Anzótegui *et al.* (2019) describe asociaciones paleovegetales para el Pleistoceno que incluye flora correspondiente al Chaco, al Cerrado y a los Bosques Secos Estacionales Neotropicales, reforzando la hipótesis de alta inestabilidad.

Finalmente, consideramos que los análisis filogeográficos de Sudamérica son abundantes, pero que están concentrados en ciertas regiones tropicales o templado-frías (Amazonas, Patagonia). Resulta necesario el desarrollo de más estudios centrados en el Gran Chaco para comprender las dinámicas biogeográficas del continente, entendiendo que no necesariamente está subordinado a la interacción de otras regiones (Iriando, 1993), pudiendo poseer sus procesos y mecanismos propios. Para esto, se sugiere como una buena herramienta al enfoque filogeográfico sobre aves de áreas abiertas, considerándolas como potentes fuentes de información de diferenciación geográfica e historias evolutivas (Rocha *et al.*, 2020). Adicionalmente, de implementarse en combinación con el estudio filogeográfico comparado con otros organismos endémicos podrían permitir encontrar congruencia topológica, temporal y/o demográfica, y conformar un sustento sólido para probar hipótesis biogeográficas postuladas para el Neotrópico (Abeláez-Cortés, 2012; Turchetto-Zolet *et al.*, 2013).

## CONCLUSIÓN

En conclusión, el ave en estudio *Microspingus melanoleucus* se ha mantenido con una distribución geográfica relativamente estable desde el Pleistoceno Superior en adelante. A raíz de esto, no hay evidencia que soporte la hipótesis de grandes expansiones de vegetación higrófila en la actual zona del Gran Chaco, asociadas a las fluctuaciones climáticas del Pleistoceno.

## BIBLIOGRAFÍA

- Ab'Saber AN. 1977. Espaços ocupados pela expansão dos climas secos na América do Sul, por ocasião dos períodos glaciais quaternários. *Paleoclimas* 3: 1-19.
- Abeláez-Cortés E. 2012. Filogeografía comparada: Conceptos, métodos y patrones generales en aves Neotropicales. *Acta Biológica Colombiana* 17(1): 19-38.
- Anderson D, Anderson DE, Goudie A, Parker A. 2013. *Global environments through the quaternary: exploring environmental change*. USA. Oxford University Press. p. 424.
- Anzótegui L, Garalla S, Mautino L, Prado D. 2019. Evolución de Bosques Estacionales Secos Neotropicales, Chaco y Cerrado en el Neógeno del centro-norte de Argentina. *Publicación Electrónica de la Asociación Paleontológica Argentina* 19(1).
- Bandelt HJ, Forster P, Röhl A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* 16: 37-48.
- Behling H, Hooghiemstra H. 1998. Late Quaternary palaeoecology and palaeoclimatology from pollen records of the savannas of the Llanos Orientales in Colombia. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 139: 251–267.
- Biani NB, Vesprini JL, Prado DE. 2006. Conocimiento sobre el Gran Chaco Argentino en el Siglo XX. En: Arturi MF, Frangi JL, Goya JF (Eds.) *Ecología y Manejo de los Bosques de Argentina*. La Plata, Argentina. Editorial de la Universidad Nacional de la Plata. p. 1-19.
- Borge T, Webster MT, Andersson G, Saetre GP. 2005. Contrasting patterns of polymorphism and divergence on the Z chromosome and autosomes in two *Ficedula* flycatcher species. *Genetics* 171(4): 1861-1873.
- Brunetto E, Ferrero B, Noriega JI. 2015. Late Pleistocene lithostratigraphy and sequences in the southwestern Mesopotamia (Argentina): evidences of the Last Interglacial Stage. *Journal of South American Earth Sciences* 58: 111–128.
- Brusquetti F, Netto F, Baldo D, Haddad CF. 2019. The influence of Pleistocene glaciations on Chacoan fauna: genetic structure and historical demography of an endemic frog of the South American Gran Chaco. *Biological Journal of the Linnean Society* 126(3): 404-416.

- Cabanne GS, Campagna L, Trujillo-Arias N, Naoki K, Gómez I, Miyaki CY, Santos FR, Dantas GPM, Aleixo A, Claramunt S, Rocha A, Caparroz R, Lovette IJ, Tubaro PL. 2019. Phylogeographic variation within the Buff-browed Foliage-gleaner (Aves: Furnariidae: *Syndactyla rufosuperciliata*) supports an Andean-Atlantic forests connection via the Cerrado. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 133: 198-213.
- Cabrera AL. 1976. Regiones fitogeográficas argentinas. En: Kugler WF (Ed.) *Enciclopedia argentina de agricultura y jardinería*. Tomo 2. 2<sup>o</sup> edición. Buenos Aires, Argentina. Acme. p. 1-85.
- Camps GA, Martínez-Meyer E, Verga AR, Sérsic, AN, Cosacov A. 2018. Genetic and climatic approaches reveal effects of Pleistocene refugia and climatic stability in an old giant of the Neotropical Dry Forest. *Biological Journal of the Linnean Society*, 125(2): 401-420.
- Carnaval AC, Hickerson MJ, Haddad CFB, Rodrigues MT, Moritz C. 2009. Stability Predicts Genetic Diversity in the Brazilian Atlantic Forest Hotspot. *Science* 323(5915): 785-789.
- Carnaval AC, Moritz C. 2008. Historical climate modelling predicts patterns of current biodiversity in the Brazilian Atlantic forest. *Journal of Biogeography* 35(7): 1187-1201.
- Chan LM, Brown JL, Yoder AD. 2011. Integrating statistical genetic and geospatial methods brings new power to phylogeography. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 59(2): 523-537.
- Clark PU, Archer D, Pollard D, Blum JD, Rial JA, Brovkin V, Mix AC, Pisias NG, Roy M. 2006. The middle Pleistocene transition: characteristics, mechanisms, and implications for long-term changes in atmospheric pCO<sub>2</sub>. *Quaternary Science Reviews* 25: 3150–3184.
- Contreras SA, Zucol AF. 2019. Late Quaternary vegetation history based on phytolith records in the eastern Chaco (Argentina). *Quaternary International* 505: 21-33.
- Contreras S, Zucol AF, Méndez C, Zurita A. 2019. Phytolith analysis in Pliocene-Pleistocene fluvial sediments from northeastern Argentina. *Journal of South American Earth Sciences* 90: 296-313.

- De la Peña, MR. 2020. Aves Argentinas: Descripción, comportamiento, reproducción y distribución (Actualización). Comunicaciones del Museo Provincial de Ciencias Naturales "Florentino Ameghino" (Nueva Serie) 11: 1-347.
- De la Peña MR, Pensiero JF. 2003. Contribución de la flora en los hábitos alimentarios de las aves en un bosque del centro de la provincia de Santa Fe, Argentina. *Ornitología Neotropical* 14: 499–513.
- Dinerstein E, Olson D, Joshi A, Vynne, C, Burgess ND, Wikramanayake E, Hahn N, Palminteri S, Hedao P, Noss R, Hansen M, Locke H, Ellis EC, Jones B, Barber CV, Hayes R, Kormos C, Martin V, Crist E, Sechrest W, Price L, Baillie JEM, Weeden D, Suckling K, Davis C, Sizer N, Moore R, Thau D, Birch T, Potapov P, Turubanova S, Tyukavina A, de Souza N, Pinteá I, Brito JC, Llewellyn OA, Miller AG, Patzelt A, Ghazanfar SA, Timberlake J, Klöser H, Shennan–Farpón Y, Kindt R, Barnekow Lilles JP, van Breugel P, Graudal L, Vogé M, Al–Shammari KF, Saleem M. 2017. An Ecoregion–Based Approach to Protecting Half the Terrestrial Realm. *BioScience* 1(6): 1-12.
- Excoffier L, Lischer H. 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources* 10: 564–567.
- Ferrero BS, Noriega JI, Brunetto E, Otaño NN. 2017. Vertebrate continental assemblage from the last interglacial in southern South America (Entre Ríos, Argentina). *Biostratigraphy and paleoenvironment. Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 466: 89-99.
- Fjeldså J, Zuccon D, Irestedt M, Johansson US, Ericson P. 2003. Sapayoa aenigma: a New World representative of Old World suboscines. *Proceeding of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 270 (suppl 2): S238–S241.
- Fracchia G, Aranda-Rickert A. 2015. La liga (*Ligaria cuneifolia*) como recurso alimenticio clave para aves del monte de la provincia de La Rioja. *Nuestras Aves* 60: 95-97.
- Fu YX. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics* 147(2): 915-25.

- Graham CH, Moritz C, Williams SE. 2006. Habitat history improves prediction of biodiversity in rainforest fauna. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(3): 632-636.
- Graham CH, Ron SR, Santos JC, Schneider CJ, Moritz C. 2004. Integrating phylogenetics and environmental niche models to explore speciation mechanisms in dendrobatid frogs. *Evolution* 58(8): 1781–1793.
- Guillot G, Mortier F, Estoup A. 2005. Geneland: A program for landscape genetics. *Molecular Ecology Notes* 5: 712-715.
- Haffer J. 1969. Speciation in Amazonian forest birds. *Science* 165(3889): 131-137.
- Harrison S, Noss R. 2017. Endemism hotspots are linked to stable climatic refugia. *Annals of Botany* 119(2): 207-214.
- Hijmans R, Guarino L, Jarvis A, O'Brien R. 2007. DIVA-GIS v.7.5.0.0. <http://www.diva-gis.org/>.
- Iriondo, M. 1993. Geomorphology and late Quaternary of the Chaco (South America). *Geomorphology* 7: 289-303.
- Ivanova NV, Dewaard JR, Hebert PDN. 2006. An inexpensive, automation-friendly protocol for recovering high-quality DNA. *Molecular Ecology Notes* 6(4): 998–1002.
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K. 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* 35: 1547-1549.
- Knowles L, Alvarado-Serrano DF. 2010. Exploring the population genetic consequences of the colonization process with spatio-temporally explicit models: insights from coupled ecological, demographic and genetic models in montane grasshoppers. *Molecular Ecology* 19(17): 3727–3745.
- Ledru MP. 2002. Late Quaternary history and evolution of the Cerrados as revealed by palynological records. En: Oliveira, PS, Marquis, RJ (Eds.). *The Cerrados of Brazil: Ecology and Natural History of a Neotropical Savanna*. New York, USA. Columbia University Press. p. 33-50.

- Lougheed S, Freeland J, Handford P, Boag P. 2000. A molecular phylogeny of Warbling-Finches (*Pooecetes*): Paraphyly in a Neotropical emberizid genus. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 17(3): 367–378.
- Malizia LR, Blendinger PG, Álvarez ME, Rivera LO, Politi N, Nicolossi G. 2005. Bird communities in andean premontane forests of northwestern Argentina. *Ornitología Neotropical* 16: 231–251.
- May JH, Argollo J, Veit H. 2008. Holocene landscape evolution along the Andean piedmont, Bolivian Chaco. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 260(3-4): 505–520.
- Morello J, Adámoli JM. 1968. Las grandes unidades de vegetación y ambiente del Chaco argentino. Primera Parte: Objetivos y metodología. *La Vegetación de la República Argentina*. Buenos Aires, Argentina. Instituto de Botánica Agrícola, Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. p. 125.
- Moritz C, Patton JL, Schneider CJ, Smith TB. 2000. Diversification of Rainforest Faunas: An Integrated Molecular Approach. *Annual Review of Ecology and Systematics* 31(1): 533–563.
- Narosky T, Yzurieta D. 2010. *Aves de Argentina y Uruguay*. Buenos Aires. Vazquez Mazzini Editores. p. 358.
- Nores M. 1992. Bird speciation in subtropical South America in relation to forest expansion and retraction. *The Auk* 109(2): 346-357.
- Paillard D. 1998. The timing of Pleistocene glaciations from a simple multiple-state climate model. *Nature* 391(6665): 378–381.
- Phillips SJ, Anderson RP, Schapire RE. 2006. Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling* 190(3-4): 231-259.
- Piovano EL, Ariztegui D, Córdoba F, Cioccale M, Sylvestre F. 2009. Hydrological Variability in South America Below the Tropic of Capricorn (Pampas and Patagonia, Argentina) During the Last 13.0 Ka. En: Vimeux F, Khodri M, Sylvestre, F (Eds.). *Past Climate Variability in South America and Surrounding Regions: from the Last Glacial Maximum to the Holocene*. Netherlands. Springer Science and Business Media. p. 418.

- Pisias NG, Moore TC. 1981. The evolution of Pleistocene climate: A time series approach. *Earth and Planetary Science Letters* 52(2): 450–458.
- Popolizio E. 1970. Algunos rasgos de la geomorfología del Nordeste Argentino. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 11: 17–35.
- Prado DE. 1993. What is the Gran Chaco vegetation in South America? I. A review. Contribution to the study of flora and vegetation of the Chaco. V. *Candollea* 48(1): 145-172.
- Prado LF, Wainer I, Chiessi CM, Ledru MP, Turcq B. 2013. A mid-Holocene climate reconstruction for eastern South America. *Climate of the Past*, 9(5): 2117–2133.
- QGIS Development Team. 2019. QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. <http://qgis.osgeo.org>.
- Rocha AV, Cabanne GS, Aleixo A, Silveira LF, Tubaro P, Caparroz R. 2020. Pleistocene climatic oscillations associated with landscape heterogeneity of the South American dry diagonal explains the phylogeographic structure of the narrow-billed woodcreeper (*Lepidocolaptes angustirostris*, Dendrocolaptidae). *Journal of Avian Biology* 51(9).
- Rozas J, Ferrer-Mata A, Sánchez-DelBarrio JC, Guirao-Rico S, Librado P, Ramos-Onsins SE, Sánchez-Gracia A. 2017. DnaSP v6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Datasets. *Molecular Biology and Evolution* 34(12): 3299-3302.
- RStudio Team. 2015. RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.
- Sarmiento G. 1972. Ecological and floristic convergences between seasonal plant formations of tropical and subtropical South America. *Journal of Ecology* 60: 367–410.
- Sobral-Souza T, Lima-Ribeiro MS, Solferini VN. 2015. Biogeography of Neotropical Rainforests: past connections between Amazon and Atlantic Forest detected by ecological niche modeling. *Evolutionary Ecology* 29(5): 643-655.
- Solbrig OT. 1976. The origin and floristic affinities of the South American temperate desert and semidesert regions. *Evolution of desert biota* 7-49.
- Stephens M, Donnelly P. 2003. A comparison of bayesian methods for haplotype reconstruction. *The American Journal of Human Genetics* 73: 1162–1169.

- Sylvestre F. 2009. Moisture Pattern During the Last Glacial Maximum in South America. En: Vimeux F, Khodri M, Sylvestre, F (Eds.). Past Climate Variability in South America and Surrounding Regions: from the Last Glacial Maximum to the Holocene. Netherlands. Springer Science and Business Media. p. 418.
- Tajima F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123 (3): 585–95.
- Trujillo-Arias N, Dantas G, Arbeláez-Cortés E, Naoki K, Gómez MI, Santos FR, Miyaki CY, Aleixo A, Tubaro PL, Cabanne GS. 2017. The niche and phylogeography of a passerine reveal the history of biological diversification between the Andean and the Atlantic forests. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 112: 107-121.
- Trujillo-Arias N, Calderón L, Santos FR, Miyaki CY, Aleixo A, Witt CC, Tubaro PL, Cabanne GS. 2018. Forest corridors between the central Andes and the southern Atlantic Forest enabled dispersal and peripatric diversification without niche divergence in a passerine. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 128: 221–232.
- Turchetto-Zolet AC, Pinheiro F, Salgueiro F, Palma-Silva C. 2013. Phylogeographical patterns shed light on evolutionary process in South America. *Molecular Ecology* 22(5): 1193-1213.
- Turchetto-Zolet AC, Salgueiro F, Turchetto C, Cruz F, Veto NM, Barros MJF, Segatto ALA, Freitas LB, Margis R. 2016. Phylogeography and ecological niche modelling in *Eugenia uniflora* (Myrtaceae) suggest distinct vegetational responses to climate change between the southern and the northern Atlantic Forest. *Botanical Journal of the Linnean Society* 182: 670–688.
- Vanzolini PE. 1963. Problemas faunísticos do Cerrado. En: Ferri, M. (Ed.), Simpósio sobre o Cerrado. São Paulo, Brasil. Editora da Universidade de São Paulo. p. 307-319.
- Vuilleumier BS. 1971. Pleistocene Changes in the Fauna and Flora of South America. *Science* 173(3999): 771–780.
- Werneck FP. 2011. The diversification of eastern South American open vegetation biomes: Historical biogeography and perspectives. *Quaternary Science Reviews* 30(13-14): 1630–1648.