

HISTORIA BIOGEOGRÁFICA DEL GRAN CHACO: MODELADO DE NICHOS Y FILOGEOGRAFÍA DE MONTERITA CABEZA NEGRA (*MICROSPINGUS MELANOLEUCUS*) (AVES: THRAUPIDAE)

BÁRBARA R. DELGADO^{1*}, VIRGINIA Y. MOGNI², NATALIA TRUJILLO-ARIAS^{1,3} Y GUSTAVO S. CABANNE¹

¹División de Ornitología, Museo Argentino de Ciencias Naturales “Bernardino Rivadavia” – CONICET. Av. Angel Gallardo 470, 1405 CABA, Argentina.

²Cátedra de Botánica, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario. Parque Villarino, CC N° 14, 2125 Zavalla, Santa Fe, Argentina.

³Grupo de Estudios en Biodiversidad, Universidad Industrial de Santander. Cl. 9 #Cra 27, Bucaramanga, Santander, Colombia.
*barbara.r.del@gmail.com

RESUMEN. - El Gran Chaco integra la diagonal Neotropical de formaciones abiertas y es objeto fundamental en hipótesis de conexiones pasadas entre la Selva Atlántica, 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 en su sector meridional (Selva Tucumano-Boliviana). Para poner a prueba la hipótesis se utilizó como modelo de estudio a un ave endémica chaqueña, la Monterita Cabeza Negra (*Microspingus melanoleucus*), y se realizaron análisis filogeográficos empleando marcadores nucleares y mitocondriales, así como también modelados de nicho ecológico para el presente y periodos pasados (Último Interglacial, Último Glacial Máximo y Holoceno Medio). Los resultados indicaron un alto flujo génico en toda la distribución del ave, sin que existan linajes restringidos geográficamente. Los modelados de nicho no reflejaron grandes modificaciones en su distribución, aunque para el presente, sugieren ausencia de hábitat a lo largo de una diagonal en sentido noreste-sudoeste, la cual se agudizó en el Holoceno Medio y se atenuó en el Último Glacial Máximo. Estas variaciones se encontrarían relacionadas con cambios microclimáticos dentro del Gran Chaco. Los resultados obtenidos avalan una estabilidad temporal de la ecorregión chaqueña, por lo que se rechaza la hipótesis de expansiones de bosques higrófilos que hayan fragmentado la distribución del ave modelo de estudio.

PALABRAS CLAVE: *Filogeografía, Gran Chaco, Microspingus, Modelado de Nicho Ecológico, Pleistoceno.*

ABSTRACT. - BIOGEOGRAPHY OF THE GRAN CHACO: NICHE MODELING AND PHYLOGEOGRAPHY OF *MICROSPINGUS MELANOLEUCUS* (AVES: THRAUPIDAE). The Gran Chaco, which is part of the diagonal of Neotropical open formations, is a fundamental region to test hypotheses of past connections among the Atlantic Forest, the Amazon and the Yungas. The aim of this study was to evaluate whether the Gran Chaco was fragmented by expansions of wet forests during Pleistocene climatic oscillations, which could have connected the Atlantic Forest and the Yungas's southern sector (Tucuman-Bolivian Forest). To test the hypothesis, we studied an endemic bird of the region, the Black-capped Warbling Finch (*Microspingus melanoleucus*). We conducted phylogeographic analyses employing DNA sequences of nuclear and mitochondrial markers, as well as 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 for the Mid Holocene, a lack of habitat suitability along a geographic diagonal from northeast to the southwest of the study region. These results supported temporal habitat stability in the Gran Chaco ecoregion, and did not support the hypothesis of expansions of wet-forests that could have fragmented the region and linked neighboring domains such as Andean and Atlantic forests.

KEYWORDS: *Ecological Niche Modeling, Gran Chaco, Microspingus, Phylogeography, Pleistocene.*

Recibido 31 de octubre 2021, aceptado 26 de noviembre 2021.

El clima de la Tierra ha sido variable, fluctuando entre periodos glaciales e interglaciales (Broecker y Van Donk 1970, Hays et al. 1976). La intensidad y duración de estos periodos se profundizó durante el Cuaternario, luego de la Transición del Pleistoceno Medio, hace alrededor de 900.000 años (Pisias y Moo-

re 1981, Paillard 1998, Clark et al. 2006). Esta alterancia climática intervino a escala global en la modificación de las condiciones ambientales, impactando en la distribución de los biomas y sus organismos (Haffer 1969, Vuilleumier 1971, Ab'Sáber 1977). Las consecuencias de esos cambios en la diversificación

biológica han sido ampliamente estudiadas, en particular en selvas tropicales (Haffer 1969, Moritz et al. 2000), siendo controvertido su impacto en otras regiones, como las áreas abiertas y bosques secos Neotropicales (Werneck 2011). Al momento no es claro cómo estos cambios climáticos globales han impactado en la diversificación biológica de dichas áreas abiertas y secas.

La ecorregión del Gran Chaco, 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. El Gran Chaco comprende la vegetación espinosa que cubre las llanuras del centro-norte de Argentina, oeste de Paraguay, sudeste de Bolivia y parte de Mato Grosso do Sul en Brasil (Fig. 1; Prado 1993). Según Iriondo (1993), en el Gran Chaco los cambios climáticos históricos 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 secos y húmedos. Así, para el Último Máximo Glacial se registra un período árido para la región (Iriondo 1993) y 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 alcanzar valores similares al clima actual (Piovano et al. 2009, Werneck 2011).

La dinámica del Chaco podría reflejar fenómenos en fase ocurridos en biomas vecinos más húmedos. De este modo, el patrón de especies compartidas entre las Yungas y la Selva Atlántica surgiría principalmente a partir de aislamientos y reconexiones sucesivas entre estas dos regiones, posiblemente a causa de las variaciones climáticas del Pleistoceno (Nores 1992, Silva 1994, 1996). Particularmente en los períodos húmedos, el Chaco habría sido escenario de expansiones de bosques higrófilos desde el sur de las Yungas (i.e. Selva Tucumana-Boliviana) 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 regiones geográficas actualmente ocupadas por Cerrado y/o Chaco (Trujillo-Arias et al. 2017, 2018, Cabanne et al. 2019). Las expansiones de bosques higrófilos en el seno del Gran Chaco

podrían haber impactado en la distribución de organismos asociados a esta última región, fragmentando y reduciendo su área de ocupación. En este sentido, las poblaciones de organismos asociados a bosques xerofíticos, ubicadas a cada lado de la barrera de bosques higrófilos (i.e., cauces de los ríos mencionados), estarían aisladas genéticamente. A su vez, ocurrirían gradientes de diversidad genética entre las regiones afectadas en el pasado por la expansión de bosques higrófilos, y aquellas más estables, siendo mayor en estas últimas. Esto se explica porque las áreas más estables permiten el establecimiento y persistencia de especies, con un consiguiente aumento en la diversidad genética (Graham et al. 2006, Carnaval y Moritz 2008, Harrison y Noss 2017). Por otro lado, la disponibilidad de nicho para las especies asociadas a bosques xerofíticos chaqueños se vería ampliamente disminuida para el período y la región de máxima expansión de bosques higrófilos.

El abordaje complementario entre métodos genéticos y modelado de distribución de especies es una herramienta útil e integrada para intentar dilucidar fenómenos pasados (Chan et al. 2011). Para la región del Gran Chaco, las investigaciones filogeográficas son escasas, y más aún aquellas que utilizan aves como modelo de estudio. Las aves endémicas de áreas abiertas, a pesar de su gran vagilidad 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).

En este trabajo abordamos la hipótesis de evolución dentro del Chaco a través del estudio de un ave endémica chaqueña, la Monterita Cabeza Negra (*Micropsingus melanoleucus*). *M. melanoleucus* es una especie monotípica de ave paseriforme perteneciente a la Familia Thraupidae. 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, Billerman et al. 2020, eBird 2021; Fig. 1). Se considera un buen modelo de estudio para evaluar la hipótesis de trabajo debido a que es abundante y está asociada a la región y ambiente analizados en este trabajo. Por ello, es esperable que cambios en las condiciones de la región del Gran Chaco pudieran haber impactado en su distribución pasada.

El objetivo general de este trabajo fue explorar la dinámica biogeográfica del Gran Chaco con relación a la expansión histórica de bosques higrófilos en la

región. Para esto analizamos la estructura genética poblacional de *M. melanoleucus* mediante secuencias de ADN y realizamos modelados de nicho para el presente y el pasado. Las preguntas específicas que intentamos responder en lo que se refiere a expansiones históricas (final del Pleistoceno) de bosques higrófilos a lo largo de los ríos Bermejo y Pilcomayo son: i) ¿Poseen las poblaciones de organismos chaqueños menor diversidad genética en la región de expansión de bosques higrófilos que en regiones de más al sur?, ii) ¿Existe estructura genética asociada a la expansión de los bosques higrófilos? (eg. Norte-Sur), iii) ¿Indican los modelos de nicho proyectados al pasado ausencia de hábitat en las regiones de expansión de bosques higrófilos?

MÉTODOS

Muestreo y obtención de datos genéticos

Para el análisis genético estudiamos 27 muestras de *M. melanoleucus* colectadas en 11 localidades de Argentina y Bolivia (ver Tabla 1 y Fig. 1). El ADN fue extraído de muestras de músculo y/o sangre siguiendo un protocolo de extracción en columnas de fibra de vidrio (Ivanova et al. 2006). Se amplificaron

y secuenciaron tres marcadores, obteniéndose 27 secuencias del marcador mitocondrial Citocromo B (Cit B, 1.021 pb), 16 secuencias para Lipoproteína de muy baja densidad (VLDL, 487 pb en el cromosoma sexual Z), y seis para Gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa (G3-pDH, 377 pb). Para amplificar Cit B se siguió la metodología de Lougheed et al. (2000), mientras que para VLDL se siguió el protocolo de Borge et al. (2005), y el de Fjeldsà et al. (2003) para G3-pDH. Para la determinación molecular del sexo se amplificó un fragmento del gen Chromobox-helicasa-DNA (CHD) usando los primers P2 y P8 (Griffiths et al. 1998). Las secuencias de ADN fueron obtenidas en Macrogen (Seúl, Corea) y en el Instituto de Biotecnología de INTA Castelar (Buenos Aires, Argentina). A su vez, también usamos secuencias de Cit B disponibles en bases de datos online (ver Tabla 1).

Los electroferogramas se procesaron en Codon-Code Aligner v 8.0.2 (Codon Code Corporation Dedham, MA, USA). La edición de secuencias 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). Todas las secuen-

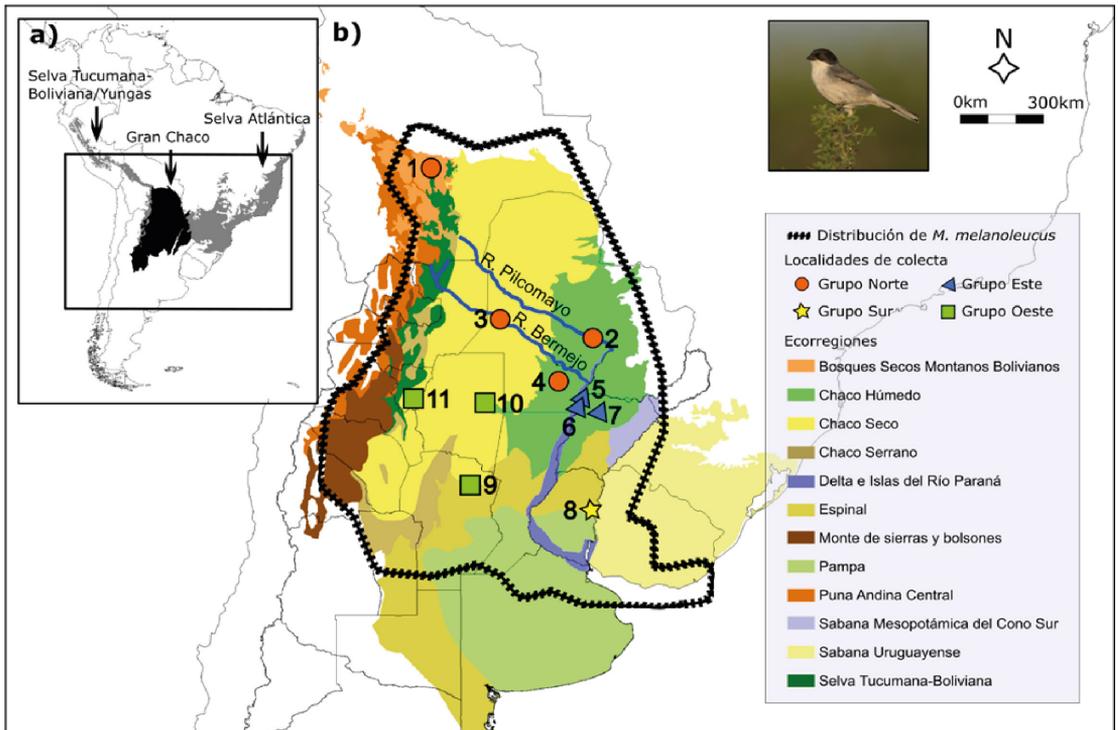


Figura 1. a) Principales ecorregiones del área en estudio. b) Distribución geográfica de la Monterita Cabeza Negra (*Microspingus melanoleucus*) con las ecorregiones que abarca (Dinerstein et al. 2017) y localidades de colecta de muestras para el estudio genético. Ver detalles de localidades en la Tabla 1. Se identifican grupos de localidades utilizados en el análisis de genética de poblaciones. Autor de la foto: Pablo Re.

Tabla 1. Origen de las muestras para el estudio genético de la Monterita Cabeza Negra (*Microspingus melanoleucus*). Se indican los marcadores para los que se obtuvieron secuencias para cada muestra.

ID loc.	Localidad	Latitud	Longitud	ID muestra	Cit B	VLDL	G3-pDH
1	Palmarcito, Chuquisaca, Bolivia	-18.35	-64.52	-	AY005210.1 ^a	No	No
2	PN* Pilcomayo, Estero "Poi", Formosa	-25.12	-58.17	MACN CtOr**-3178	Sí	Sí	No
				MACN CtOr-3182	Sí	Sí	No
3	RN* Formosa, Seccional Río Teuco, Formosa	-24.31	-61.81	MACN CtOr-5367	Sí	No	No
				MACN CtOr-5379	Sí	No	Sí
				MACN CtOr-5397	Sí	No	Sí
				MACN CtOr-5429	Sí	Sí	No
4	PN Chaco, Chaco	-26.81	-59.61	MACN CtOr-4794	Sí	Sí	No
				MACN CtOr-4801	Sí	No	Sí
				MACN CtOr-4802	Sí	No	Sí
				MACN CtOr-4803	Sí	Sí	No
				MACN CtOr-4804	Sí	Sí	No
5	EBCO, Corrientes	-27.55	-58.68	MACN CtOr-1434	Sí	Sí	No
				MACN CtOr-1632	Sí	Sí	No
				MACN CtOr-1644	Sí	Sí	No
6	Manuel Derqui, Corrientes	-27.84	-58.81	-	FJ799880.1 ^b	No	No
7	PN Mburucuyá, Corrientes	-28.02	-58.03	MACN CtOr-4986	Sí	Sí	No
				MACN CtOr-5009	Sí	Sí	No
				MACN CtOr-5010	Sí	Sí	No
8	PN El Palmar, Entre Ríos	-31.89	-58.24	MACN CtOr-4316	Sí	Sí	No
				MACN CtOr-4323	Sí	Sí	No
				MACN CtOr-4324	Sí	Sí	No
				MACN CtOr-4378	Sí	Sí	No
9	La Para, Río Primero, Córdoba	-30.89	-63	MACN CtOr-5298	Sí	No	Sí
				MACN CtOr-5319	Sí	No	Sí
10	Quimilí, Santiago del Estero	-27.65	-62.43	-	AY005208.1 ^a	No	No
11	Monteagudo, Tucumán	-27.51	-65.28	-	AY005209.1 ^a	No	No

*PN: Parque Nacional; RN: Reserva Natural

**MACN CtOr: muestras de la colección de tejidos de Ornitología del MACN (Museo Argentino de Ciencias Naturales)

^aLougheed et al. (2000) ^bBurns et al. (2014)

cias se depositaron en GenBank (Números de acceso OL961578-OL961622). Para facilitar los análisis posteriores, los ejemplares fueron asignados en los siguientes cuatro grupos según su localidad de origen y de acuerdo a la hipótesis de trabajo: 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) (Fig. 1).

Análisis de datos genéticos

Se construyeron redes de haplotipos con el método *Median Joining* y en el programa Network v5.0.0.3 (Bandelt et al. 1999). Se calcularon los valores de diversidad nucleotídica (π) y diversidad haplotípica (H) de cada grupo geográfico en MEGA X (Kumar et al. 2018). Los análisis de varianza molecular (AMOVA) de los marcadores Cit B y VLDL se realizaron en Arlequin v 3.5.2.2 (Excoffier y Lischer 2010), para lo cual organizamos los grupos geográficos de acuerdo a diversas hipótesis de estructura poblacional (Tabla 3). Se realizaron las pruebas de Tajima (Tajima 1989) y de Fu (Fu 1997) para evaluar estabilidad poblacional en Arlequin. Para analizar variaciones en el tamaño efectivo poblacional a lo largo del tiempo se utilizó el análisis Extended Bayesian Skyline Plot (EBSP; Heled y Drummond 2008) en BEAST 2.6.4 (Bouckaert et al. 2019). Para el análisis EBSP, se usó JModeltest (Darriba et al. 2012) para seleccionar el mejor modelo de sustitución nucleotídica. A su vez, se usó la tasa de sustitución de CitB (=0,0105 sustitución/sitio/millón de años o s/s/ma) como referencia (Weir y Shluter 2008), bajo un modelo de reloj estricto. Con priors estándar se corrieron 10 millones de simulaciones, con un muestreo cada 1000 y un 40% de burn-in. La calidad de los análisis de EBSP fue evaluada mediante la inspección del valor ESS ($> 0 = 200$) en Tracer 1.7.2 (Rambaut et al. 2018).

Se utilizó Geneland (Guillot et al. 2005) para R (R Development Core Team 2019) para estimar el número más probable de poblaciones genéticamente diferenciadas, mediante un análisis genético-espacial. En primer lugar, se infirió el número más probable de poblaciones (10 corridas independientes), 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 nicho ecológico

Se utilizaron modelos de nicho para evaluar cambios en la distribución de *M. melanoleucus* entre el pasado y el presente. Debido a que durante la segunda mitad del Pleistoceno los cambios climáticos habrían sido cíclicos, y relativamente semejantes en duración e intensidad, se asumió que los modelos obtenidos para tales períodos son indicadores de periodos previos (Anderson et al. 2013). Para los modelos de nicho se utilizaron las capas climáticas disponibles en WorldClim 1.4 (Hijmans et al. 2005; <http://www.worldclim.org>) para cuatro períodos: presente (Hijmans et al. 2005), Holoceno Medio -HM- (~6000 años antes del presente -ap-), Último Máximo Glacial -UMG- (~22.000 años ap) y Último Interglacial -UI- (~140.000-120.000 años ap) (Otto-Bliesner et al. 2006). En el caso de los tres períodos más recientes las capas climáticas fueron descargadas con una resolución de 2,5 minutos, mientras que para el Último Interglacial la resolución disponible fue de 30 segundos. En el caso del Holoceno Medio y el Último Máximo Glacial se utilizaron las capas correspondientes a dos modelos climáticos: CCSM v4 (Community Climate System Model v4; Gent et al. 2011) y MIROC-ESM (Model of Interdisciplinary Research on Climate; Watanabe et al. 2011). Todas las capas fueron cortadas al área de estudio en DIVA-GIS v7.5 (Hijmans et al. 2007).

Se seleccionaron 140 puntos de presencia de *M. melanoleucus* distribuidos uniformemente (ver Fig. 4a) 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 de acuerdo a la prueba de permutación (Permutation importance) con un valor superior al 5%. A partir de ello, se generó el modelo para el presente y luego se proyectó al pasado. Todas las proyecciones fueron realizadas con la siguiente configuración: Random seed=25, Replicates=10, Replicates type=subsample. Los mapas binarios se obtuvieron asumiendo un valor de threshold de cada proyección de Equal training sensitivity and specificity Cloglog.

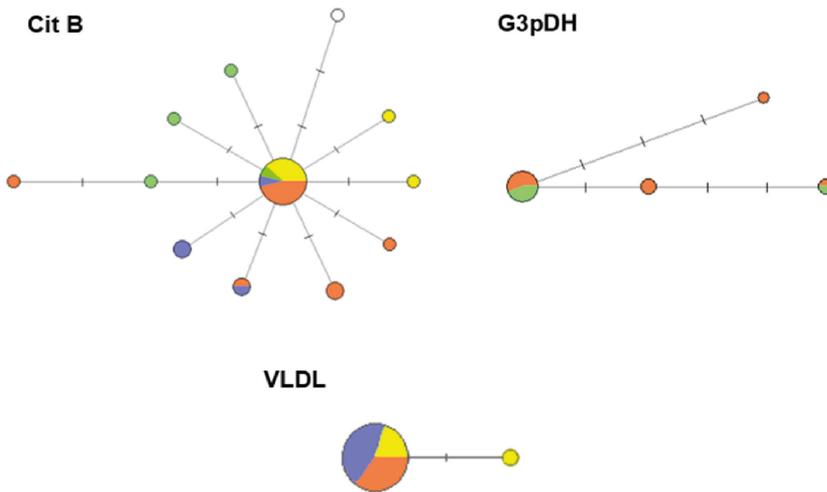


Figura 2. Redes de haplotipos de secuencias de Citocromo b, G3-pDH y VLDL de la Monterita Cabeza Negra (*Microspingus melanoleucus*). Los colores representan la región geográfica de origen de las muestras: naranja=norte; amarillo=sur; azul=este; verde=oeste; blanco=Bolivia (se decidió colorear distintivamente a pesar de considerarse dentro del grupo Norte para el resto de los análisis). Las líneas perpendiculares a las ramas representan los pasos mutacionales.

RESULTADOS

Análisis de secuencias

El análisis de Geneland no apoyó a la existencia de estructura genética poblacional en la especie y las redes de haplotipos para los tres marcadores no denotaron linajes exclusivos a ninguna región geográfica (Fig. 2). Para Citocromo B, la región Oeste presentó el mayor porcentaje de haplotipos exclusivos. Los indicadores de diversidad para los tres marcadores utilizados no indicaron ninguna tendencia clara (Tabla 2). En relación con 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 2).

Se realizaron AMOVA con las secuencias de Cit B para distintas agrupaciones geográficas (Tabla 3). La mayoría de las estadísticas F no fueron significativas, sugiriendo flujo génico alto y ausencia de estructura genética poblacional en la especie. En la última agrupación testeada (Tabla 3, grupo 3), el F_{ST} fue significativo cuando consideramos al grupo oeste separado del resto. En el caso del marcador VLDL sólo fue evaluada la agrupación norte//este y sur, cuyos valores resultantes no fueron significativos ($p > 0,05$). Con relación a los análisis de F_{ST} pareados, se obtuvieron dos valores significativos ($p < 0,05$) para Citocromo B: comparación este-oeste ($F_{ST} = 0,47023$) y comparación este-sur ($F_{ST} = 0,37916$). Los F_{ST} pareados para las secuencias de G3-pDH y VLDL no fueron significativos ($p > 0,05$).

Tabla 2. Diversidad genética e índices de neutralidad de Tajima (D) y de Fu (FS) para poblaciones de la Monterita Cabeza Negra (*Microspingus melanoleucus*) basados en tres marcadores independientes. n: número de secuencias en cada grupo, π : diversidad nucleotídica, H: diversidad haplotípica. Los niveles de significancia para las pruebas de neutralidad fueron fijados en 0.05 (D) y 0.02 (FS), para los que ningún valor fue significativo.

Grupo	Citocromo B					VLDL					G3-pDH				
	n	π	H	D	FS	n	π	H	D	FS	n	π	H	D	FS
Norte	12	0,005	0,757	-1,594	8,769	7	0	0	0	0	8	0,005	0,75	-1,064	2,445
Este	7	0,003	0,524	-1,024	0,904	9	0,0004	0	0	0	0	-	-	-	-
Sur	4	0,002	0,833	0,860	1,606	6	0,002	0,533	1,032	1,723	0	-	-	-	-
Oeste	4	0,007	1	0,067	3,051	0	-	-	-	-	4	0,005	0,5	-0,78	4,604
Total	27	0,005	0,769	-1,276	11,324	22	0,0007	0,173	-0,835	0,813	12	0,005	0,667	-0,946	2,49

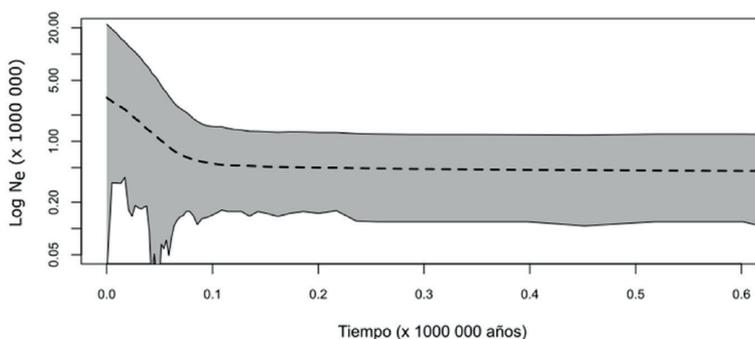


Figura 3. Extended Bayesian Skyline Plot (EBS) basado en secuencias de ADN de la Monterita Cabeza Negra (*Microspingus melanoleucus*). El eje del tamaño poblacional (N_e) está en escala logarítmica y en millones de individuos. La escala temporal está en millones de años. La línea punteada corresponde a la media del tamaño poblacional y las líneas enteras superior e inferior corresponden a los límites respectivos del intervalo de confianza (95%).

Tabla 3. Análisis de la Varianza Molecular (AMOVA) de la Monterita Cabeza Negra (*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_{CT}	F_{SC}	F_{ST}
1) Norte // Oeste, Este y Sur	-43,97	57,73	86,24	-0,43971	0,40098	0,13759
2) Norte // Oeste // Este y Sur	35,95	-9,50	73,56	0,35946	-0,14834	0,26444
3) Oeste // Norte, Este y Sur	53,64	-4,16	50,52	0,53638	-0,08976	0,49476

El análisis de EBS indicó una expansión demográfica de *M. melanoleucus* de aproximadamente cinco veces en los últimos 100.000 años (Fig. 3).

Modelados de nicho ecológico

Se generaron modelos de distribución correspondientes a cuatro períodos históricos (Fig. 4). Las variables que más contribuyeron al modelo de nicho de la especie son: 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.

Con relación al modelado del presente, se observó 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 (Fig. 4a). Dicha tendencia diagonal está atenuada en

el Último Máximo Glacial (Fig. 4c), mientras que se agudiza en el Holoceno Medio (Fig. 4b). En el Último Interglacial, los patrones de distribución de áreas con hábitats adecuados son completamente diferentes. Respecto al tamaño del área potencial de ocupación en lo que se refiere al Presente (Tabla 4), se observa disminución para el Holoceno Medio (reducción del 37,7%), estabilidad para el Último Máximo Glacial (reducción del 4,7%) y abrupta disminución para el Último Interglacial (reducción del 85,6%).

DISCUSIÓN

En este trabajo evaluamos la hipótesis de que expansiones de bosques higrófilos en el pasado reciente del Gran Chaco podrían haber fragmentado este bioma y conectado bosques húmedos vecinos (Selva Tucumana-Boliviana y Selva Atlántica). Los resultados no apoyan la existencia reciente de barreras al flujo génico entre poblaciones de *M. melanoleucus*, lo que no sustenta la hipótesis de expansión de bosques higrófilos que hayan fragmentado la distribución de organismos chaqueños. En conjunto, los resultados

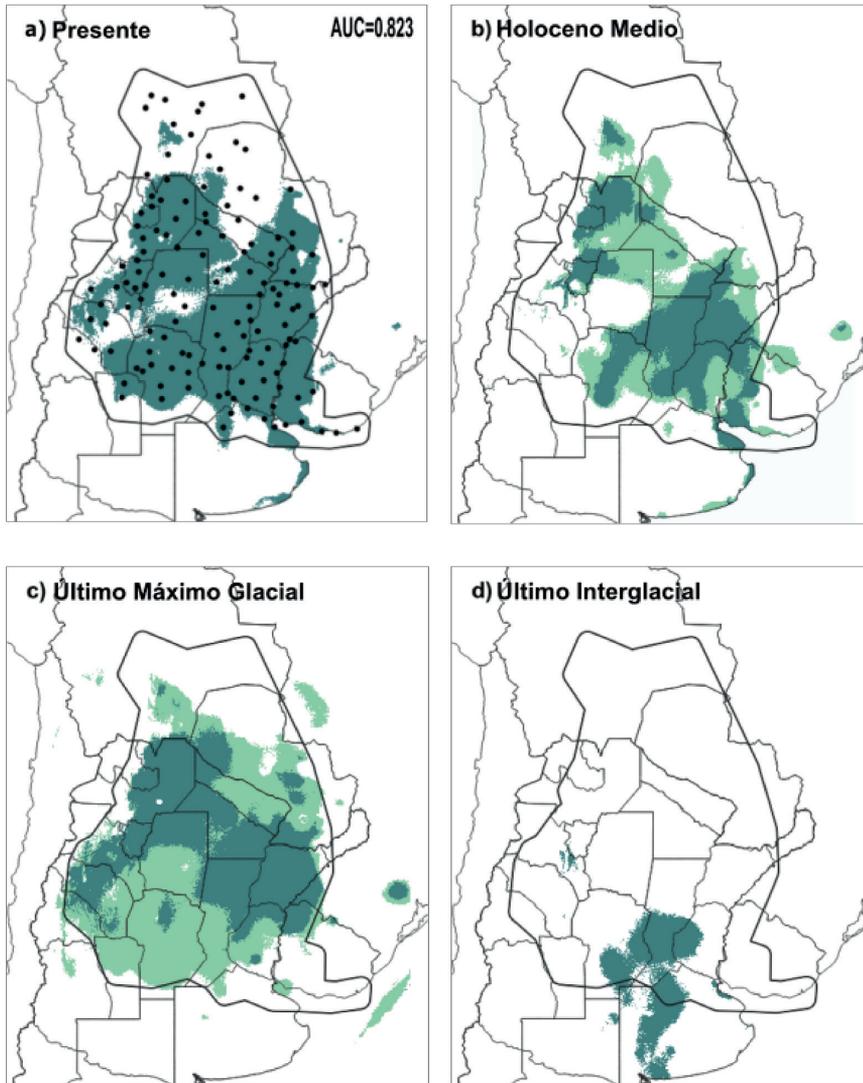


Figura 4. Modelos de nicho ecológico de la Monterita Cabeza Negra (*Microspingus melanoleucus*) para distintos periodos de tiempo: a) Presente; los puntos negros corresponden a los registros de ocurrencias; b) Holoceno Medio (~6000 años ap); c) Último Máximo Glacial (~22 000 años ap); d) Último Interglacial (~140 000-120 000 años ap).

sugieren estabilidad del Gran Chaco para el período Cuaternario.

Estructura genética poblacional y distribución histórica de *M. melanoleucus*

El conjunto de evidencias sugiere que el ave en estudio mantuvo relativamente estable su tamaño poblacional, o que al menos su crecimiento fue bajo, y que no hubo barreras al flujo génico importantes en toda su distribución. Los resultados genéticos no apoyan la predicción de que el ave en estudio presentaría estructura genética asociadas a ríos y en el sentido Norte-Sur. Particularmente, se esperaba que las poblaciones asociadas a los ríos Bermejo y Pilcomayo se

diferencien de las del resto y/o que presenten la menor diversidad genética. Sin embargo, los resultados descartan dicha estructura, pues se observaron redes de haplotipos en forma de estrella, baja exclusividad haplotípica en los grupos geográficos y valores no significativos de F_{CT} y F_{ST} . Aun así, es necesario resaltar que las muestras analizadas dentro del grupo Norte corresponden mayormente al área de posible expansión de bosques higrófilos, y la única muestra que se encuentra al norte de tal barrera presentó en la red de haplotipos un mayor número de pasos mutacionales (ver Cit B en Fig. 2). Con relación a la reconstrucción del tamaño efectivo (Fig. 3), la expansión demográfica registrada fue de baja intensidad (aproximadamente de cinco veces), y reciente en escalas temporales. Este

resultado coincide con la proyección realizada para el linaje chaqueño de otra ave de áreas abiertas (*Lepidocolaptes angustirostris* en Rocha et al. 2020). Otros vertebrados endémicos de la misma región han revelado tamaño constante o bien expansiones de hasta 10 veces en los últimos 0,5 millones de años (*Lepidobatrachus* spp. y *Leptodactylus bufonius* respectivamente en Brusquetti et al. 2018, 2019), al igual que vertebrados de otras regiones (*Basileuterus leucoblepharus* -ave endémica de la Selva Atlántica- en Batalha-Filho et al. 2012). La baja y reciente variación en el tamaño efectivo es compatible con los resultados de las pruebas de neutralidad (Tabla 2), las cuales al no ser significativas sugieren estabilidad.

A su vez, los modelados de nicho tampoco sustentan una fragmentación histórica en el sentido Norte-Sur, tanto en el presente como en el pasado (Fig. 4). No obstante, en el presente existe ausencia de hábitat para la especie en forma de diagonal fragmentando la distribución en noroeste vs. sudeste. Esta disyunción aparece también en otros periodos, 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 por superposición de modelos climáticos (regiones de tonos más oscuros, Fig. 4c). La franja diagonal mencionada fue poco favorable climáticamente para la especie, pudiendo actuar como barrera al flujo génico. La extensión completa de esta franja corresponde en parte a la zona transicional o ecotonal entre el Chaco Oriental y Occidental (Chaco Central según Prado 1993) mientras que la sección meridional corresponde al Chaco Occidental. Tanto el Chaco Central como el Occidental se caracterizan por una disminución en las precipitaciones respecto al Oriental. Además, fue identificado en la región sur de la franja un notable aumento en el rango de temperaturas (variable BIO7) según los patrones de las capas individuales de los modelos climáticos. La expansión

o retracción del nicho en la región sur de la franja se atribuye a cambios en esta variable.

Biogeografía del Gran Chaco durante el Pleistoceno

Los resultados corroboran la hipótesis de alta estabilidad de la ecorregión chaqueña. Por un lado, el análisis genético sugiere estabilidad o leve incremento demográfico, y ausencia de barreras al flujo génico. Esto indica que el área de ocurrencia del ave se habría mantenido bastante estable. Por otro lado, los resultados del análisis de nicho indican leves cambios entre periodos pasados y el presente, con excepción de la comparación con el Último Interglacial (Tabla 4). Los modelados de nicho sugieren para el Holoceno Medio una expansión de las condiciones actuales del Chaco Central sobre parte del área actual ocupada por el Chaco Oriental. El Holoceno Medio es caracterizado como un período árido para el continente (Behling y Hooghiemstra 1998, Ledru 2002, May et al. 2008, Prado et al. 2013) y el reemplazo de bosques húmedos por arbustales y pastizales en este período ya ha sido propuesto para el Este del continente (Prado et al. 2013). Esto último podría estar relacionado con nuestros resultados, dadas las condiciones secas del Chaco Central frente al Oriental. A su vez, los análisis indican para el Último Máximo Glacial un reducido avance de la ecorregión del Gran Chaco sobre el ecotono con el Monte de Llanuras y Mesetas, particularmente en el sentido sur, además de modificaciones 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, aun así, la mayoría de los trabajos caracterizan al área de estudio como un período más seco que el actual (Sylvestre 2009). Este período es el que menor variación presenta respecto al presente en nuestros modelados (Tabla 4), eso permitiría asumir leves variaciones ambientales en la región de estudio, aunque debido a las controversias que se

Tabla 4. Área de distribución (en píxeles -px-) de la Monterita Cabeza Negra (*Microspingus melanoleucus*) para el presente y periodos pasados. Para Holoceno Medio y Último Glacial Máximo el área de ocurrencia se obtuvo mediante un promedio de píxeles de los dos modelos climáticos utilizados.

Período	Área (px)	Reducción respecto al Presente
Presente	59 986	0%
Holoceno Medio	37 362	37,7%
Último Glacial Máximo	57 188	4,7%
Último Interglacial	8628	85,6%

presentan en la bibliografía no es posible al momento establecer relaciones claras. 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. Para este período han sido hallados indicios de climas tropicales/subtropicales en regiones con climas templados actualmente (e.g. Entre Ríos en Brunetto et al. 2015) lo que podría haber generado modificaciones en la distribución de la flora y fauna. Nuestros resultados para el Último Interglacial no reflejan patrones de distribución de la especie relacionados a los otros períodos modelados, esto puede deberse a los cambios ambientales mencionados en la bibliografía, aunque aún existe una gran falta de información climática precisa para la región y el período.

En términos generales, el Gran Chaco ha sido caracterizado como una región estable en su distribución, aunque dentro de esa macro-estabilidad se han presentado evidencias de dinámicas climáticas de menor escala (e.g. Brusquetti et al. 2019, Contreras y Zucol 2019). Respecto a reconstrucciones de historias biogeográficas del Cuaternario, la mayoría de las investigaciones que incluyen parcialmente al Gran Chaco se han realizado en torno a otras regiones, o bien con el fin de evaluar hipótesis de conexiones entre distintas áreas. Sin embargo, los escasos trabajos orientados al Gran Chaco han encontrado, al igual que en la presente investigación, baja o ausente estructura genética y baja diversidad intraespecífica, asociado a modificaciones en el curso de ríos, inestabilidad climática durante el Cuaternario (Camps et al. 2018), y a altos niveles de flujo génico y expansiones poblacionales recientes y moderadas (Moreno et al. 2018, Brusquetti et al. 2019, Robbiati et al. 2021).

Los resultados de este trabajo no resultan compatibles con la existencia de un corredor de bosques higrófilos en la región Chaqueña que habría permitido contacto entre las Selva Tucumana-Boliviana y la Selva Atlántica durante los períodos húmedos del Cuaternario. Este resultado está en sintonía con otras investigaciones que apoyan en cambio la hipótesis de un corredor principal vía Cerrado o vía transición Chaco-Cerrado (Silva 1994, Sobral-Souza et al. 2015, Trujillo-Arias et al. 2017, 2018, 2020, Cabanne et al. 2019). Incluso se ha detectado flujo génico bajo o ausente en especies con distribución continua en el Chaco, actuando principalmente el río Paraná-Paraguay y sus paleo-cauces como barrera especie-específica al intercambio genético (e.g. *Thamnophilus*

caerulescens en Kopuchian et al. 2020). Sin embargo, en futuras investigaciones que pongan a prueba hipótesis similares será pertinente incorporar muestras correspondientes al Chaco de Paraguay y Bolivia, es decir, al norte de los ríos Pilcomayo y Bermejo, para evaluar la predicción de aislamiento genético entre poblaciones al Sur y al Norte de la barrera de bosques higrófilos. Por último, es necesario remarcar que la reconstrucción de historias biogeográficas regionales está sujeta a las especies en estudio: por ejemplo, existen ciertas evidencias de conexiones a través del Chaco para otras especies (*Eugenia uniflora* en 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.

En conclusión, la distribución de *Microspingus melanoleucus* fue relativamente estable desde el Pleistoceno Superior en adelante. A raíz de esto, no hay evidencia que sustente la hipótesis de grandes expansiones de vegetación higrófila en la actual zona del Gran Chaco, asociadas a las fluctuaciones climáticas del Pleistoceno.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al CONICET (PIP 2015 637) y al Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación de Argentina (PICT 2014 2154 y PICT 2018 2689) por haber apoyado económicamente este estudio. También agradecemos a dos revisores anónimos y al editor por sus comentarios, que permitieron mejorar el presente reporte.

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
- ANDERSON D, ANDERSON DE, GOUDIE A Y PARKER A (2013) *Global environments through the quaternary: exploring environmental change*. Oxford University Press, Oxford
- BANDELT HJ, FORSTER P Y RÖHL A (1999) Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* 16:37-48
- BATALHA-FILHO H, CABANNE GS Y MIYAKI CY (2012) Phylogeography of an Atlantic forest passerine reveals

- demographic stability through the last glacial maximum. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 65:892-902
- BEHLING H Y HOOGHMIEMSTRA 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
- BILLERMAN SM, KEENEY BK, RODEWALD PG Y SCHULENBERG TS (eds.) (2020) Birds of the World. Cornell Laboratory of Ornithology, Ithaca (URL: <https://birdsoftheworld.org/bow/home>)
- BORGE T, WEBSTER MT, ANDERSSON G Y SAETRE GP (2005) Contrasting patterns of polymorphism and divergence on the Z chromosome and autosomes in two *Ficedula* flycatcher species. *Genetics* 171:1861-1873
- BOUCKAERT R, VAUGHAN TG, BARIDO-SOTTANI J, DUCHÈNE S, FOURMENT M, GAVRYUSHKINA A, HELED J, JONES G, KÜHNERT D, DE MAIO N, MATSCHINER M, MENDES FK, MÜLLER NF, OGLIVIE HA, DU PLESSIS L, POPINGA A, RAMBAUT A, RASMUSSEN D, SIVERONI I, SUCHARD MA, WU C, XIE D, ZHANG C, STADLER T Y DRUMMOND AJ (2019) BEAST 2.5: An advanced software platform for Bayesian evolutionary analysis. *PLoS Computational Biology* 15:e1006650
- BROECKER WS Y VAN DONK J (1970) Insolation changes, ice volumes, and the O18 record in deepsea cores. *Reviews of Geophysics* 8:169-198
- BRUNETTO E, FERRERO B Y 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 Y HADDAD CF (2018) What happened in the South American Gran Chaco? Diversification of the endemic frog genus *Lepidobatrachus* Budgett, 1899 (Anura: Ceratophryidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 123:123-136
- BRUSQUETTI F, NETTO F, BALDO D Y 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* 126:404-416
- BURNS KJ, SHULTZ AJ, TITLE PO, MASON NA, BARKER FK, KLICKA J, LANYON SM Y LOVETTE IJ (2014) Phylogenetics and diversification of tanagers (Passeriformes: Thraupidae), the largest radiation of Neotropical songbirds. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 75:41-77
- 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 Y 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
- CAMPS GA, MARTÍNEZ-MEYER E, VERGA AR, SÉRSIC, AN Y 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* 125:401-420
- CARNAVAL AC, MORITZ C (2008) Historical climate modelling predicts patterns of current biodiversity in the Brazilian Atlantic forest. *Journal of Biogeography* 35:1187-1201
- CHAN LM, BROWN JL Y YODER AD (2011) Integrating statistical genetic and geospatial methods brings new power to phylogeography. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 59:523-537
- CLARK PU, ARCHER D, POLLARD D, BLUM JD, RIAL JA, BROVKNIN V, MIX AC, PISIAS NG Y ROY M (2006) The middle Pleistocene transition: characteristics, mechanisms, and implications for long-term changes in atmospheric pCO₂. *Quaternary Science Reviews* 25:3150-3184
- CONTRERAS SA Y ZUCOL AF (2019) Late Quaternary vegetation history based on phytolith records in the eastern Chaco (Argentina). *Quaternary International* 505:21-33
- DARRIBA D, TABOADA GL, DOALLO R Y POSADA D (2012) jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* 9:772
- 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, PINTEA L, 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, VOGEL M, AL-SHAMMARI KF Y SALEEM M (2017) An Ecoregion-Based Approach to Protecting Half the Terrestrial Realm. *BioScience* 1:1-12
- eBIRD (2021) eBird: An online database of bird distribution and abundance (web application). eBird, Cornell Lab of Ornithology, Ithaca (URL: <http://www.ebird.org>)
- EXCOFFIER L Y 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 Y 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 Y ERICSON P (2003) *Sapayoa aenigma*: a New World representative of Old World suboscines. *Proceeding of the Royal Society of London* 270:S238-S241
- FU YX (1997) Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics* 147:915-25
- GENT PR, DANABASOGLU G, DONNER LJ, HOLLAND MM, HUNKE EC, JAYNE SR, LAWRENCE DM, NEALE RB, RASCH PJ Y VERTEINSTEIN M (2011) The community climate system model version 4. *Journal of climate* 24:4973-4991
- GRAHAM CH, MORITZ C Y WILLIAMS SE (2006) Habitat history improves prediction of biodiversity in rainforest fauna. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103:632-636
- GRIFFITHS R, DOUBLE M, ORR K Y DAWSON R (1998) A DNA test to sex most birds. *Molecular Ecology* 7:1071-1075
- GUILLOT G, MORTIER F Y ESTOUP A (2005) Geneland: A program for landscape genetics. *Molecular Ecology Notes* 5:712-715
- HAFFER J (1969) Speciation in Amazonian forest birds. *Science* 165:131-137
- HARRISON S Y NOSS R (2017) Endemism hotspots are linked to stable climatic refugia. *Annals of Botany* 119:207-214
- HAYS JD, IMBRIE J Y SHACKLETON NJ (1976) Variations in the Earth's orbit: pacemaker of the ice ages. *Science* 194:1121-1132
- HELED J Y DRUMMOND AJ (2008) Bayesian inference of population size history from multiple loci. *BMC Evolutionary Biology* 8:289
- HJLMANS RJ, CAMERON SE, PARRA JL, JONES PG Y JARVIS A (2005) Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology: A Journal of the Royal Meteorological Society* 25:1965-1978
- HJLMANS R, GUARINO L, JARVIS A Y O'BRIEN R (2007) DIVA-GIS v.7.5.0.0. (URL: <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 Y HEBERT PDN (2006) An inexpensive, automation-friendly protocol for recovering high-quality DNA. *Molecular Ecology Notes* 6:998-1002
- KOPUCHIAN C, CAMPAGNA L, LIJTMAYER DA, CABANNE GS, GARCÍA NC, LAVINIA PD, TUBARO PL, LOVETTE I Y DI GIACOMO AS (2020) A test of the riverine barrier hypothesis in the largest subtropical river basin in the Neotropics. *Molecular ecology* 29:2137-2149
- KUMAR S, STECHER G, LI M, KNYAZ C Y TAMURA K (2018) MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* 35:1547-1549
- LEDRU MP (2002) Late Quaternary history and evolution of the Cerrados as revealed by palynological records. Pp. 33-50 en: OLIVEIRA PS Y MARQUIS RJ (eds) *The Cerrados of Brazil: Ecology and Natural History of a Neotropical Savanna*. Columbia University Press, New York
- LOUGHEED S, FREELAND J, HANDFORD P Y BOAG P (2000) A molecular phylogeny of Warbling-Finches (*Poospiza*): Paraphyly in a Neotropical emberizid genus. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 17:367-378
- MAY JH, ARGOLLO J Y VEIT H (2008) Holocene landscape evolution along the Andean piedmont, Bolivian Chaco. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 260:505-520
- MORENO ES, DE FREITAS LB, SPERANZA PR Y SOLÍS NEFFA VG (2018) Impact of Pleistocene geoclimatic events on the genetic structure in mid-latitude South American plants: insights from the phylogeography of *Turnera sidoides* complex (Passifloraceae, Turneroideae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 188:377-390
- MORITZ C, PATTON JL, SCHNEIDER CJ Y SMITH TB (2000) Diversification of Rainforest Faunas: An Integrated Molecular Approach. *Annual Review of Ecology and Systematics* 31:533-563
- NAROSKY T Y YZURIETA D (2010) *Aves de Argentina y Uruguay*. Vazquez Mazzini Editores, Buenos Aires
- NORES M (1992) Bird speciation in subtropical South America in relation to forest expansion and retraction. *Auk* 109:346-357
- OTTO-BLIESNER BL, MARSHALL SJ, OVERPECK JT, MILLER GH Y HU A (2006) Simulating Arctic climate warmth and icefield retreat in the last interglaciation. *Science* 311:1751-1753
- PAILLARD D (1998) The timing of Pleistocene glaciations from a simple multiple-state climate model. *Nature* 391:378-381
- PHILLIPS SJ, ANDERSON RP Y SCHAPIRE RE (2006) Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling* 190:231-259
- PIOVANO EL, ARIZTEGUI D, CÓRDOBA F, CIOCCALE M Y SYLVESTRE F (2009) Hydrological Variability in South America Below the Tropic of Capricorn (Pampas and Patagonia, Argentina) During the Last 13.0 Ka. Pp. 323-351 en: VIMEUX F, KHODRI M Y SYLVESTRE F (eds.) *Past Climate Variability in South America and Surrounding Regions: from the Last Glacial Maximum to the Holoce-*

- ne. Springer Science and Business Media, Berlin/Heidelberg
- PISIAS NG Y MOORE TC (1981) The evolution of Pleistocene climate: A time series approach. *Earth and Planetary Science Letters* 52:450-458
- 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* 48:145-172
- PRADO LF, WAINER I, CHIESI CM, LEDRU MP Y TURCQ B (2013) A mid-Holocene climate reconstruction for eastern South America. *Climate of the Past* 9:2117-2133
- RAMBAUT A, DRUMMOND AJ, XIE D, BAELE G Y SUCHARD MA (2018) Posterior summarisation in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic Biology* 67:901
- ROBBIATI FO, NORES MJ, ANTON AM Y FORTUNATO RH (2021) Stability and fragmentation versus demographic expansion: different phylogeographic patterns in closely related sympatric legumes (*Senna*) from arid and semi-arid zones of mid-latitude South America. *Botanical Journal of the Linnean Society* 196:364-383
- ROCHA AV, CABANNE GS, ALEIXO A, SILVEIRA LF, TUBARO P Y 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*, Dendrocolapidae). *Journal of Avian Biology* 51(09):e02537
- ROZAS J, FERRER-MATA A, SÁNCHEZ-DELBARRIO JC, GUIRAO-RICO S, LIBRADO P, RAMOS-ONSINS SE Y SÁNCHEZ-GRACIA A (2017) DnaSP v6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Datasets. *Molecular Biology and Evolution* 34:3299-3302
- R DEVELOPMENT CORE TEAM (2019) *R: a language and environment for statistical computing* (URL: <http://www.R-project.org/>)
- SILVA JMC (1994) Can avian distribution patterns in Northern Argentina be related to retraction caused by Quaternary climatic changes? *Auk* 111:495-499
- SILVA JMC (1996) Distribution of Amazonian and Atlantic birds in gallery forests of the Cerrado region, South America. *Ornitologia Neotropical* 7:1-18
- SOBRAL-SOUZA T, LIMA-RIBEIRO MS Y SOLFERINI VN (2015) Biogeography of Neotropical Rainforests: past connections between Amazon and Atlantic Forest detected by ecological niche modeling. *Evolutionary Ecology* 29:643-655
- STEPHENS M Y 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. Pp. 3-27 en: VIMEUX F, KHODRI M Y SYLVESTRE F (eds.) *Past Climate Variability in South America and Surrounding Regions: from the Last Glacial Maximum to the Holocene*. Springer Science and Business Media, Berlin/Heidelberg
- TAJIMA F (1989) Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123:585-595
- TRUJILLO-ARIAS N, DANTAS G, ARBELÁEZ-CORTÉS E, NAOKI K, GÓMEZ MI, SANTOS FR, MIYAKI CY, ALEIXO A, TUBARO PL Y 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 Y 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
- TRUJILLO-ARIAS N, RODRÍGUEZ-CAJARVILLE MJ, SARI E, MIYAKI CY, SANTOS FR, WITT CC, BARREIRA AS, GOMEZ MI, NAOKI K, TUBARO PL Y CABANNE GS (2020) Evolution between forest macrorefugia is linked to discordance between genetic and morphological variation in Neotropical passerines. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 149:106849
- TURCHETTO-ZOLET AC, SALGUEIRO F, TURCHETTO C, CRUZ F, VETO NM, BARROS MJF, SEGATTO ALA, FREITAS LB Y 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
- VUILLEUMIER BS (1971) Pleistocene Changes in the Fauna and Flora of South America. *Science* 173:771-780
- WATANABE S, HAJIMA T, SUDO K, NAGASHIMA T, TAKEMURA T, OKAJIMA H, NOZAWA T, KAWASE H, ABE M, YOKOHATA T, ISEL T, SATO H, KATO E, TAKATA K, EMORI S Y KAWAMIYA M (2011) MIROC-ESM 2010: Model description and basic results of CMIP5-20c3m experiments. *Geoscientific Model Development* 4:845-872
- WEIR JT Y SCHLUTER D (2008) Calibrating the avian molecular clock. *Molecular ecology* 17:2321-2328
- WERNECK FP (2011) The diversification of eastern South American open vegetation biomes: Historical biogeography and perspectives. *Quaternary Science Reviews* 30:1630-1648

