

**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA
CENTRO DE CÁLCULO CIENTÍFICO UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
(CECALCULA)**

**Relaciones filogenéticas entre las aves de los órdenes
Cathartiformes (buitres americanos), Accipitriformes
(buitres del viejo mundo) y Ciconiiformes(cigüeñas)**

Trabajo Especial de Grado

Autor: Alejandra Carolina Sánchez Durán

Tutor Académico: Guillermo Bianchi

Tutor externo: Ascanio Rojas A.

Mérida, junio de 2024

"Nada en biología tiene sentido si no es a la luz de la evolución"

-Theodosius Dobzhansky

www.bdigital.ula.ve

Tabla de Contenido

1.	Introducción	11
2.	Marco Teórico	22
2.1 Marcadores moleculares.....		23
2.2 Marcadores mitocondriales y marcadores nucleares.....		24
2.3 Filogenia molecular de los buitres americanos con marcadores mitocondriales		26
2.4 Filogenia molecular de los buitres americanos con marcadores nucleares		29
2.5 Estado taxonómico y filogenético actual de los buitres americanos		35
2.6 Clasificación y árboles filogenéticos.....		40
2.7 Planteamiento del problema		41
3.	Hipótesis	42
4.	Objetivos	42
4.1 General		42
4.2 Específicos		42
5.	Metodología	43
5.1 Determinación de los grupos taxonómicos y los marcadores moleculares		43
5.1.1 Elección de grupos taxonómicos vinculados a los Cathartiformes		43
5.1.2 Selección de los marcadores moleculares		43
5.1.3 Construcción de una base de datos y tratamiento de las secuencias		45
5.2 Elaboración de árboles filogenéticos y matrices multigénicas.....		47
6.	Resultados	49
6.1 Grupos taxonómicos y marcadores moleculares		49
6.1.1 Especies por orden taxonómico.....		53
6.1.2 Especies por familia taxonómica.....		55
6.2 Árboles filogenéticos.....		63
6.2.1 Árboles consenso de partida.....		63
6.2.2. Árboles consenso obtenidos para los buitres americanos		66

7.	Discusión	69
7.1	Los marcadores moleculares	69
7.2	Los árboles filogenéticos	72
7.3	El grupo hermano de los Cathartiformes	74
8.	Conclusiones	75
9.	Anexos	76
9.1	Grupos taxonómicos de aves vinculados a los buitres americanos	76
9.2	Interfaz de la matriz multigénica	78
9.3	Información de los marcadores moleculares	79
9.3.1	Marcadores mitocondriales empleados en el análisis molecular	79
9.3.2	Marcadores nucleares empleados en el análisis molecular	80
9.4	Árboles filogenéticos individuales	84
9.4.1	Árboles mitocondriales	84
9.4.2	Árboles nucleares	95
10.	Bibliografía	124

Índice de tablas

TABLA 1 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LAS ESPECIES DE BUITRES PERTENECIENTES A LOS ÓRDENES ACCIPITRIFORMES Y CATHARTIFORMES	12
TABLA 2. CLASIFICACIÓN DE LAS AVES CARROÑERAS (GARROD 1873)	20

Índice de imágenes

FIGURA 1. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LAS ESPECIES <i>GYPUS AFRICANUS</i> (IZQUIERDA) Y <i>GYPUS BENGALENSIS</i> (DERECHA) (CLARK, ET AL., 2020B; KEMP, ET AL., 2020)	14
FIGURA 2. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LAS ESPECIES <i>GYPUS COPROTHERES</i> (IZQUIERDA) Y <i>GYPUS FULVUS</i> (DERECHA) (HACKETT, 2022; KEMP ET AL., 2020A)	14
FIGURA 3. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LAS ESPECIES <i>GYPUS HIMALAYENSIS</i> (IZQUIERDA) Y <i>GYPUS INDICUS</i> (DERECHA) (CLARK ET AL., 2020)	14
FIGURA 4. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LAS ESPECIES <i>GYPUS RUEPPELLI</i> (IZQUIERDA) Y <i>GYPUS TENUIROSTRIS</i> (DERECHA) (DEL HOYO ET AL., 2020; KEMP ET AL., 2020B)	15

FIGURA 5. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LAS ESPECIES <i>GYPHIERAX ANGOLENSIS</i> (IZQUIERDA) Y <i>AEGYPIUS MONACHUS</i> (DERECHA) (HACKETT, 2023; KEMP & KIRWAN, 2020)	15
FIGURA 6. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LAS ESPECIES <i>GYPHAETUS BARBATUS</i> (IZQUIERDA) Y <i>NECROSYRITES MONACHUS</i> (DERECHA) (KEMP ET AL., 2020; ORTA, ET AL., 2020)	15
FIGURA 7. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LAS ESPECIES <i>NEOPHRON PERCNOPTERUS</i> (IZQUIERDA) Y <i>SARCOGYPS CALVUS</i> (DERECHA) (CLARK ET AL., 2020A; ORTA ET AL., 2020)	16
FIGURA 8. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LAS ESPECIES <i>TORGOS TRACHELIOTOS</i> (IZQUIERDA) Y <i>TRIGONOCEPS OCCIPITALIS</i> (DERECHA) (KEMP ET AL., 2020C; KEMP ET AL., 2020).....	16
FIGURA 9. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LAS ESPECIES <i>GYMNOGYPS CALIFORNIANUS</i> (IZQUIERDA) Y <i>SARCORAMPHUS PAPA</i> (DERECHA) (FINKELSTEIN ET AL., 2020; HOLSTE ET AL., 2020).....	16
FIGURA 10. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LAS ESPECIES <i>CORAGYPS ATRATUS</i> (IZQUIERDA) Y <i>CATHARTES AURA</i> (DERECHA) (BUCKLEY ET AL., 2022; KIRK & MOSSMAN, 2020)	17
FIGURA 11. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LAS ESPECIES <i>CATHARTES BURROVIANUS</i> (IZQUIERDA) Y <i>CATHARTES MELAMBROTUS</i> (DERECHA) (EITNIEAR, 2020; JONES, 2020).....	17
FIGURA 12. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LA ESPECIE <i>VULTUR GRYPHUS</i> (HOUSTON ET AL., 2020)	18
FIGURA 13. ÁRBOLES FILOGENÉTICOS OBTENIDOS DEL CONJUNTO DE SECUENCIAS DEL GEN CYTB EN LOS ESTUDIOS DE AVISE ET AL. (1994).....	27
FIGURA 14. ÁRBOL FILOGENÉTICO CONSENSO OBTENIDO DE LOS DATOS MOLECULARES DEL GEN CYTB QUE REFLEJA LAS RELACIONES DE PARENTESCO ENTRE LOS GRUPOS DE AVES ESTUDIADOS MEDIANTE TRES MÉTODOS DE ANÁLISIS (WINK, 1995).....	28
FIGURA 15. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON LA INFORMACIÓN DE CINCO GENES NUCLEARES EMPLEANDO EL ANÁLISIS DE BAYESIANO (ERICSON ET AL., 2006)	30
FIGURA 16. ÁRBOL FILOGENÉTICO DESARROLLADO PARA 45 ESPECIES REPRESENTATIVAS DE TODOS LOS ÓRDENES DE NEOAVES, MEDIANTE UN ANÁLISIS CON EXAML BAJO EL MODELO GTR+GAMMA (JARVIS ET AL., 2014)	32
FIGURA 17. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO PARA 198 ESPECIES DE AVES EXISTENTES QUE SE HAN CLASIFICADO EN TODOS LOS ÓRDENES Y FAMILIAS ESTABLECIDOS HASTA LA FECHA (PRUM ET AL., 2015).....	34
FIGURA 18. ÁRBOL FILOGENÉTICO QUE MUESTRA LAS RELACIONES ENTRE LOS ACCIPITRIFORMES Y CATHARTIFORMES INFERIDO CON MRBAYES DURANTE EL ANÁLISIS MOLECULAR EFECTUADO POR URANTÓWKA ET AL. (2021).....	38
FIGURA 19. COMPARACIÓN DE LA ESTRUCTURA DE LAS PATAS DE UN ÁGUILA, UNA ESPECIE DE BUITRE GÉNERO <i>Gyps</i> , UNA CIGÜEÑA Y UN BUITRE DEL NUEVO MUNDO (O'NEAL, 2016)	40
FIGURA 21. NÚMERO DE SECUENCIAS IDENTIFICADAS PARA CADA MARCADOR MITOCONDRIAL EMPLEADO EN EL ANÁLISIS FILOGENÉTICO PARA LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS.	50
FIGURA 22. NÚMERO DE SECUENCIAS IDENTIFICADAS PARA LOS MARCADORES NUCLEARES EMPLEADOS EN EL ANÁLISIS FILOGENÉTICO PARA LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS.	51
FIGURA 23. NÚMERO DE SECUENCIAS IDENTIFICADAS PARA LOS MARCADORES NUCLEARES EMPLEADOS EN EL ANÁLISIS FILOGENÉTICO PARA LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS.	52

FIGURA 24. NÚMERO DE SECUENCIAS IDENTIFICADAS PARA LOS MARCADORES NUCLEARES EMPLEADOS EN EL ANÁLISIS FILOGENÉTICO PARA LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS.	52
FIGURA 25. NÚMERO DE ESPECIES POR ORDEN TAXONÓMICO CON INFORMACIÓN MOLECULAR IDENTIFICAS PARA AMBOS CONJUNTOS DE MARCADORES EN LA BASE DE DATOS DEL PORTAL WEB DEL NCBI Y UNIPROT	54
FIGURA 26. NÚMERO DE ESPECIES CON SECUENCIAS CORRESPONDIENTES A LOS MARCADORES MITOCONDRIALES POR FAMILIA TAXONÓMICA.	56
FIGURA 27. NÚMERO DE ESPECIES CON SECUENCIAS CORRESPONDIENTES A LOS MARCADORES MITOCONDRIALES POR FAMILIA TAXONÓMICA.	57
FIGURA 28. NÚMERO DE ESPECIES CON SECUENCIAS CORRESPONDIENTES A LOS MARCADORES NUCLEARES POR FAMILIA TAXONÓMICA.	58
FIGURA 29. NÚMERO DE ESPECIES CON SECUENCIAS CORRESPONDIENTES A LOS MARCADORES NUCLEARES POR FAMILIA TAXONÓMICA	59
FIGURA 30. NÚMERO DE ESPECIES CON SECUENCIAS CORRESPONDIENTES A LOS MARCADORES NUCLEARES POR FAMILIA TAXONÓMICA	60
FIGURA 31. NÚMERO DE ESPECIES CON SECUENCIAS CORRESPONDIENTES A LOS MARCADORES NUCLEARES POR FAMILIA TAXONÓMICA	61
FIGURA 32. NÚMERO DE ESPECIES CON SECUENCIAS CORRESPONDIENTES A LOS MARCADORES NUCLEARES POR FAMILIA TAXONÓMICA	62
FIGURA 33. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON LA MATRIZ MULTIGÉNICA DE LOS MARCADORES MITOCONDRIALES DE SEIS FAMILIAS TAXONÓMICAS DE LAS AVES EMPLEADAS EN EL ANÁLISIS.....	64
FIGURA 34. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON LA MATRIZ MULTIGÉNICA DE LOS MARCADORES NUCLEARES DE SEIS FAMILIAS TAXONÓMICAS DE LAS AVES EMPLEADAS EN EL ANÁLISIS.	65
FIGURA 35. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON LA MATRIZ MULTIGÉNICA DE LOS MARCADORES MITOCONDRIALES DE TODOS LOS GRUPOS TAXONÓMICOS DE AVES EMPLEADAS EN EL ANÁLISIS	66
FIGURA 36. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON LA MATRIZ MULTIGÉNICA DE LOS MARCADORES NUCLEARES DE TODOS LOS GRUPOS TAXONÓMICOS DE AVES EMPLEADAS EN EL ANÁLISIS.	67
FIGURA 37. ÁRBOL FILOGENÉTICO CONCATENADO INFERIDO CON LA INFORMACIÓN DE LAS SECUENCIAS IDENTIFICADAS PARA LA TOTALIDAD DE LOS 41 MARCADORES MOLECULARES.....	68
FIGURA 38. INTERFAZ DE LA MATRIZ MULTIGÉNICA OBTENIDA DE LA CONCATENACIÓN DE LOS MARCADORES MOLECULARES IDENTIFICADOS PARA LA INFERENCIA DE LOS ÁRBOLES FILOGENÉTICOS	78
FIGURA 39. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR MITOCONDRIAL 12S, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS	84
FIGURA 40. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR MITOCONDRIAL 16S, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS	85
FIGURA 41. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR MITOCONDRIAL ATP8, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS	86

FIGURA 42. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR MITOCONDRIAL ATP6, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS	87
FIGURA 43. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR MITOCONDRIAL COX1, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS	88
FIGURA 44. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR MITOCONDRIAL COX2, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS	89
FIGURA 45. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR MITOCONDRIAL COX3, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS	90
FIGURA 46. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR MITOCONDRIAL CYTB, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS	91
FIGURA 47. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR MITOCONDRIAL ND1, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS	92
FIGURA 48. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR MITOCONDRIAL ND2, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS	93
FIGURA 49. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR MITOCONDRIAL ND6, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS	94
FIGURA 50. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR NUCLEAR PRDM16, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS	95
FIGURA 51. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR NUCLEAR MAST2, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS	96
FIGURA 52. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR NUCLEAR ADGRL2, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS	97
FIGURA 53. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR NUCLEAR OLFML3, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS	98
FIGURA 54. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR NUCLEAR B3GALT2, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS	99
FIGURA 55. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR NUCLEAR CAMSAP2, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS	100
FIGURA 56. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR NUCLEAR CHR34, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS	101
FIGURA 57. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR NUCLEAR FIGN, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS.....	102
FIGURA 58. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR NUCLEAR RAPH1, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS.....	103
FIGURA 59. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR NUCLEAR ACKR3, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS	104

FIGURA 60. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR NUCLEAR PLCL2, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS.....	105
FIGURA 61. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR NUCLEAR GOLGA4, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS	106
FIGURA 62. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR NUCLEAR ZBTB20, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS	107
FIGURA 63. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR NUCLEAR NDNF, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS.....	108
FIGURA 64. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR NUCLEAR RXFP3, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS.....	109
FIGURA 65. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR NUCLEAR RREB1, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS.....	110
FIGURA 66. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR NUCLEAR HIVEP2, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS	111
FIGURA 67. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR NUCLEAR FBXO30, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS	112
FIGURA 68. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR NUCLEAR AKAP12, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS	113
FIGURA 69. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR NUCLEAR PCLO, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS.....	114
FIGURA 70. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR NUCLEAR ADARB2, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS	115
FIGURA 71. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR NUCLEAR FAT3, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS.....	116
FIGURA 72. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR NUCLEAR GPR12, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS.....	117
FIGURA 73. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR NUCLEAR VPS18, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS.....	118
FIGURA 74. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR NUCLEAR MINAR1, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS	119
FIGURA 75. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR NUCLEAR MYADML2, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS	120
FIGURA 76. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR NUCLEAR TSHZ3, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS.....	121
FIGURA 77. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR NUCLEAR F217B, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS.....	122

FIGURA 78. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR NUCLEAR NEXMIF, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS	123
FIGURA79. ÁRBOL FILOGENÉTICO INFERIDO CON EL MARCADOR NUCLEAR IRS4, PARA LAS SIETE FAMILIAS DE AVES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO HERMANO DE LOS BUITRES AMERICANOS.....	124

Resumen

Las aves son uno de los grupos animales más ampliamente estudiados, y su facilidad de observación ha permitido elaborar clasificaciones en las que se han organizado más de 11.000 especies. Las primeras propuestas que organizaron a las diferentes especies de aves consideraban que las características visibles eran el factor determinante para vincular especies que tuvieran estructuras similares y, aunque este principio se sostuvo por muchos años, los planteamientos posteriores consideraron los hábitos alimenticios y las áreas de desarrollo como factores importantes para elaborar categorías más precisas entre las diversas especies. Sin embargo, el proceso de clasificación debe ir acompañado de la historia evolutiva de las especies, debido a que las comparaciones basadas en caracteres fenotípicos pueden generar organizaciones erróneas o limitar la determinación del vínculo filogenético entre las especies que componen un grupo taxonómico. Desde hace varias décadas, los estudios de taxonomía y sistemática han reevaluado las relaciones de parentesco entre las especies de diferentes grupos aviares empleando la información extraída de los caracteres moleculares. Algunos taxones han presentado continuamente reajustes en la clasificación, siendo uno de los más controvertidos el grupo de aves carroñeras del nuevo mundo, quienes históricamente han sido asociados a los buitres del viejo mundo debido al conjunto de similitudes morfológicas y conductuales que comparten. Los buitres americanos se ubican en el orden Cathartiformes según la clasificación más reciente. Aunque existen estudios que han señalado que este conjunto de especies comparte mayor afinidad filogenética con las aves del orden Ciconiiformes, la disparidad en torno a los resultados obtenidos en los árboles filogenéticos desarrollados en las investigaciones que evalúan la evolución de las aves, ha generado controversias en torno al grupo hermano de los buitres americanos. En este estudio, hemos desarrollado un análisis filogenético empleando la información molecular de marcadores mitocondriales y nucleares, para determinar el grupo taxonómico más vinculado a los catártidos. La topología de los árboles filogenéticos

desarrollados mediante programas bioinformáticos mostró que en ninguno de los análisis efectuados los buitres americanos se encuentran relacionados a los buitres del viejo mundo, pero sí se puede observar una relación con las especies de Ciconiiformes, apoyando las propuestas que han señalado a los Ciconiiformes como el grupo hermano de los Cathartiformes.

1. Introducción

Las aves son el grupo zoológico de vertebrados más ampliamente estudiado del que se han identificado aproximadamente 11.000 especies. El 95 % de las aves modernas conforman el clado de las Neoaves, excluyendo de este grupo taxonómico a las especies denominadas gallos, patos y pavos del clado Galloanserae y a los avestruces, emús y kiwis del clado Palaeognathae (Diamond, 1966; Hickman et al., 2000b; Van Tuine, 2009). A pesar de ser los animales más utilizados en estudios etológicos y de ecología (Navarro, 1988) la diversidad morfológica de los miembros que constituyen los taxones superiores y estudios filogenéticos recientes han generado fuertes discusiones sobre los criterios utilizados para clasificar muchas de las especies que comprenden los órdenes y familias donde se han organizado este conjunto de animales.

La presencia de estos organismos en casi todos los ecosistemas y la relativa facilidad para su observación, han permitido efectuar comparaciones de sus caracteres morfológicos y los patrones conductuales de los estilos de vida que desarrollan las especies en los entornos en que se desenvuelven.

Existe un consenso casi general sobre el reconocimiento de algunos grupos o especies de la clase aves mediante la descripción de sus características visibles, descartando las posibles dudas que se produjeran en torno al estatus de un individuo o grupo particular. Aunque los estudios han permitido elaborar categorías taxonómicas para diversos grupos, aún existen incongruencias en la determinación de las relaciones filogenéticas entre ciertos clados de aves, lo que impide establecer grupos bien definidos (Hackett et al., 2008).

Las raíces de la clasificación de las aves y cualquier otra forma de vida, residen en el marco filosófico de los pensadores clásicos Aristóteles y Platón, quienes elaboraron un sistema jerárquico basado sólo en el aspecto externo que exhibían los seres vivos, siendo el conjunto de características visibles los rasgos determinantes de un organismo para clasificarlo y relacionarlo con individuos semejantes. Sin embargo, pasado el medioevo, los primeros en afrontar una metodología crítica, enfocada desde una perspectiva lógica y jerárquica, fueron Willughby y Ray (1676) planteando inicialmente una división que consistía en “aves terrestres” y “aves acuáticas”, teniendo cada grupo, subdivisiones de acuerdo al conjunto de caracteres físicos y conductuales de las especies (Navarro, 1988).

La amplia diversificación de las aves está relacionada con la rápida radiación que sufrieron las especies emergentes durante el origen de esta clase (Cracraft et al., 2004) producto de cambios ambientales abruptos (Venditti et al., 2010; Yoder et al., 2010) que derivó en muchos grupos distintos con pocas o ninguna forma intermedia que permitiera hacer una vinculación de las relaciones filogenéticas existente entre los miembros de cada orden (Hackett et al., 2008). Uno de los grupos dentro de la clase aves que aún mantiene relaciones evolutivas sin resolver es el de los buitres americanos del orden Cathartiformes, que hasta finales del siglo XX fueron clasificados dentro del orden de los Accipitriformes (aves rapaces).

Los buitres son aves carroñeras que poseen una distribución mundial, organizados en dos grupos: los buitres del viejo mundo, constituidos por 16 especies y los buitres del nuevo mundo con siete especies (O’Neal, 2016) que se encuentran descritas en la **Tabla 1**.

Tabla 1 Distribución geográfica de las especies de buitres pertenecientes a los órdenes Accipitriformes y Cathartiformes

Especies	Nombre Común	Distribución
<i>Gyps africanus</i>	Buitre dorsiblanco africano	África
<i>Gyps coprotheres</i>	Buitre del Cabo	África
<i>Gyps rueppelli</i>	Buitre moteado	África

<i>Gypohierax angolensis</i>	Buitre palmero	África
<i>Necrosyrtes monachus</i>	Alimoche sombrío	África
<i>Trigonoceps occipitalis</i>	Buitre cabeciblanco	África
<i>Coragyps atratus</i>	Zamuro	América
<i>Cathartes aura</i>	Oripopo	América
<i>Cathartes burrovianus</i>	Oripopo cabeza amarilla menor	América
<i>Sarcoramphus papa</i>	Zamuro rey	América
<i>Gyps bengalensis</i>	Buitre dorsiblanco asiático	Asia
<i>Gyps himalayensis</i>	Buitre del Himalaya	Asia
<i>Gyps indicus</i>	Buitre indio	Asia
<i>Gyps tenuirostris</i>	Buitre picofino	Asia
<i>Sarcogyps calvus</i>	Buitre cabecirrojo	Asia
<i>Torgos tracheliotos</i>	Buitre torgo	África/Asia
<i>Gyps fulvus</i>	Buitre leonado	África/Asia/Europa
<i>Gypaetus barbatus</i>	Quebrantahuesos	África/Asia/Europa
<i>Neophron percnopterus</i>	Alimoche común	África/Asia/Europa
<i>Aegypius monachus</i>	Buitre negro	Asia/Europa
<i>Gymnogyps californianus</i>	Cóndor californiano	América del Norte
<i>Cathartes melambrotus</i>	Oripopo cabeza amarilla mayor	América del Sur
<i>Vultur gryphus</i>	Cóndor de los Andes	América del Sur

Si bien la manera de referirnos a ambos conjuntos suele estar definida por su zona de distribución, existen algunas especies que ocupan áreas específicas que están determinadas por la fase del ciclo de vida en que se encuentran los individuos de dichas especies, haciendo que su desplazamiento o zona de desarrollo sea más limitado en contraste con otras especies. Desde la Figura 1 hasta la Figura 12 se presentan los mapas de distribución de las 23 especies de buitres, destacando en morado el área con ocupación anual, en azul la zona no reproductiva y en naranja la zona reproductiva.

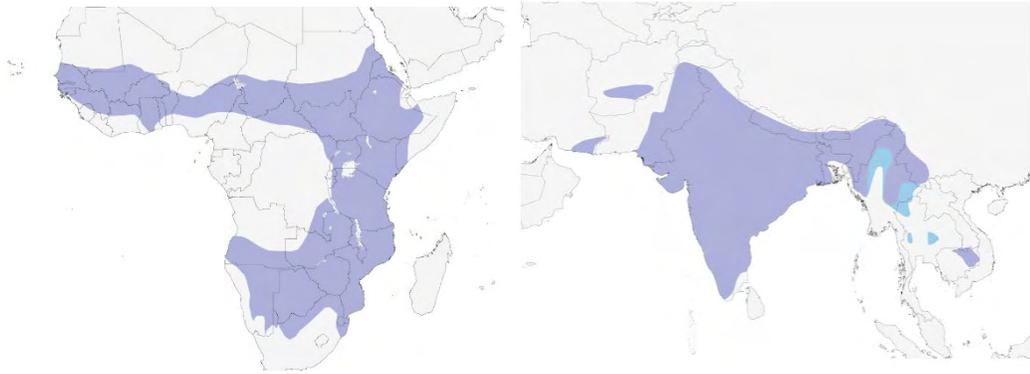


Figura 1. Distribución geográfica de las especies *Gyps africanus* (izquierda) y *Gyps bengalensis* (derecha) (Clark, et al., 2020b; Kemp, et al., 2020)

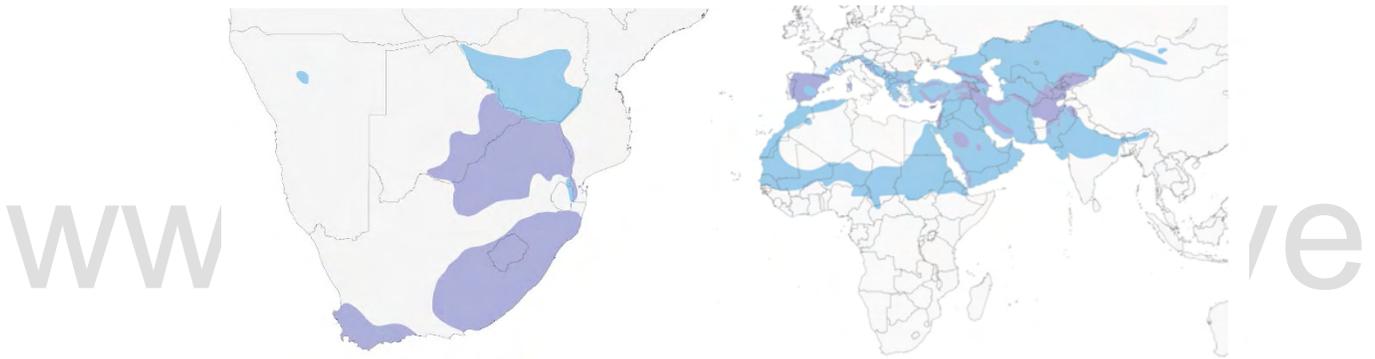


Figura 2. Distribución geográfica de las especies *Gyps coprotheres* (izquierda) y *Gyps fulvus* (derecha) (Hackett, 2022; Kemp et al., 2020a)

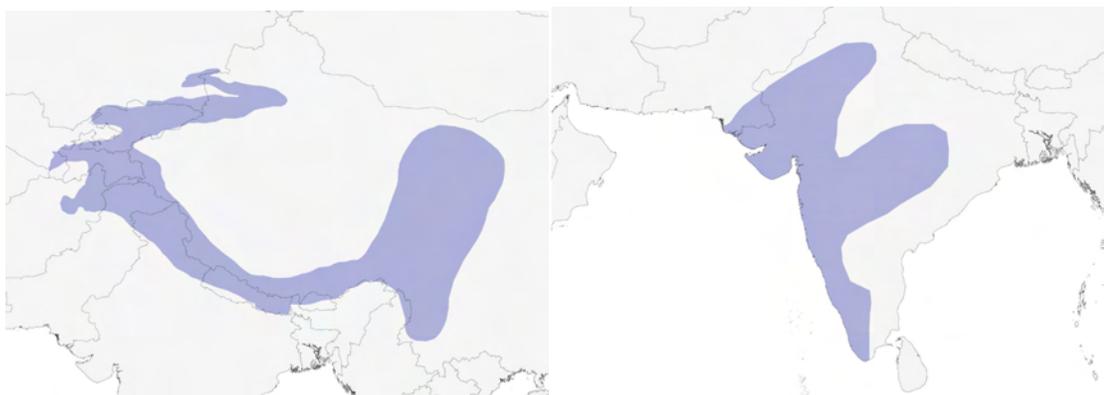


Figura 3. Distribución geográfica de las especies *Gyps himalayensis* (izquierda) y *Gyps indicus* (derecha) (Clark et al., 2020)

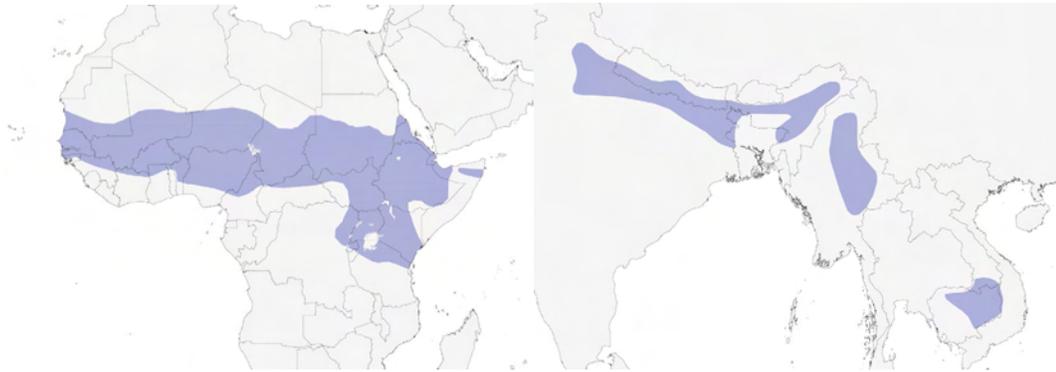


Figura 4. Distribución geográfica de las especies *Gyps rueppelli* (izquierda) y *Gyps tenuirostris* (derecha) (del Hoyo et al., 2020; Kemp et al., 2020b)

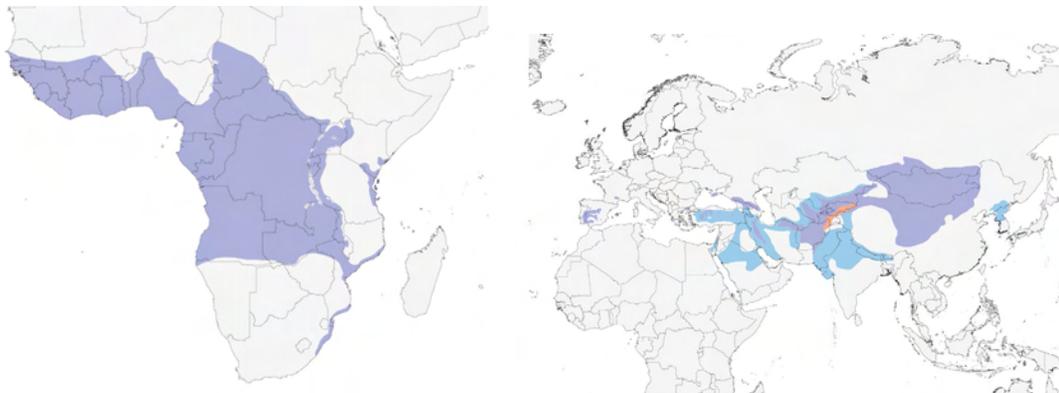


Figura 5. Distribución geográfica de las especies *Gypohierax angolensis* (izquierda) y *Aegyptius monachus* (derecha) (Hackett, 2023; Kemp & Kirwan, 2020)

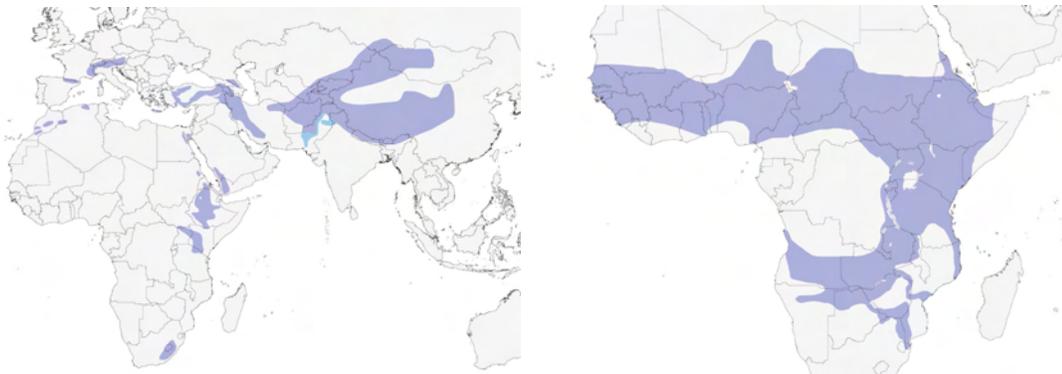


Figura 6. Distribución geográfica de las especies *Gypaetus barbatus* (izquierda) y *Necrosyrtesmonachus* (derecha) (Kemp et al., 2020; Orta, et al., 2020)

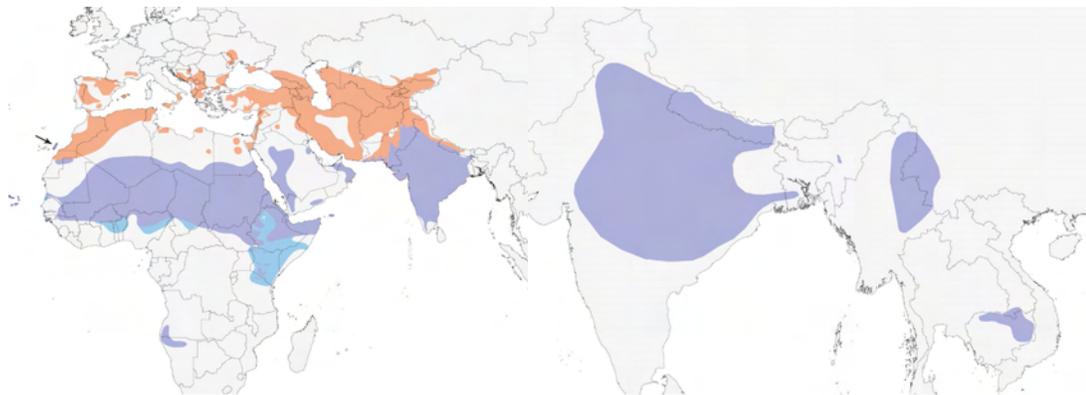


Figura 7. Distribución geográfica de las especies *Neophron percnopterus* (izquierda) y *Sarcogyps calvus* (derecha) (Clark et al., 2020a; Orta et al., 2020)

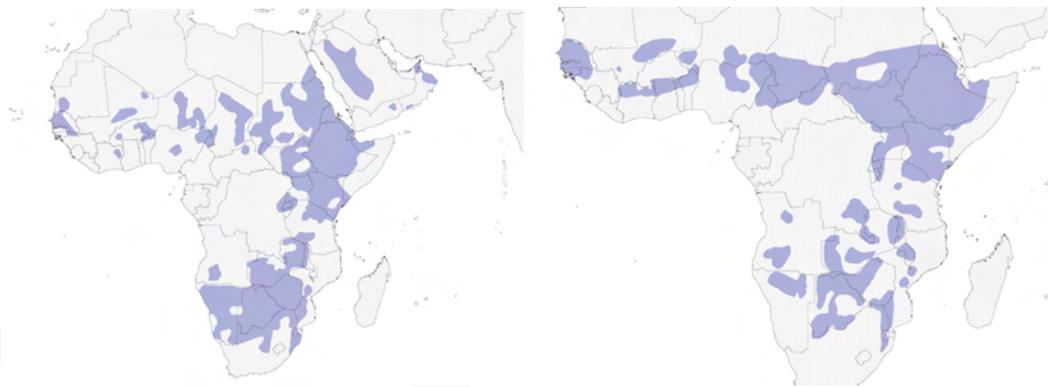


Figura 8. Distribución geográfica de las especies *Torgos tracheliotos* (izquierda) y *Trionoceps occipitalis* (derecha) (Kemp et al., 2020c; Kemp et al., 2020)



Figura 9. Distribución geográfica de las especies *Gymnogyps californianus* (izquierda) y *Sarcoramphus papa* (derecha) (Finkelstein et al., 2020; Holste et al., 2020)

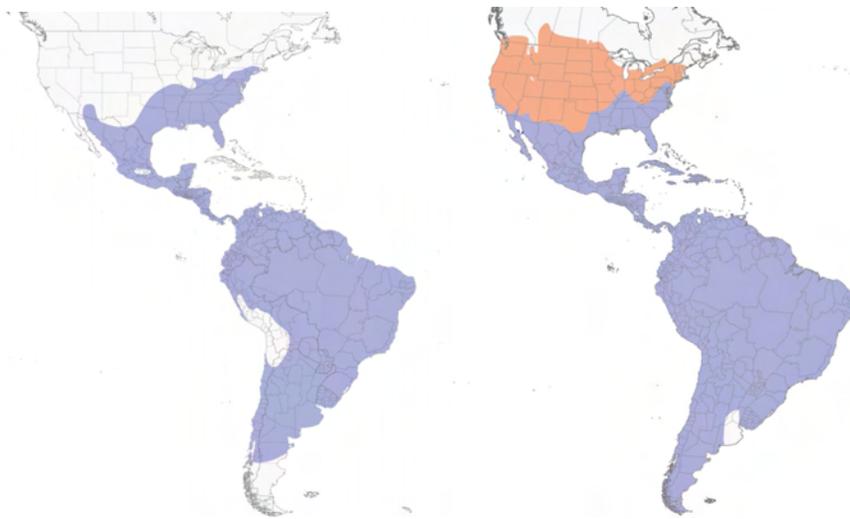


Figura 10. Distribución geográfica de las especies *Coragyps atratus* (izquierda) y *Cathartes aura* (derecha) (Buckley et al., 2022; Kirk & Mossman, 2020)

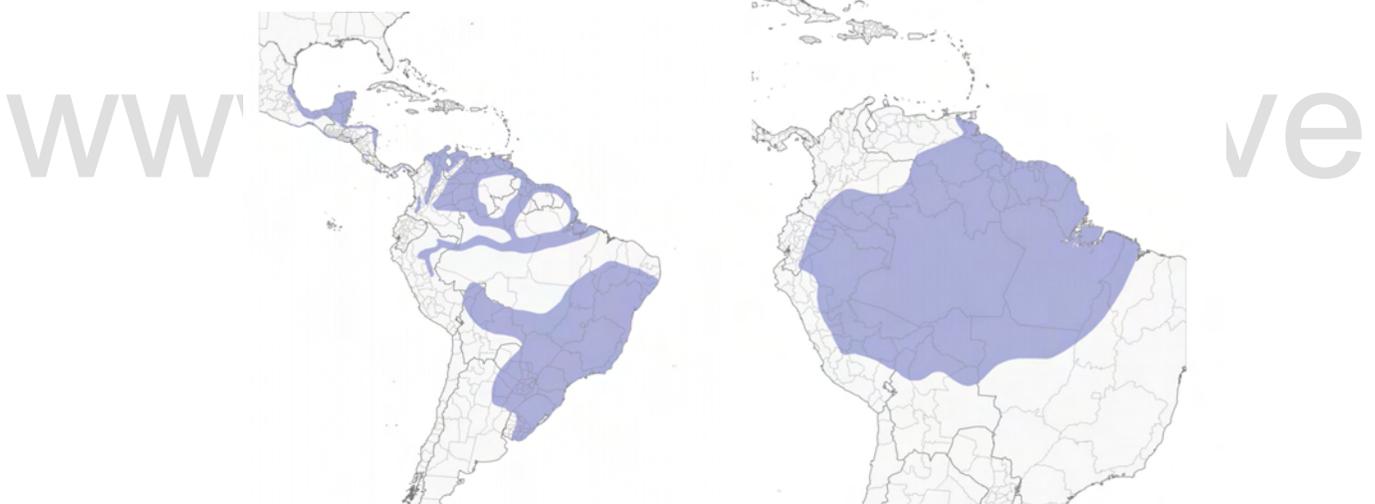


Figura 11. Distribución geográfica de las especies *Cathartes burrovianus* (izquierda) y *Cathartes melambrotus* (derecha) (Eitniear, 2020; Jones, 2020)



Figura 12. Distribución geográfica de la especie *Vultur gryphus* (Houston et al., 2020)

El área de distribución de una especie sugiere la presencia de ésta en un espacio geográfico, pero en los primeros estudios taxonómicos y filogenéticos, la distribución de las especies no era considerada en las comparaciones generadas por los primeros sistemas de clasificación. Aunque Aristóteles y Platón aplicaron un método fundamentado en las características morfológicas más evidentes (Curtis et al., 2008b), la apariencia no era la única particularidad que permitía hacer vinculaciones entre organismos de especies diferentes.

En 1676, Jonh Ray publicó “*The Ornithology of Francis Willughby of Middleton*”, un manuscrito donde fueron descritas e ilustradas las aves conocidas hasta entonces. Según las observaciones efectuadas por Willughby y Ray, todas las especies a las que se denominaba buitres, poseían picos curvos hacia la punta, carácter morfológico que los situó dentro de las aves rapaces carnívoras de magnitud mayor que constituían el conjunto de aves de presas.

Linneo, en la décima edición de su obra *Systema Naturæ* (1758) presentó un listado mejor estructurado de las especies que conformaban, hasta ese momento, el reino animal. Para la clase aves se determinaron seis órdenes distintos, siendo los Accipitres el grupo en el que se organizaron las aves rapaces diurnas y nocturnas. En las cuatro categorías del orden Accipitres descritas por Linneo, los buitres se sitúan en el grupo denominado Vultur, destacando entre las

especies descritas a *Vultur gryphus*, *Vultur papa* y *Vultur aura* como únicos representantes de las aves carroñeras americanas. La descripción de Linneo para estas tres especies se fundamentó en las semejanzas que compartían con otras especies ya conocidas y mejor estudiadas.

Los estudios de Ray y Linneo no evaluaron las relaciones de parentesco entre las especies de aves que conformaban el orden Accipitres y en ambos planteamientos, todas las especies de aves carroñeras estaban reunidas en una sola categoría taxonómica. Sin embargo, el contraste de las características morfológica entre las especies de carroñeros americanos y algunas especies de cigüeñas presentó evidencia que sugería que estos dos conjuntos de aves también poseen similitudes fenotípicas con las que podían ser vinculadas, replanteando el estado taxonómico de los buitres del nuevo mundo.

De acuerdo al registro bibliográfico, los primeros estudios que investigaron y reevaluaron el estado taxonómico de los carroñeros americanos, considerando las relaciones filogenéticas de este grupo particular de aves surgieron a principios del siglo XIX con las investigaciones desarrolladas por Illiger Johann en 1811 y Garrod Archibald en 1874 (Ligon, 1967).

Illiger (1811) fue el primer investigador en separar a los buitres del nuevo mundo de las aves de presa diurnas y proporcionarles un rango taxonómico equivalente a los demás grupos de aves al que denominó Cathartidae. Posteriormente, Garrod (1874) comenzó a descartar las clasificaciones tradicionales que agrupaban a los buitres americanos con los Accipitridae, pues a pesar de que ambos grupos de carroñeros comparten similitudes como la forma del cuello y las patas, una cabeza desprovista de plumas, un juanete elevado, entre otros, tales semejanzas no eran suficientes para mantener a ambos conjuntos de buitres en un mismo grupo. Finley (1906), citado en Ligon (1967) comenzaba a señalar con sus estudios que existían caracteres morfológicos en el área del cráneo que sólo estaban presentes en las especies de los buitres americanos y cigüeñas, sobre lo que destacan: a) los huesos nasales situados en la zona dorsal del hueso maxilar palatino b) los lagrimales fusionados, c) un etmoides delgado y d) los palatinos relativamente cortos y profundos extendiéndose sólo hasta la mitad de la región orbital. Esta nueva evidencia permitió que Garrod y otros investigadores comenzaran a vincular más a los

Cathartidae con las cigüeñas y las garzas, que con las aves de presa. A pesar de esta nueva información, Garrod no separó completamente a los buitres americanos de los Accipitridae, sino que ubicó a ambos grupos de carroñeros en el orden Ciconiiformes de su propio sistema de clasificación descrito en la **Tabla 2**.

Tabla 2. Clasificación de las aves carroñeras (Garrod1873)

Orden: Ciconiiformes
Grupo Pelargi: Cigüeñas
Grupo Cathartidae: Buitres del nuevo mundo
Grupo Herodiones: Garzas
Grupo Steganopodes: Nadadores (Pelícanos)
Grupo Accipitres
Familia Falconidae: Halcones, Gavilanes
Familia Strigidae: Búhos

*Información extraída del trabajo de investigación desarrollado por Sibley & Ahlquist (1990).

Los estudios realizados durante este periodo sugirieron que las aves rapaces de la familia Falconidae también podían estar emparentados con los buitres del nuevo mundo, pero los criterios que se utilizaban para definir a las rapaces no estaban claramente establecidos, y como se observa en la **Tabla 2**, los planteamientos emergentes agruparon a las rapaces diurnas (familia Accipitridae y familia Falconidae) y nocturnas (familia Strigidae) junto con grupos de aves con los que anteriormente no se habían establecido relaciones de parentesco. La discrepancia en los resultados permitió continuar haciendo evaluaciones sobre los carroñeros americanos, y algunos investigadores consideraron a los Cathartidae como descendientes directos de los Pelecaniformes y Ciconiiformes, anteriormente denominados Steganopodes (Ligon, 1967).

El nuevo enfoque de las clasificaciones buscaba determinar cuáles especies estaban más vinculadas con los miembros de la familia Cathartidae, pero los nuevos hallazgos sugerían que los buitres del nuevo mundo compartían características morfológicas con dos grupos de aves

distintos y probablemente dichos rasgos no poseían la misma importancia o ponderación dentro de los análisis que efectuaba cada investigador.

Algunas de las propuestas recopiladas en la investigación efectuada por Sibley y Ahlquist, (1990) ubicaron a todas las aves de presa en el orden Falconiformes. Sin embargo, estudios realizados a mediados del siglo pasado y finales de la década de los 90 presentaron un sistema de clasificación donde tanto los Accipitridae y los Falconidae eran parte del orden de aves neognatas Ciconiiformes, relacionando a ambos grupos de aves carroñeras con las cigüeñas, en concordancia con la clasificación presentada por Garrod en 1873 (Sibley & Ahlquist, 1990).

La inferencia filogenética y las clasificaciones han estado sujetas a la cantidad y calidad de los caracteres morfológicos y funcionales que puedan ser determinados para un individuo o grupo de individuos (Suárez-Díaz & Anaya-Muñoz, 2008). A pesar de los análisis rigurosos entorno a las propiedades visibles y medibles de las especies, los datos recopilados no han generado una resolución convincente sobre la historia evolutiva de los buitres americanos, pero la mayoría de investigaciones posteriores a 1950 han agregado un nuevo elemento de análisis a las metodologías que se venían aplicando anteriormente: los datos moleculares.

Las investigaciones de las últimas décadas han incorporado secuencias genéticas como parte de un nuevo enfoque que reanaliza las relaciones filogenéticas que comparten las diferentes especies que componen los grupos taxonómicos que ya se han identificado y establecido en estudios previos.

La filogenia molecular estudia la afinidad entre especies comparando secuencias homólogas de ADN o proteínas que permitan establecer un grado de semejanza o diferencia para determinar el nivel de parentesco entre las especies y el tiempo de divergencia como resultado de la evolución molecular (Patwardhan et al., 2014). Junto a las herramientas computacionales y los métodos de secuenciación se ha potenciado la capacidad de análisis que se desarrolla en este campo de investigación.

La reevaluación de la clasificación de los vertebrados inició en 1964 mediante ensayos que elaboraron comparaciones empleando el método de ADN-agar, evaluando la secuencia genética de algunos mamíferos y un pez. Para la clase aves, los estudios moleculares comenzaron con las investigaciones de Schultz (1972) y Shields (1975) (Sibley & Ahlquist, 1990) quienes analizaron las secuencias de ADN repetido de seis especies de galliformes y once especies de passeriformes, respectivamente. No obstante, los estudios moleculares no han estado exentos de controversia, debido a que los resultados obtenidos mediante los métodos de análisis actuales suelen confrontar la idea de que las clasificaciones deben expresar tanto la genealogía (filogenia) como los grados de especialización morfológica (Sibley & Ahlquist, 1990).

Las investigaciones filogenéticas que centran sus esfuerzos en precisar las relaciones evolutivas de los carroñeros americanos y del viejo mundo también han realizado ensayos contrastando la bioquímica y caracteres moleculares de este grupo de aves. En algunos de los resultados obtenidos se ha señalado que las semejanzas fenotípicas entre ambos conjuntos de aves es el resultado de procesos de adaptación a nichos ecológicos similares (O'Neal, 2016). Además, se ha determinado que los buitres del nuevo mundo y las cigüeñas no sólo comparten las similitudes en los huesos nasales, los lagrimales, el etmoides y los palatinos, sino que también poseen otro conjunto de particularidades en común como: a) el mecanismo de excreción en las patas para refrescarse, b) la composición de las secreciones de las glándulas uropigiales, c) la anatomía de los músculos de las patas y la pelvis, y d) el color del plumaje (Ligon, 1967; Wink, 1995) favoreciendo los planteamientos que sugieren que podría existir mayor afinidad entre las cigüeñas y los buitres americanos que entre los dos grupos de aves carroñeras.

2. Marco Teórico

La gran mayoría de los estudios que reevalúan las relaciones filogenéticas de las aves, emplean técnicas de análisis como la hibridación del ADN-ADN, genomas mitocondriales completos, diferentes secuencias de exones nucleares, ARN ribosómico e intrones nucleares (Hackett et al., 2008). La disponibilidad de datos moleculares ha permitido contrarrestar la historia evolutiva descritas por los caracteres morfológicos, pero la disponibilidad de más datos no implica que los análisis y resultados sean más efectivos o precisos ya que, aunque ahora se tiene más información sobre las especies de buitres, los resultados de las investigaciones filogenéticas continúan siendo contradictorios y los buitres americanos siguen siendo uno de los órdenes con más reajustes dentro de la clase aves.

2.1 Marcadores moleculares

Para la sistemática molecular, la fuente primaria de la que se extra información relevante sobre algún aspecto biológico que desarrollan las especies que estén siendo estudiadas son los marcadores moleculares.

Los marcadores moleculares son biomoléculas que están asociadas a segmentos de ADN o de aminoácidos que pueden proporcionar información sobre las distintas formas de vida (Chan et al., 2020). Estas moléculas permiten realizar diferentes tipos de ensayos, con los que se puede efectuar distinciones entre los genotipos de especies, construir mapas genéticos, determinar la diversidad o dinámica genética de una población, distinguir taxones o determinar las relaciones de parentesco que comparten un grupo de organismos vivos (Grover & Sharma, 2016; Schlötterer, 2004).

Los marcadores moleculares son considerados herramientas de análisis ampliamente utilizadas y valoradas en diferentes campos de investigación. Si bien, los avances en las técnicas de secuenciación y los métodos de análisis molecular han permitido determinar y desarrollar diversos tipos de marcadores moleculares, la aplicabilidad o el uso de éstos suele estar determinada por: a) el objetivo en el que se centra una investigación, b) la cantidad de ADN

disponible para la investigación, c) los conocimientos técnicos de los investigadores y d) los recursos requeridos para el desarrollo del estudio (Grover & Sharma, 2016).

Para las aves, los análisis filogenéticos han empleado primordialmente dos tipos de marcadores moleculares. Los marcadores de tipo mitocondrial (ADNmt) y los nucleares (ADNn). La utilidad y resolución de cada marcador depende mayormente del grado de variación de la secuencia, algo que puede limitar el análisis entre los niveles taxonómicos y condicionar la elección de los marcadores genéticos (Chan et al., 2020).

2.2 Marcadores mitocondriales y marcadores nucleares

El ADN mitocondrial se ha empleado consecutivamente para inferir el pasado evolutivo demográfico de las poblaciones de especies. Gracias a los métodos de determinación, amplificación y secuenciación se han podido identificar varios marcadores genéticos, sobre los que destacan los genes codificadores de proteínas como: el citocromo b (CYTB), citocromo c oxidasa subunidad I (COXI), la NADH deshidrogenasa (NADH1) e incluso genes de ARN ribosómico (ARNr) como el 12S y 16S (Patwardhan et al., 2014).

Una de las propiedades que posee el ADN mitocondrial es el alto nivel de variación en las secuencias genéticas como resultado de los procesos de rápida evolución. La elevada tasa de mutaciones, la herencia maternal y la falta de recombinación del material genético convierten a los genes mitocondriales en herramientas muy útiles para resolver los niveles taxonómicos de familia y género. Sin embargo, el ADN mitocondrial sólo representa una pequeña porción de todo el genoma que poseen los organismos vivos y para algunos investigadores, los datos de las secuencias mitocondriales representan un único marcador genético. Por lo tanto, a nivel molecular también pueden generarse discordancias entre las historias evolutivas que describan las secuencias genéticas (Kimball et al., 2021; Patwardhan et al., 2014).

El ADN nuclear (ADNn) es un polímero de desoxinucleótidos que se encuentra organizado en cromosomas dentro del núcleo de la célula. Las secuencias de bases contienen y resguardan la información genética que se hereda a la descendencia de todos los organismos vivos (Curtis et al., 2008a; Voet et al., 2007). Así como el ADN mitocondrial, el ADNn también posee regiones codificantes específicas que pueden variar en tamaño o función. Además, no todo el material genético da origen a biomoléculas que operan en los procesos fisiológicos y de desarrollo de las especies.

A diferencia del ADNmt, el ADNn se hereda de ambos progenitores y sufre procesos de recombinación, así que las especies que se encuentran estrechamente relacionadas poseen una composición similar de bases en contraste a especies evolutivamente más distantes, que probablemente muestren una composición de bases distinta. Esto permite emplear los datos moleculares del ADN nuclear para evaluar niveles taxonómicos superiores (Chan et al., 2020; Lehninger, 1985).

El ADN mitocondrial produce primordialmente dos tipos de marcadores moleculares, los genes codificantes de proteínas y los ARNr, mientras que, del ADN nuclear se han identificado una amplia variedad de marcadores como: a) Fragmentos de restricción de longitud de polimorfismo (RFLP) que han permitido analizar variaciones de sustituciones silenciosas de una sola base en la secuencia de reconocimiento de enzimas, b) microsatélites o repetición de secuencias simples (SSR) que son elementos cortos de ADN repetidos en tándem, que al replicarse generan alelos con diferentes unidades de repetición, facilitando la detección de patrones de herencia entre los organismos, c) los polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) que se encuentran en regiones genómicas codificantes y no codificantes, relacionándose en algunos casos con mutaciones que están asociados a enfermedades, entre muchos otros (Grover & Sharma, 2016; Schlötterer, 2004; Voet et al., 2007).

Así como Illiger (1811) y Garrod (1874) plantearon reestructuraciones a la clasificación tradicional de los buitres americanos empleando un nuevo conjunto de características morfológicas que no se habían observado antes, Avise et al. (1994) y Wink (1995) presentaron

nuevas pruebas sobre las relaciones filogenéticas de los carroñeros americanos utilizando, por primera vez para este grupo, secuencias del genoma mitocondrial.

2.3 Filogenia molecular de los buitres americanos con marcadores mitocondriales

Avise et al. (1994) elaboraron un estudio comparativo que empleaba fragmentos de ADN mitocondrial que contenía el 88% de las secuencias nucleotídicas del gen citocromo b (CYTB) de varios ejemplares de ambos conjuntos de buitres, cigüeñas, ibis, pelicanos y otras especies que han sido vinculadas a los carroñeros americanos, incluyendo como grupo externo las secuencias de la especie *Gallus gallus*. Con la información recopilada se hicieron varias pruebas mediante los programas bioinformáticos PAUP, PHYLIP, aplicando modelos como UPGMA, neighbour-joining (N-J) y máxima parsimonia con los que se infirió el grado de parentesco de las especies y se intentó reconstruir los árboles filogenéticos de esta clase de aves.

La investigación de Avise et al. (1994) manejó diferentes métodos filogenéticos para encontrar resultados estadísticos que apoyaran los datos analizados y para que las conclusiones que se obtuvieran no se limitaran a un sólo tipo de enfoque (Figura 13).

Aunque los resultados no fueron completamente concluyentes, los análisis indicaron que al menos el 50% de los árboles consensos obtenidos agruparon a una o varias especies de buitres del nuevo mundo con una especie de cigüeña. Estos árboles contaron con un soporte de nodos externos (por *bootstrap*) que iba de 75 a 98% y en algunos casos, las topologías obtenidas generaron un grupo único en donde se reunían solo los buitres americanos.

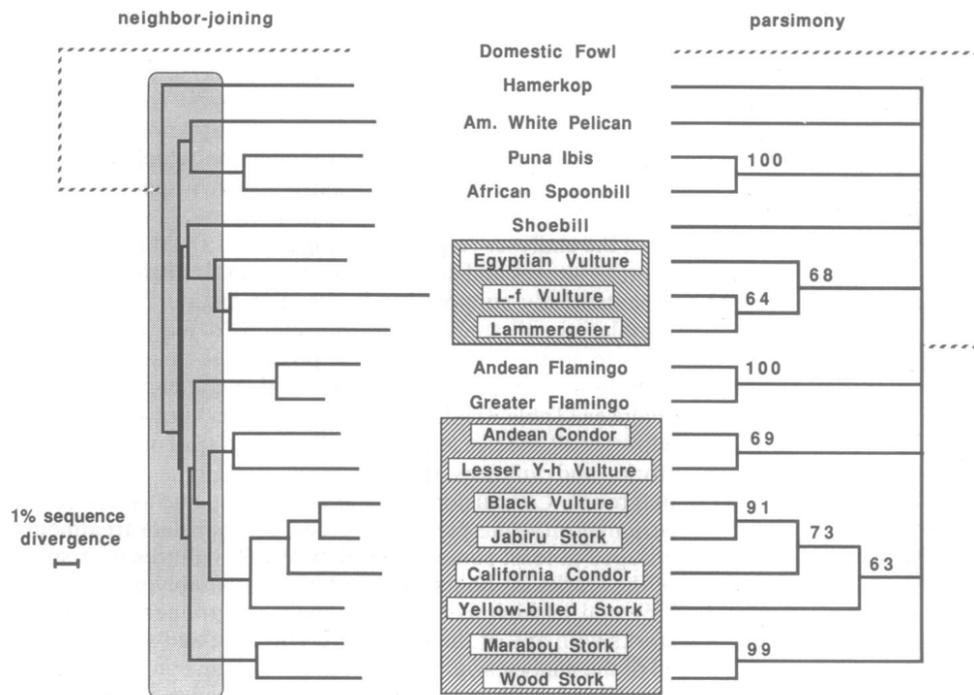


Figura 13. Árboles filogenéticos obtenidos del conjunto de secuencias del gen CYTB en los estudios de Avise et al. (1994).

Wink (1995) evaluó la afinidad entre ambos grupos de aves carroñeras utilizando la secuencia de nucleótidos del gen mitocondrial citocromo b (CYTB) de once buitres del viejo mundo, cinco especies del nuevo mundo y algunas secuencias de ejemplares del orden Ciconiiformes, incluyendo como grupo externo a *Gallus gallus*.

La reconstrucción de los árboles filogenéticos se desarrolló con el método de máxima parsimonia utilizando el programa PAUP 3.1.1, un análisis de neighbour-joining y el grupo de pares no ponderados con medias aritméticas (UPGMA) disponible en el paquete de aplicaciones del programa MEGA.

Los métodos aplicados produjeron resultados muy similares en cuanto a la topología de los árboles, con nodos estrechamente conectados que reúnen las diferentes familias de aves en varios grupos (Figura 14). Los buitres suelen verse organizados en tres clados, agrupando a los

carroñeros americanos en un único conjunto, independiente del resto de las especies de buitres Accipitriformes.

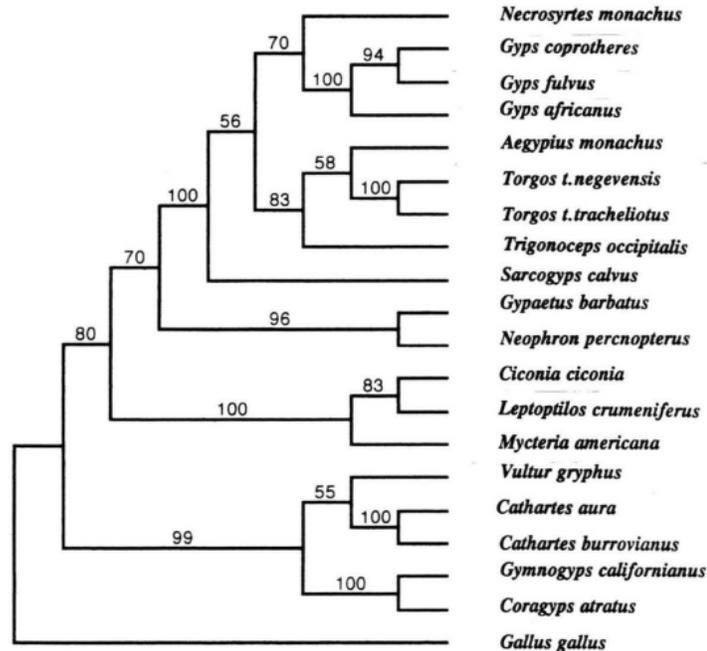


Figura 14. Árbol filogenético consenso obtenido de los datos moleculares del gen CYTB que refleja las relaciones de parentesco entre los grupos de aves estudiados mediante tres métodos de análisis (Wink, 1995)

Aunque los arreglos obtenidos están soportados por altos valores de *bootstrap* (Figura 14) los investigadores consideraron que los datos de las secuencias mitocondriales no eran suficientes para resolver las relaciones filogenéticas entre los grupos de buitres, pero con la información extraída, plantearon la posibilidad de que existe mayor grado de afinidad filogenética entre los buitres de nuevo mundo y las especies de cigüeñas, apoyando la divergencia de ambos grupos de carroñeros y descartando el surgimiento de estas especies a partir de algún ancestro común.

Avise et al. (1994) y Wink (1995) no presentaron resultados concluyentes sobre las relaciones filogenéticas entre los grupos de aves carroñeras y de éstos con las cigüeñas, debido a que consideraban que los datos analizados no eran suficientes para afirmar o desestimar el nivel de afinidad entre los grupos de estudios. Sin embargo, aunque ambas investigaciones emplearon

diferentes metodologías para analizar la información proporcionada por los marcadores moleculares, las topologías de los árboles obtenidos se mostraron similares y en ambos estudios, los buitres americanos quedan separados de los buitres del viejo mundo. Además, la distancia en el tiempo evolutivo pareciera ser menor entre las cigüeñas y los carroñeros Cathartiformes.

Los datos que comenzaron a obtenerse de las investigaciones que evaluaban los caracteres moleculares y las topologías ya establecidas fueron contribuyendo a la resolución de las filogenias existentes; sin embargo, en el caso de los buitres americanos las propuestas filogenéticas no han sido satisfactorias, por lo que las propuestas generadas eran poco fiables sobre los grupos con los que estas aves presuntamente comparten mayor afinidad.

2.4 Filogenia molecular de los buitres americanos con marcadores nucleares

Ericson et al. (2006) estudiaron el conjunto de datos moleculares que fue extraído de cinco regiones genéticas (c-myc (exón 3), RAG-1, mioglobina (intrón 2), β -fibrinógeno (intrón 7) y ornitina descarboxilasa), de 87 especies de neoaves que representaban 75 familias de aves modernas que se encontraban identificadas en la clasificación tradicional. A este conjunto de datos se aplicó un análisis bayesiano que resultó en un árbol filogenético en donde se definían varios clados de neoaves que coincidían con los resultados obtenidos en análisis previamente efectuados. Cuatro de los cinco genes utilizados organizan a todas las aves rapaces, incluidas dos especies de buitres americanos, en el grupo de aves terrestres y arbóreas marcadas en color verde en la Figura 15, señalando que los buitres americanos poseen una clara afinidad con las rapaces, mientras que las cigüeñas estarían vinculadas con los pelícanos (Pelecanidae), garzas (Ardeidae), ibis (Threskiornithidae), pato zapatero (Balaenicipitidae) y el piquituerto (Fringillidae), con quienes constituirían un clado no monofilético definido como el grupo de aves acuáticas y semi-acuáticas resaltadas en azul dentro del árbol filogenético (Figura 15).

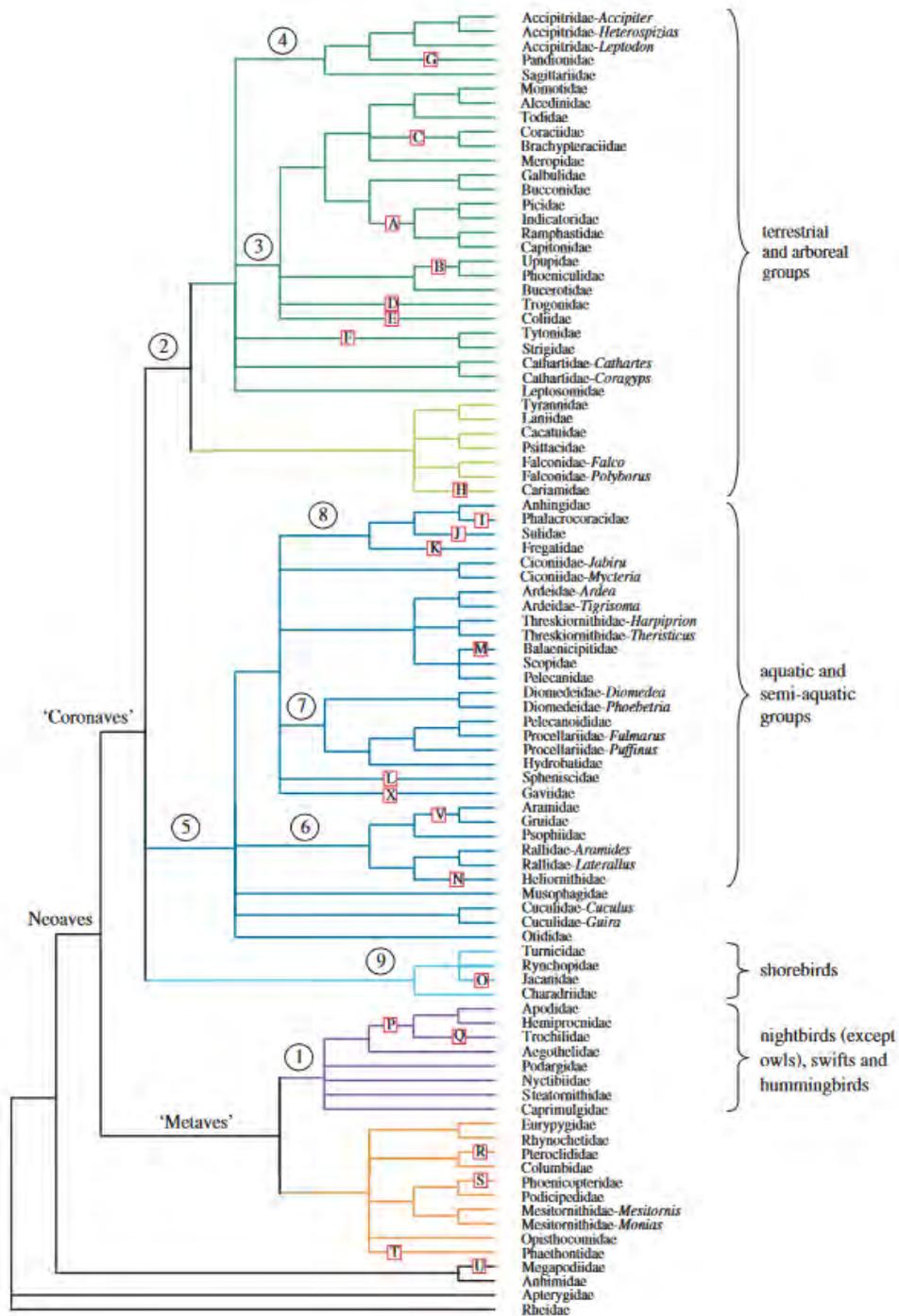


Figura 15. Árbol filogenético inferido con la información de cinco genes nucleares empleando el análisis de bayesiano (Ericson et al., 2006)

La reconstrucción filogenética de Ericson et al. (2006) se enfocaba en evaluar el tiempo y el patrón de divergencia en que habían surgido las Neoaves, sugiriendo que la diversificación

temprana que dio origen a todas las aves modernas se produjo después del Paleoceno. Esta investigación no buscaba determinar las relaciones filogenéticas entre grupos particulares de aves y los esfuerzos investigativos no han resuelto las relaciones entre las ramas más profunda del árbol evolutivo de las aves.

Una hipótesis común sugiere que los datos de los genomas completos de las especies tendrán un mejor apoyo estadístico en la reconstrucción filogenética de las aves. Jarvis et al. (2014) emplearon 45 secuencias de genomas de aves que han sido recopilados o ensamblados para desarrollar un análisis que tuviera especies representantes de todos los órdenes existentes que han sido aceptados en diferentes clasificaciones. Sin embargo, debido a la complejidad de los datos recopilados para este estudio, los recursos para elaborar el análisis informático de los diferentes genomas complicaban la estimación de los árboles filogenéticos, por lo que, los investigadores desarrollaron un programa computacional más eficiente que la herramienta RAxML para concatenar las secuencias a una escala genómica con la que construyeron un árbol genético que reveló una divergencia dentro de las neoaves actuales (Figura 16)

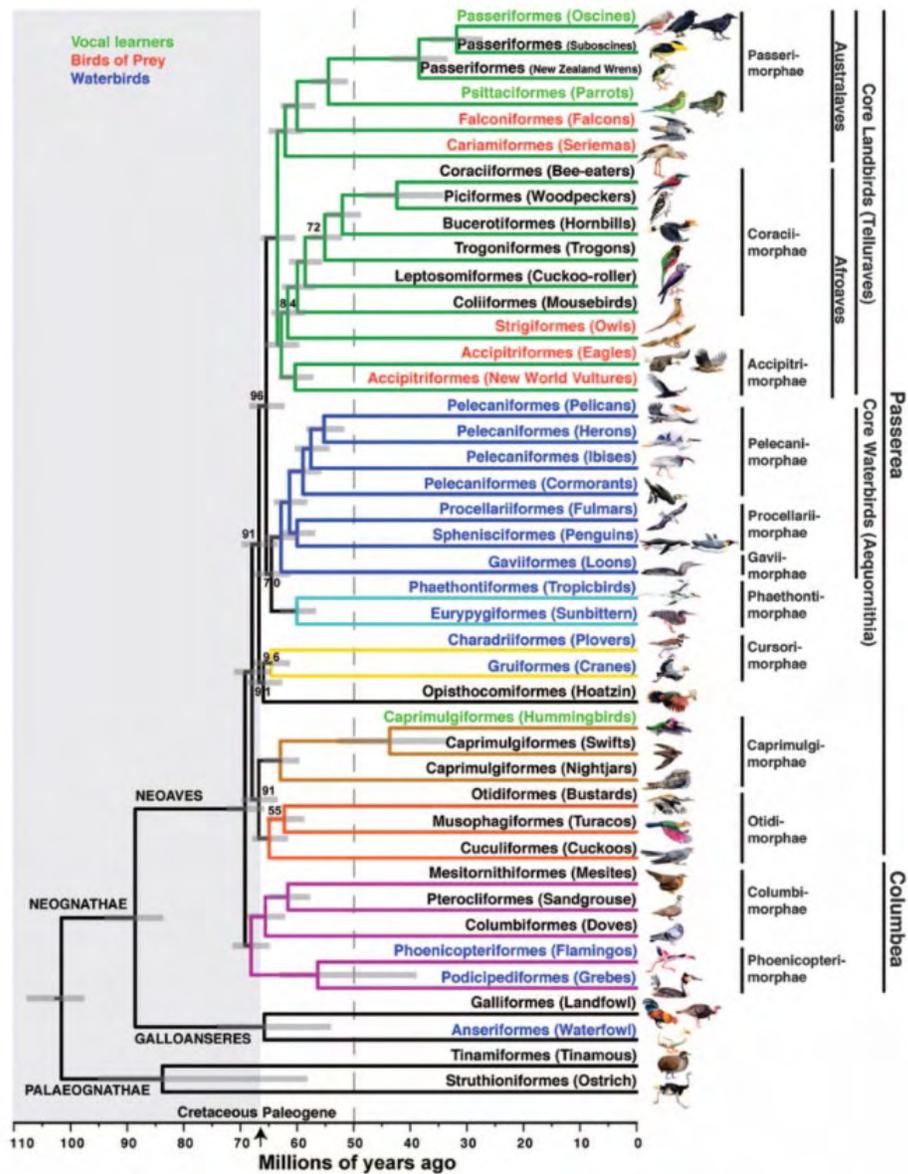


Figura 16. Árbol filogenético desarrollado para 45 especies representativas de todos los órdenes de neoaves, mediante un análisis con ExaML bajo el modelo GTR+GAMMA (Jarvis et al., 2014)

El árbol filogenético obtenido del total de los datos nucleares indica que las neoaves divergen en dos clados hermanos, los Columbiformes y los Passeriformes, ubicando en este último clado al 60% del total de especies existentes. Los Passeriformes a su vez, se subdividen en dos grupos, las aves terrestres y las aves centrales. En el clado de las aves terrestres, señalado en

la topología del árbol de la Figura 16 con líneas verdes, se encuentran contenidos los halcones, seriemas, pájaros carpinteros, búhos y las rapaces Accipitriformes, siendo este último grupo, el taxón que contienen a los buitres del nuevo mundo.

Por su parte, Prum et al. (2015) presentaron un análisis filogenético de 198 especies de aves, tomando como muestra de ensayo 349 loci ubicados en las regiones conservadas de anclaje del genoma nuclear, flanqueadas por zonas más variables con el objetivo de resolver con mayor probabilidad los internodos cortos en la base de las neoaves. Las muestras evaluadas incluían múltiples especies como representantes de grupos cuya monofilia o interrelación filogenética han sido controvertidas, sobre los que se menciona a las cigüeñas, pero no a los buitres del nuevo mundo.

El análisis bayesiano desarrollado en el trabajo de Prum et al. (2015) respaldó muchas de las relaciones filogenéticas propuestas en trabajos anteriores y si bien, concuerda con el planteamiento presentado por Jarvis et al. (2014) sobre el clado de las aves terrestre, define a las aves Accipitriformes como el grupo hermano de un nuevo clado identificado como Telluraves.

El estudio de Prum et al. (2015), (Figura 17) ubicó a los catártidos dentro del orden de los Accipitriformes, apoyando la hipótesis que establece una única relación de parentesco entre ambos conjuntos de aves carroñeras.

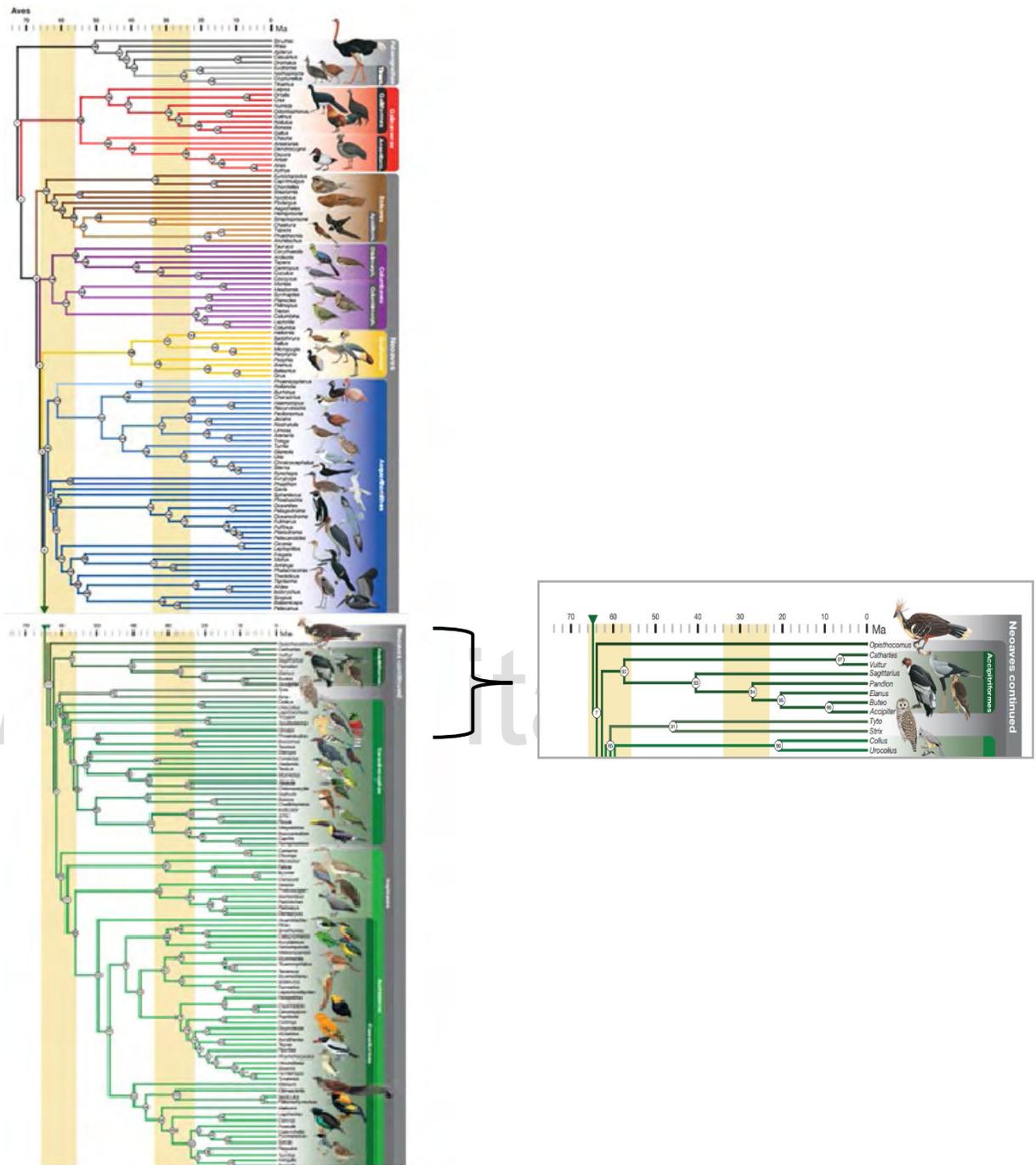


Figura 17. Árbol filogenético inferido para 198 especies de aves existentes que se han clasificado en todos los órdenes y familias establecidos hasta la fecha (Prum et al., 2015)

De acuerdo a los estudios desarrollados por Jarvis et al. (2014) y Prum et al. (2015), los buitres americanos son parte del orden Accipitriformes. Sin embargo, estas investigaciones

emplearon en algunos casos, un solo representante de cada orden o familia para intentar evaluar y precisar las relaciones filogenéticas de todas o casi todas las categorías en que se organizan las especies de aves existentes. La baja representación de especies involucradas en dichos análisis limitaba la resolución filogenética entre las aves que conforman los grupos internos de los órdenes taxonómicos.

2.5 Estado taxonómico y filogenético actual de los buitres americanos

Los rapaces son depredadores claves en casi todos los ecosistemas en que se desenvuelven, y se encuentran distribuidos en todos los continentes, excepto la Antártica. Todas las especies de aves denominadas rapaces o aves de presa constituyen un conjunto no monofilético de tres órdenes taxonómicos donde se han clasificado algunas de las especies de aves terrestres más estudiadas en diversos campos de investigación (Cho et al., 2019).

De acuerdo a las propuestas de clasificación más reciente, la mayoría de las rapaces diurnas se organizan en la familia Accipitridae, que comprende 250 especies, excluyendo de este taxón a *Sagittarius serpentarius* y *Pandion haliaetus* que representan cada uno, una familia (Winkler et al., 2020). Además, no considera a ninguna de las especies de los buitres americanos como parte del orden Accipitriformes, lo cual contradice las propuestas de clasificación planteadas a partir de los resultados obtenidos en los trabajos efectuados por Jarvis et al. (2014) y Prum et al. (2015) en relación al vínculo filogenético que existe entre las aves de presa.

La mayoría de los estudios que han analizados las relaciones filogenéticas de todas las aves, ha empleado comúnmente los datos moleculares de una sola especie de buitre catártido, *Cathartes aura*. La baja representación de especies de este grupo o la poca disponibilidad de datos moleculares de las demás especies de carroñeros americanos ha generado cuestionamiento sobre si los resultados de los estudios que afirman que ambos grupos de buitres pertenecen a un único orden taxonómico son prueba suficiente para descartar la posibilidad de que las similitudes fenotípicas de los carroñeros se deban a un proceso de convergencia evolutiva.

Chung et al. (2015) elaboraron un análisis del genoma completo y transcriptómica de varias especies de aves de la familia Accipitridae y buitres de la familia Cathartidae para identificar las adaptaciones genéticas convergentes que estaban vinculadas al hábito carroñero. Los resultados obtenidos indicaron que posiblemente existen nueve genes seleccionados positivamente (PSG) en las especies de buitres *Aegypius monachus* y *Cathartes aura*. Este conjunto de genes puede desempeñar un papel fundamental en contrarrestar el efecto de patógenos encontrados en la carne consumida por los buitres, complementando las funciones de las secreciones gástricas. Los análisis también identificaron siete genes que operan en las vías de secreción del ácido gástrico, equilibrio de fluidos, regulación de pH y elementos de secuencias genéticas conservadas que poseen una señal de convergencia en tres especies de buitres.

Aunque los datos moleculares empleados en el estudio de Chung et al. (2015) proporcionaron información sobre las adaptaciones genéticas que han permitido a este linaje ocupar con éxito un nicho tan particular y revelaron indicios sobre procesos de selección de genes asociados a respuestas inmunitarias, la información encontrada no fue suficiente para probar la convergencia evolutiva planteada para los buitres Cathartidae y los buitres Accipitridae.

La capacidad de comer carne en descomposición es, probablemente, uno de los aspectos más resaltantes del comportamiento de los buitres. Las investigaciones que han centrado sus análisis en determinar las adaptaciones moleculares que subyacen en los carroñeros plantean que estas especies han evolucionado de manera independiente al menos tres veces en el linaje de las aves (Zou et al., 2021).

La selección positiva sobre los genes que operan en la vía de secreción de los ácidos gástricos, la microbiota intestinal que promueve la descomposición, los microbiomas de la piel facial que proporcionan una protección al ataque de posibles patógenos que se encuentren en la carne y un robusto sistema inmunitario son algunas de las características que se han identificado en los estudios más recientes, pero al parecer, no todas estas adaptaciones están presentes en todas las especies de buitres.

Zou et al. (2021) desarrollaron un estudio comparativo empleando las herramientas JTTF gene model y Accurate Detection of Convergent Amino-Acid Evolution (PCOC) para determinar posibles sustituciones de aminoácidos en la secuencia de genes que estuviera involucrados en procesos de secreción del ácido gástrico y el sistema inmunitario de las especies *Gypshimalayensis*, *Gypaetus barbatus* y *Cathartes aura*. Los modelos de análisis empleados en el estudio determinaron que ciertos genes involucrados en los procesos fisiológicos no estaban presentes en todas las especies de carroñeros estudiados, revelando que algunos genes identificados para las especies de los buitres Accipitridae, están ausentes en los carroñeros Cathartidae, lo cual apoya la hipótesis sobre el origen de estos linajes a partir de un proceso de convergencia evolutiva que involucra procesos de sustitución de aminoácidos en el genoma de las especies de ambos linajes de carroñeros.

Urantówka et al. (2021) realizaron una comparación entre 33 representantes de los Accipitriformes y cinco miembros de Cathartiformes. Tomaron como grupo externo tres especies de Strigiformes para identificar duplicaciones en los mitogenomas de estas especies mediante un enfoque bayesiano y un algoritmo de máxima verosimilitud, con el fin de inferir la afinidad entre ambos grupos de aves. De acuerdo a los resultados de este estudio, el ancestro común que dio origen a los Accipitriformes y Cathartiformes poseía una región genética completamente duplicada donde se encontraban algunos genes como CYTB y ND6. Sin embargo, el proceso de duplicación y reordenamiento de genes había sido previamente señalado para otros grupos aviares, entre ellos los Ciconiiformes y Pelecaniformes, que para este trabajo no fueron tomados en cuenta en la comparación de los genes o regiones de control evaluadas para determinar la filogenia de los buitres.

Aunque la topología del árbol filogenético (Figura 18) obtenido en este análisis no agrupa a los buitres americanos dentro del orden de los Accipitriformes, los resultados sostienen la idea sobre el vínculo filogenético que comparten ambos conjuntos de carroñeros.

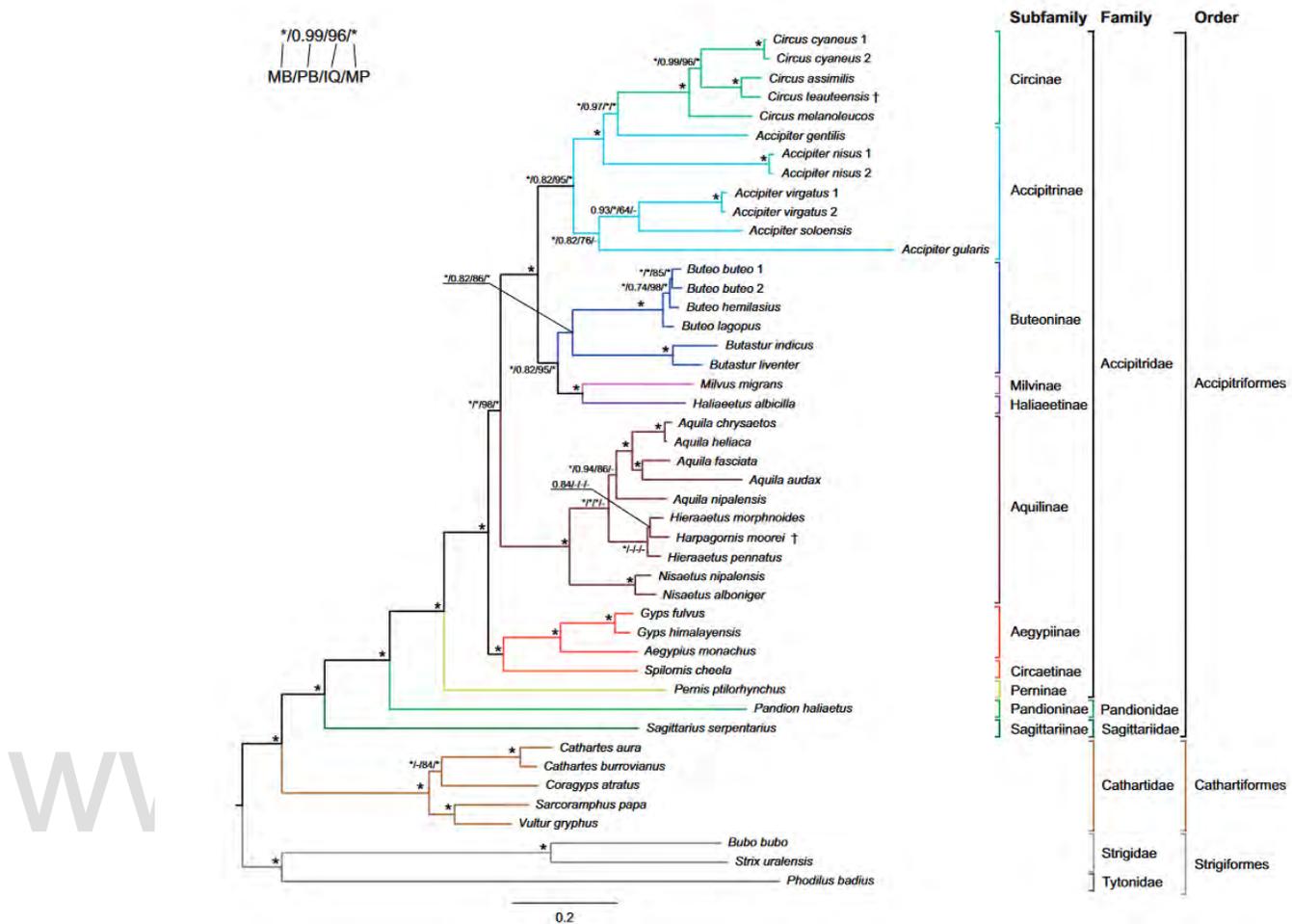


Figura 18. Árbol filogenético que muestra las relaciones entre los Accipitriformes y Cathartiformes inferido con MrBayes durante el análisis molecular efectuado por Urantówka et al. (2021)

A pesar de que se trata de un estudio reciente, las comparaciones entre especies sólo se realizaron entre un grupo limitado de aves y no incluye especies utilizadas en estudios filogenéticos anteriores. Además, no se tienen claras las fuerzas de selección que pudieron haber operado en el reordenamiento de las secuencias.

Los buitres probablemente son el grupo de animales más asociados con el estilo de vida carroñero dentro de los vertebrados; sin embargo, hay genes compartidos entre algunas especies de buitres y los Hyaenidae, lo que sugiere que los mamíferos carroñeros y los buitres podrían compartir algunas adaptaciones moleculares relacionadas al carroñeo (Zou et al., 2021).

El carroñeo, aunque es la forma de vida obligatoria en los buitres, no es exclusivo de este grupo. Existen algunas especies de águilas, cigüeñas o gaviotas que pueden adoptar temporalmente un estilo de vida carroñero (O'Neal, 2016), lo que sugiere que los organismos que poseen este tipo de alimentación tienen de los mecanismos fisiológicos que permiten un consumo efectivo de carne en estado de descomposición.

Así como los Accipitriformes, los Ciconiiformes y Pelecaniformes también han sufrido reestructuraciones de su clasificación. Aunque se consideraba que los Pelecaniformes eran un grupo monofilético a pesar de la diversidad morfológica de las especies que constituyen este orden, estudios recientes han determinado que los nodos más profundos de este clado podrían estar mal resueltos (Gibb et al., 2013), lo que podría explicar la gran heterogeneidad morfológica entre las especies de las familias que constituyen este grupo taxonómico.

De la misma forma que los Cathartiformes, todas las especies de Ciconiiformes se agrupan en una única familia, y aunque son las especies de este grupo taxonómico las que han presentado similitudes morfológicas con los buitres americanos y con las que se han hecho vinculaciones filogenéticas en estudios anteriores, hay investigaciones que consideran algunas especies de pelicanos debido a que anteriormente cuatro de las cinco familias que constituían el orden donde se agrupan las cigüeñas ahora forman parte del orden Pelecaniformes.

Además de las similitudes morfológicas entre las cigüeñas y los buitres descritas en el trabajo de Ligon (1967), es imperativo mencionar que existen especies de Ciconiiformes como *Leptoptilos javanicus*, *Leptoptilos crumenifer*, *Leptoptilos dubius* y *Mycteria americana* que poseen cuellos y cabezas desnudas, una característica conspicua que está presente en todas las aves carroñeras y aunque se ha señalado que las patas de los buitres están mejor adaptadas para el desplazamiento en tierra (Wink, 1995), se considera que los carroñeros americanos poseen patas más débiles en comparación con las patas de los buitres de nuevo mundo y estos últimos parecieran tener una estructura más similar a las patas de las cigüeñas (Figura 19) (O'Neal, 2016).

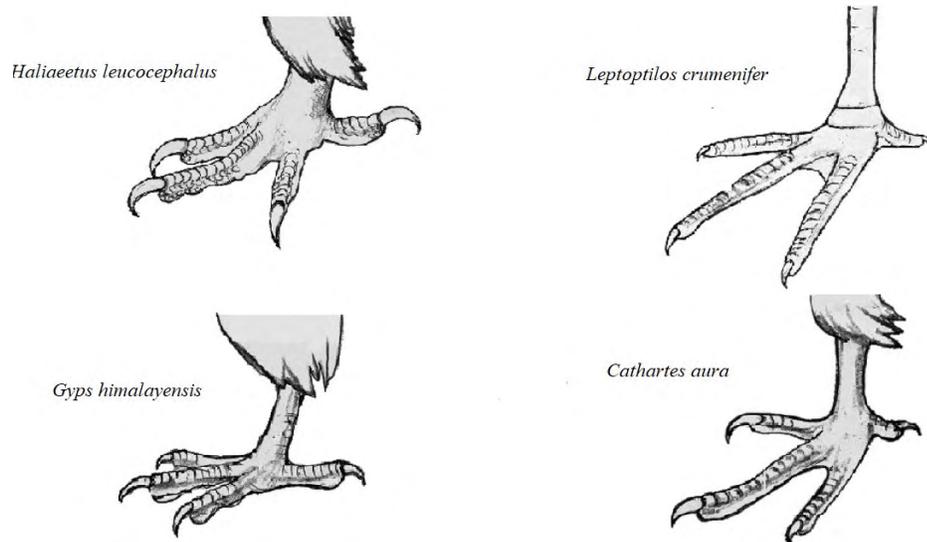


Figura 19. Comparación de la estructura de las patas de un águila, una especie de buitres género *Gyps*, una cigüeña y un buitre del nuevo mundo (O'Neal, 2016)

Si bien la importancia de los caracteres morfológicos sigue siendo determinante para el establecimiento de las relaciones filogenéticas de algunos grupos taxonómicos, los métodos de análisis modernos, además de seguir tomando en cuenta los caracteres morfológicos de las especies, también consideran los caracteres fisiológicos y genéticos para la evaluación de las relaciones filogenéticas de las especies que constituyen los diferentes grupos de organismos. Adicionalmente, aunque el número de caracteres comparables entre especie se ha ampliado, la discrepancia entre los resultados de los estudios taxonómicos y de sistemática persisten dentro de los análisis que evalúan la historia evolutiva de las especies de las aves modernas.

2.6 Clasificación y árboles filogenéticos

En la construcción de árboles filogenéticos con los que puedan definirse grupos taxonómicos, es necesario: a) determinar el carácter con el que se harán las comparaciones, b) identificar las especies que expresan dicho carácter c) el modelo evolutivo con el que analizarán

los datos comparativos, y d) el método de reconstrucción que permita determinar la relación que pueda o no existir entre las especies que poseen dicho carácter (Schneider & Cannarozzi, 2009).

Dentro de los análisis filogenéticos, el establecimiento de una o varias especies que represente el grupo externo puede ser un factor determinante al momento de inferir las relaciones entre potenciales grupos hermanos. El grupo externo generalmente está definido por especies que no están tan estrechamente relacionadas con los grupos internos de un árbol filogenético, pero que pueden ayudar a determinar caracteres ancestrales que pudiera haber poseído el antepasado común de las especies que se evalúan y la distancia de las ramas entre los taxones que se analizan en los estudios filogenéticos (Schneider & Cannarozzi, 2009).

En los estudios filogenéticos de las aves, uno de los grupos externo más empleados son las especies del orden Galliformes debido a que el orden gánico tipo gallina ha prevalecido en los mitogenomas aviares conocidos, y se asumió que era ancestral para todas las Aves denominándolo típico, estándar o común. Por estas razón, recurrentemente se suele definir a las especies de este orden como el grupo externo dentro de varios estudios filogenéticos (Urantówka et al., 2021). Sin embargo, para el análisis de los buitres americanos, algunos de los grupos externos más empleados son los Strigiformes o los Falconiformes que, aunque no se han vinculado con los buitres americanos por similitudes morfológicas, algunas propuestas de clasificación como la de Garrod (1873) los han relacionado al agrupar a las especies de búhos y halcones junto con los buitres americanos y demás rapaces en una única categoría taxonómica.

2.7 Planteamiento del problema

La comparación de caracteres morfológicos, hábitos alimenticios o de comportamiento, mitogenomas y genes relacionados a procesos fisiológicos no ha sido prueba suficiente para determinar las relaciones filogenéticas de los carroñeros americanos con los grupos taxonómicos con los que se han vinculado constantemente. Además, debido a que la evidencia presentada no ha podido determinar el grupo hermano de los buitres del nuevo mundo, aún persiste ciertas

dudas sobre el estado taxonómico y filogenético que existe entre los buitres del nuevo mundo y todas las especies con las que han sido vinculados.

La falta de claridad que se mantiene en torno a las relaciones filogenéticas de los buitres americanos permite continuar analizando la historia evolutiva de este grupo particular de aves, por lo tanto, en esta investigación nos hemos planteado las siguientes preguntas:

- a. ¿Estarán los buitres del nuevo mundo más emparentados con las especies del orden Accipitriformes?
- b. ¿Cuál es el grupo hermano de los Cathartiformes?

3. Hipótesis

Los Cathartiformes poseen una relación filogenética más estrecha con las especies del orden Ciconiiformes que con las aves de los órdenes Accipitriformes, Pelecaniformes o de cualquier otro grupo taxonómico con la que se hayan vinculado anteriormente.

4. Objetivos

4.1 General

Determinar las relaciones filogenéticas que existen entre las especies de los órdenes Cathartiformes, Accipitriformes y Ciconiiformes, utilizando marcadores moleculares.

4.2 Específicos

- 1) Determinar mediante un análisis bioinformático los marcadores moleculares tanto mitocondriales como nucleares que aporten mayor resolución para la reconstrucción de la filogenia de las especies pertenecientes al orden Cathartiformes junto con las especies de aves de los grupos taxonómicos de interés contempladas en el presente estudio.
- 2) Generar árboles filogenéticos que permitan establecer las relaciones de parentesco entre los grupos de aves de estudiadas.

- 3) Determinar el grupo hermano de los Cathartiformes mediante la comparación de los modelos evolutivos utilizados en el análisis.

5. Metodología

5.1 Determinación de los grupos taxonómicos y los marcadores moleculares

5.1.1 Elección de grupos taxonómicos vinculados a los Cathartiformes

Para identificar y seleccionar las secuencias nucleotídicas de marcadores mitocondriales y nucleares que permitieran evaluar correctamente la historia evolutiva de los buitres americanos, se determinó que la información molecular recopilada debía corresponder al mayor número de especies que formaran parte de los órdenes Accipitriformes, Ciconiiformes, Pelecaniformes y Falconiformes donde se clasifican las aves que han sido vinculadas y utilizadas continuamente en los estudios que analizan el estado taxonómico y las relaciones filogenéticas de los Cathartiformes.

5.1.2 Selección de los marcadores moleculares

De acuerdo con los datos moleculares referidos en los estudios previos y la información disponibles en los portales Web consultados, se seleccionaron marcadores mitocondriales y nucleares con secuencias genéticas identificadas para las especies constituyentes de los taxones de aves considerados en la determinación del grupo hermano de los carroñeros americanos.

La identificación de las secuencias de genes homólogos se realizó empleando la herramienta BLAST disponible en los portales Web del National Center for Biotechnology Information (1988) y The UniProt Consortium (2021).

Existen varios programas informáticos que se fundamentan en alguna medida de similitud entre las secuencias que estén depositadas o caracterizadas en grandes bases de datos, para determinar o asignar valores a regiones localmente similares entre dos o más secuencias que puedan estar asociadas a una función específica efectuada por un mismo gen o proteína (Altschul et al., 1990).

Las medidas que definen el grado de similitud entre secuencias genéticas, pueden clasificarse en locales o globales, según el grado de optimización que efectúan los algoritmos que operan en los programas informáticos. Las similitudes locales suelen buscar secuencias relativamente conservadas que pueden compararse con genes parcialmente secuenciados, mientras que las similitudes globales pueden buscar semejanzas de pequeñas secciones de secuencias en grandes tramos del código genético (Altschul et al., 1990).

En la determinación de los marcadores moleculares mitocondriales, se emplearon secuencias de genes que ya se encontraban anotados, curados, identificados y con un estatus de secuencia referencia (RefSeq) en la base de datos del NCBI, extraídos de muestras biológicas como sangre o tejido muscular durante ensayos moleculares de las especies de aves que han sido vinculadas a los buitres americanos y que se encuentran referidas en los trabajos de investigación analizados durante el desarrollo de este estudio.

Las secuencias genéticas escogidas fueron analizadas contra la base de datos de la *nucleotide collections (nr/nt)*, para identificar secuencias de genes mitocondriales en las especies que conforman el orden Accipitriformes, Cathartiformes, Ciconiiformes, Pelecaniformes y Falconiformes que anteriormente no habían sido incluidas en los ensayos filogenéticos.

Del conjunto de secuencias identificadas, se seleccionaron aquellas que mostraron buenos valores en los parámetros de: a) porcentaje de identidad, b) *e-valor*, c) porcentaje sobre la calidad de cobertura de las secuencias identificadas, d) valoración total de la secuencia entre otros. Esto permitió efectuar una buena comparación de las propiedades de los marcadores mitocondriales y

establecer modelos evolutivos con los que se infirió el grado de afinidad entre las especies analizadas durante el estudio.

Por su parte, los marcadores nucleares fueron identificados empleando un procedimiento similar al antes descrito, pero debido a que el conjunto de datos de las secuencias genéticas fueron extraídos de los recursos suplementarios del trabajo filogenético de Prum et al. (2015), se realizó una limpieza de las secuencias nucleotídicas contenidas en estos resultados, para extraer los datos que correspondieran únicamente a las especies de los grupos taxonómicos que han sido vinculados a los carroñeros americanos, descartando las especies de aves que no formaran parte de ninguno de los cinco órdenes que han sido empleados en la reconstrucción filogenética de los buitres.

Las secuencias de nucleótidos de las especies seleccionadas fueron inicialmente identificadas haciendo análisis de BLAST con los datos públicos de la base de datos *whole genomes hot guns contigs* disponible en el NCBI. Posteriormente, para ratificar la identidad de los genes encontrados en este primer análisis, se efectuó una segunda prueba, contrastando las secuencias de los genes nucleares con la información disponible en la base de datos del portal Web Uniprot, usando la misma herramienta bioinformática.

El objetivo de realizar una doble revisión de las secuencias nucleares seleccionadas, era corroborar que la información genética recopilada correspondiera con la identidad de los marcadores seleccionados para el desarrollo del análisis filogenético.

5.1.3 Construcción de una base de datos y tratamiento de las secuencias

Los marcadores moleculares fueron identificados, seleccionados, catalogados y organizados de acuerdo: a) tipo de marcador molecular, b) función y c) calidad y cantidad de secuencias disponibles para la construcción de los árboles filogenéticos, prescindiendo de

aquellos que no contenían suficientes secuencias anotadas y curadas para la gran mayoría de las especies de los grupos taxonómicos evaluados en este estudio.

Con la información de cada marcador molecular seleccionado se elaboró una base de datos local en el programa Excel, donde se identificó: a) el nombre de la especie, b) el seudónimo, c) el orden taxonómico, d) la familia taxonómica, e) la fuente o base de datos de donde se extrajo la información y f) el código de acceso con el que se encuentra identificada cada una de las secuencias descargadas que corresponden a cada marcador molecular.

La base de datos local sirvió para elaborar un registro de la información básica de cada uno de los marcadores y de las especies de cada grupo taxonómico, facilitando la determinación del número total de secuencias identificadas para cada marcador, favoreciendo a su vez, el desarrollo de histogramas en donde se puede apreciar con detalle el número de especies por orden y familia para la determinación individual y consenso de las relaciones filogenéticas de los buitres catártidos con respecto a los demás grupos de aves (Anexo 9.1 Grupos taxonómicos de aves vinculados a los buitres americanos).

Una vez construida la base de datos se procedió a realizar una revisión manual de todas las secuencias que conformaron el conjunto de los marcadores moleculares identificado, empleando la herramienta bioinformática BioEdit (Hall, 2004). Las secuencias de nucleótidos se editaron para corregir los posibles errores de bases ambiguas que estaban presentes en los datos descargados. Las secuencias de todos los genes fueron orientadas en la misma dirección, garantizando de que estuvieran en marco abierto de lectura y así evitando errores en el alineamiento de las secuencias.

Una vez completada la revisión de todas las secuencias, se efectuaron alineamientos múltiples de las secuencias codificantes mediante los programas: MAFFT (Katoh et al., 2002) y MUSCLE (Edgar, 2004) en MEGA-X (Kumar et al., 2018). Los alineamientos obtenidos para cada marcador fueron sometidos a una segunda revisión con el propósito de examinar o reconocer posibles secuencias problemáticas que no hubieran sido identificadas inicialmente y

confirmar que la edición y alineamiento de las secuencias de cada marcador fue ejecutado correctamente.

5.2 Elaboración de árboles filogenéticos y matrices multigénicas

Aunque el conjunto de datos compilado para cada marcador molecular puede y debe evaluarse individualmente para corroborar que dicho carácter reconstruye correctamente la historia evolutiva de las especies estudiadas en los análisis filogenéticos efectuados, las investigaciones modernas suelen inferir las relaciones de parentesco entre los organismos a partir de un conjunto variado de marcadores moleculares, elaborando matrices multigénicas que permiten generar topologías únicas al concatenar la información molecular del mayor número de especies o grupos taxonómicos y potenciar la estimación de las relaciones evolutivas de todos los organismos evaluados.

En este estudio se usó la herramienta Sequence Matrix (Vaidya et al., 2011) para concatenar los datos de diferentes marcadores moleculares en una matriz multigénica que facilitó la lectura de la información genética, evitando la pérdida de información y optimizando la inferencia de una filogenia única sobre un conjunto muy diverso de genes y especies, mostrando una interfaz (Anexo 9.2 Interfaz de la matriz multigénica) en donde se logró apreciar la longitud de las secuencias y las especies con información molecular disponible para cada marcador identificado y seleccionado para el análisis filogenéticos.

Los archivos introducidos en el programa contenían las secuencias ya editadas y los alineamientos de cada marcador molecular en formato FASTA, siguiendo las pautas estipuladas para el uso adecuado del programa, minimizando la posibilidad de generar errores que afectarían los resultados en los nodos de las ramas y la distancia evolutiva en los árboles filogenéticos (Figura 37).

La elaboración de los árboles filogenéticos puede efectuarse mediante diversos programas y herramientas bioinformáticas. Sin embargo, existen algunos modelos que operan mejor de acuerdo a las propiedades que posea el conjunto de datos que requiere ser analizado para determinar las relaciones filogenéticas de un grupo dado de especies. En este sentido, para generar una filogenia consenso a partir de todo el conjunto de marcadores moleculares seleccionados y empleados durante la investigación, fue necesario realizar alineamientos individuales de los marcadores moleculares como paso previo para elaborar matriz multigénicas a partir de las cual se construyeron árboles filogenéticos concatenados y consensos con los que se infirieron las relaciones filogenéticas de todas las especies evaluadas en la investigación.

En este estudio, la construcción individual de los árboles filogenéticos de cada marcador molecular se basó en la herramienta FastTree (Prince et al., 2009) utilizando servidores locales, mientras que la elaboración de los árboles consenso se realizó a partir de las matrices generadas con el programa SequenceMatrix y empleando la herramienta RAxML (Liu et al., 2011) disponible en el servidor del portal Web CIPRES (Miller et al., 2010).

RAxML ha sido el principal método de estimación de máxima verosimilitud (ML) a gran escala que posee una buena precisión estadística en la determinación de filogenias donde se emplean cientos o miles de secuencias para la inferencia de las relaciones filogenéticas entre un conjunto de especies. No obstante, las exigencias computacionales que requiere este programa pueden dificultar la obtención rápida de resultados, teniendo en algunos casos largos tiempos de ejecución cuando se tiene un amplio set de datos (Liu et al., 2011).

El programa FastTree utiliza criterios que reducen la complejidad espacial y temporal al inferir una filogenia. Este programa implementa el método de agrupación de vecinos más cercanos (NJ) para generar perfiles de los nodos internos que constituyen un árbol filogenético, favoreciendo la determinación de la distancia entre las secuencias de dos subárboles. Además emplea combinaciones heurísticas para reducir el número de uniones consideradas, acelerando el cálculo de las distancias entre especies, aminorando el costo computacional y de almacenamiento exigido en otros programas (Prince et al., 2009).

Todos los árboles obtenidos fueron editados con el programa MEGA X (Kumar et al., 2018) y los recursos de edición y ajuste disponibles en el portal Web ITOL Interactive Tree of life (Letunic & Bork, 2021). Los órdenes y familias de aves fueron identificados con colores contrastantes, salvo a las tres familias del orden Pelecaniforme, que, al ser parte de un mismo taxón, se le asignó un patrón de coloración similar para señalar la disposición y comportamiento de estos grupos dentro las topologías obtenidas.

Las especies del orden Accipitriformes fueron identificadas con un azul oscuro, mientras que los miembros de los buitres del orden Cathartiformes y las cigüeñas Ciconiiformes se reseñan en color rojo y naranja respectivamente. Todos los miembros de orden Pelecaniformes se describen con varios tipos de tonalidades verdes, reconociendo a la familia Pelecanidae, Scopidae y Balaenicipitidae con el verde relativamente oscuro, la familia Ardeidae de un verde manzana y la familia Threskiornithidae con el verde más suave. El orden Falconiformes se refleja en morado para facilitar su distinción como grupo externo de los otros taxones.

Todos los árboles filogenéticos cuentan con dos leyendas que señalan el color que identifica a cada grupo taxonómico y los valores de *bootstrap* obtenido en los nodos de las ramas. Adicionalmente, los árboles obtenidos de la matriz mitocondrial, nuclear y concatenada presentan una simbología de imágenes donde se precisa la ubicación de los tres principales grupos de interés dentro de la filogenia inferida. Cada especie contenida en las matrices está descrita con el nombre científico correspondiente.

6. Resultados

6.1 Grupos taxonómicos y marcadores moleculares

La selección de las especies aviares y los marcadores moleculares que se utilizaron, estuvo inicialmente sujeta a la información descrita y empleada en las metodologías de los

estudios filogenéticos consultados durante la revisión bibliográfica y los datos públicos o recursos suplementarios disponibles en dichas investigaciones.

Con la información molecular de las especies que han sido recurrentemente empleadas como modelos de estudios en los análisis filogenéticos que evalúan las relaciones evolutivas de los buitres Cathartiformes (Anexo 9.1), se lograron identificar las secuencias nucleotídicas de un mayor número de aves que correspondieran a los grupos taxonómicos de interés, haciendo más exhaustiva la información molecular de cada taxón y permitiendo determinar con mayor potencia estadística el vínculo entre los distintos órdenes y familias aviares en torno a los buitres americanos.

Aunque este análisis cuenta con información de genes nucleares y mitocondriales (Figura 20 a Figura 23), las especies de cada orden taxonómico cuentan con mayor información correspondiente a las secuencias de los marcadores mitocondriales en contraposición a los datos reportados para los marcadores nucleares.

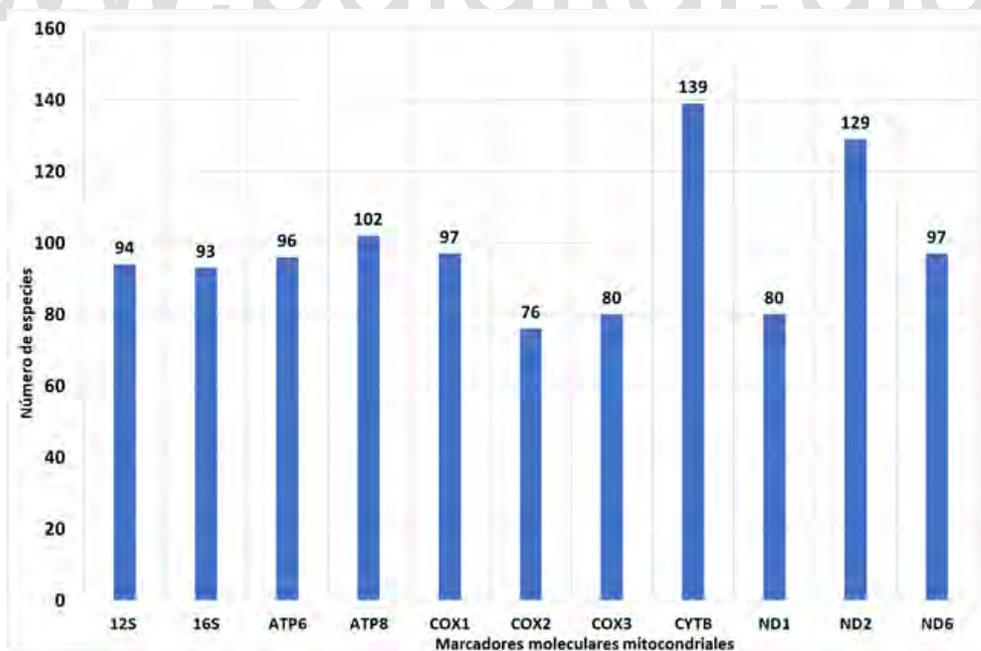


Figura 20. Número de secuencias identificadas para cada marcador mitocondrial empleado en el análisis filogenético para la determinación del grupo hermano de los buitres americanos.

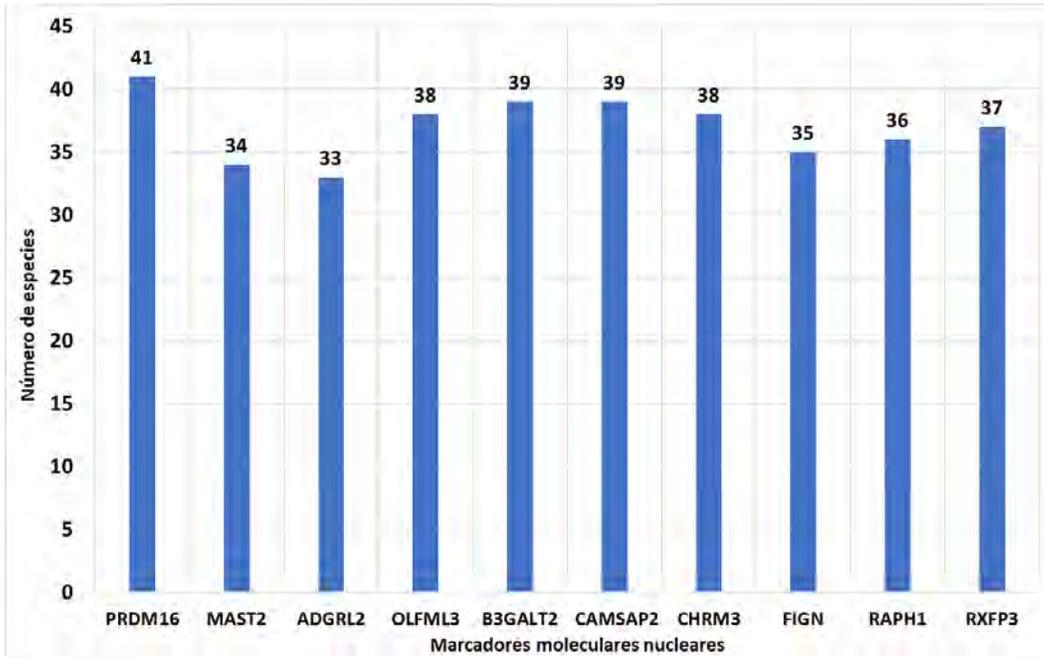


Figura 21. Número de secuencias identificadas para los marcadores nucleares empleados en el análisis filogenético para la determinación del grupo hermano de los buitres americanos.

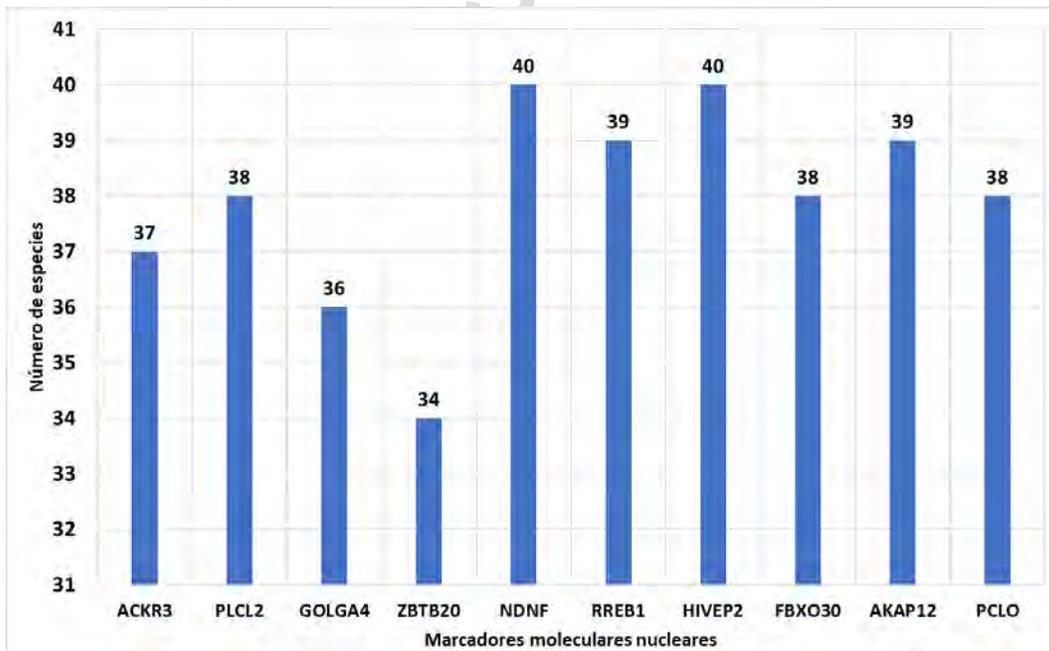


Figura 22. Número de secuencias identificadas para los marcadores nucleares empleados en el análisis filogenético para la determinación del grupo hermano de los buitres americanos.

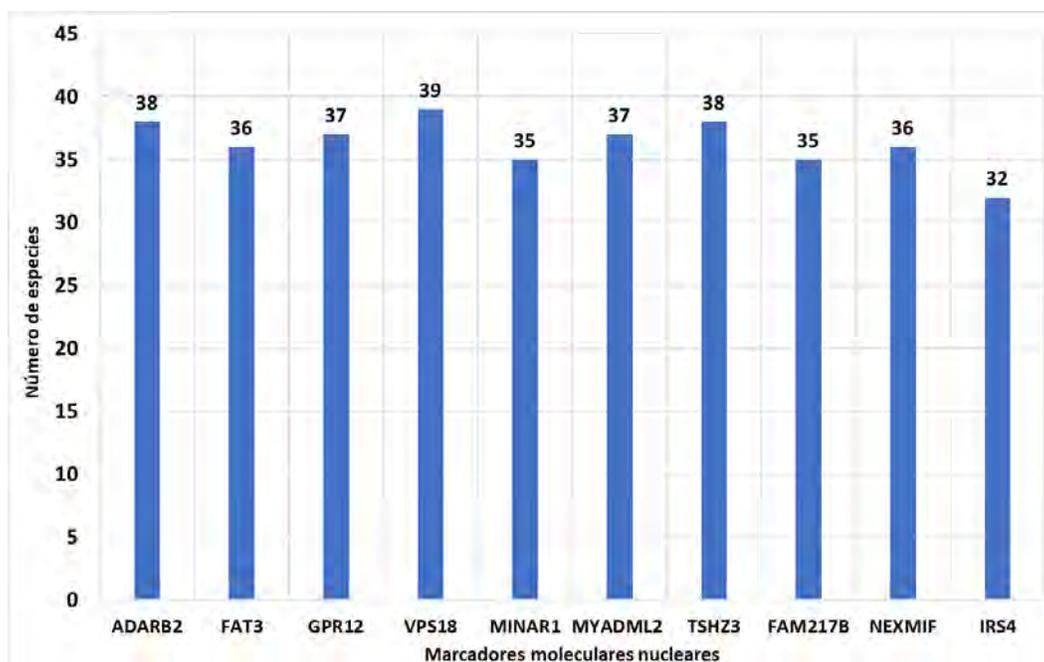


Figura 23. Número de secuencias identificadas para los marcadores nucleares empleados en el análisis filogenético para la determinación del grupo hermano de los buitres americanos.

Los genes nucleares reseñados en los gráficos de las Figura 21, Figura 22 y Figura 23, fueron identificados empleando la información molecular del conjunto de loci utilizados en el estudio de Prum et al., (2015).

A pesar de que la cantidad de secuencias identificadas para este conjunto de marcadores moleculares resultó ser considerablemente inferior en contraste con la cantidad de secuencias determinadas para los marcadores nucleares, cada marcador molecular mitocondrial y nuclear cuenta con información de al menos tres especies representativas de todos los grupos taxonómicos de interés, logrando reunir información de cada taxón, lo que nos permitió elaborar un análisis comparativo con el mayor número de ejemplares aviares de todos los grupos vinculados a los carroñeros Cathartiformes.

Para el conjunto de marcadores nucleares, los genes que poseen el mayor número de especies con información molecular, fueron PRDM16, NDNF, HIVEP2 (Anexo 9.3.2). A diferencia de los marcadores CYTB, ND2 y ATP8 (Anexo 9.3.1). Dichos genes no son ampliamente conocidos y aún están bajo estudio, por lo que la cantidad de aves con secuencias nucleotídicas que coinciden con la identidad de estos y el resto de los marcadores nucleares suele ser inferior a 41 especies.

6.1.1 Especies por orden taxonómico

En la Figura 24 se muestra representado el número de especies los grupos de aves que se han empleado para la inferencia filogenética de los buitres americanos. En las barras azules se reseña, el número total de especies que constituye actualmente cada orden taxonómico según las últimas propuestas filogenéticas. En barras rojas se reseña el número de especies para las que encontraron secuencias que correspondieran a los marcadores nucleares, mientras que las barras verdes reflejan el número de especies con información de secuencias nucleotídicas que corresponde a los marcadores mitocondriales en cada conjunto de aves.

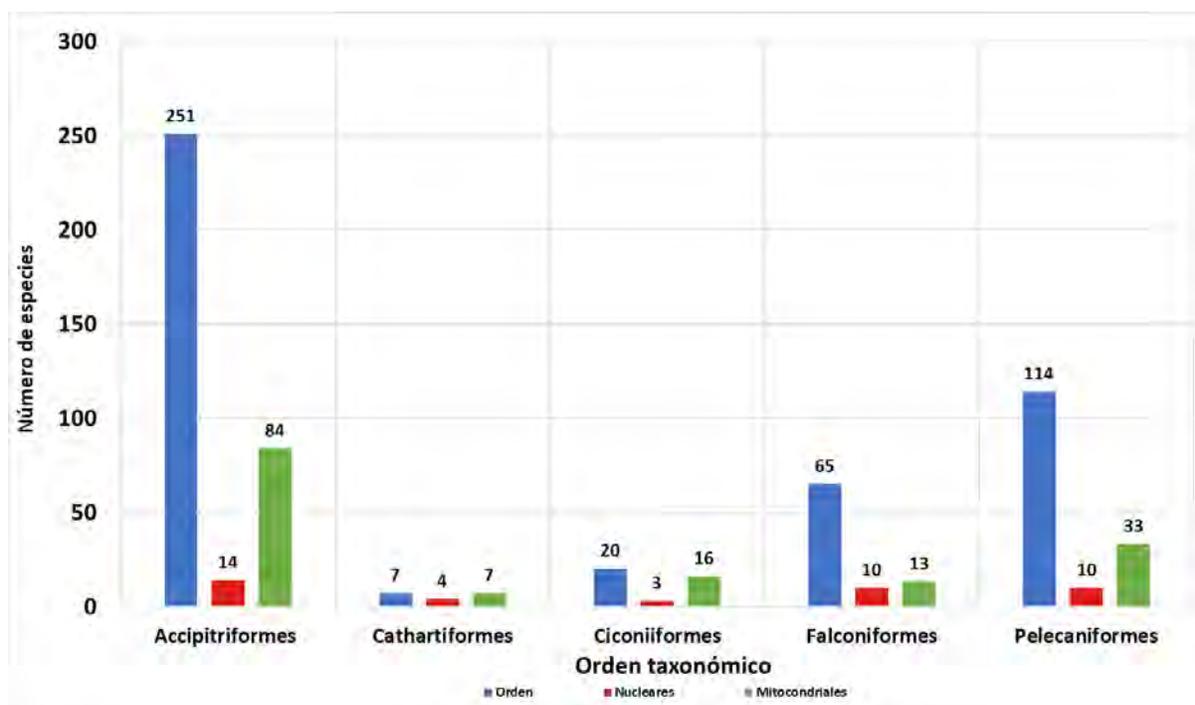


Figura 24. Número de especies por orden taxonómico con información molecular identificadas para ambos conjuntos de marcadores en la base de datos del portal Web del NCBI y Uniprot

De los cinco órdenes aviares, el grupo de los Accipitriformes, es el taxón compuesto por la mayor cantidad de aves. Aunque éste posee el más amplio conjunto de información molecular tanto para los marcadores mitocondriales, como para los marcadores nucleares, la cantidad de secuencias identificadas para el análisis molecular corresponde a 85 especies de rapaces, quienes representan apenas el 34,2% de todas las especies que componen este taxón.

De todos los taxones, el orden Cathartiformes fue el grupo aviar del que se logró obtener información molecular de todas las especies de carroñeros para algunos marcadores moleculares, teniendo una representación del 100% de todo el grupo durante el análisis molecular. Sin embargo, hay que resaltar que este es el único grupo compuesto por un número muy reducido de especies, que además poseen una zona de distribución restringida, lo que podría haber facilitado la identificación de secuencias nucleotídicas en estudios previos, en contraposición a las especies de los demás taxones.

De los órdenes Ciconiiformes y Pelecaniformes se identificaron secuencias nucleotídicas de 16 y 33 especies respectivamente, lo que comprende al 80% y 29% de todas las especies que constituyen a cada grupo. Así como los Cathartiformes, los Ciconiiformes se componen de una sola familia taxonómica y la riqueza de aves que constituye este grupo es más reducida en contraposición a la cantidad de especies que conforman el orden Pelecaniformes.

El grupo externo, los Falconiformes comprende 65 especies, sin embargo, para este análisis sólo se lograron identificar secuencias de 13 especies (20%), siendo la mayoría de las aves con información molecular disponibles en las bases de datos, especies del género *Falco*.

6.1.2 Especies por familia taxonómica

Cada orden taxonómico, puede estar compuesto de varias familias, en las que se organizan las especies de un grupo particular de organismos, según un conjunto de características específicas. Debido a que los grupos empleados en este estudio han sufrido reestructuraciones en su clasificación interna, las secuencias genéticas de los marcadores mitocondriales y nucleares fueron organizadas siguiendo la composición estructural de las familias que conforman cada orden de aves.

De los cinco órdenes taxonómicos, sólo los Accipitriformes y Pelecaniformes se subclasifican en varias familias. En este análisis, la información de las secuencias genéticas identificadas para las aves del orden Accipitriformes corresponde únicamente a la familia Accipitridae. Para el grupo de los pelícanos, se encontraron secuencias genéticas de varias especies que incluyen a *Scopus umbretta* y *Belaeniceps rex* quienes representan individualmente, una familia taxonómica de las cinco que componen al orden Pelecaniformes.

Los datos descritos en las Figura 25, Figura 26, Figura 27, Figura 28, Figura 29, Figura 30 y Figura 31 señalan el número de especies con secuencias identificadas para cada marcador molecular por cada familia taxonómica, la descripción de grupos en estos gráficos, emplea el código de colores definido para los árboles filogenéticos en la metodología con el propósito de

facilitar la lectura e interpretación de las relaciones filogenéticas entre los grupos aviares dentro de las topologías logradas en las filogenias para comprender los niveles de afinidad entre las especies de cada orden.

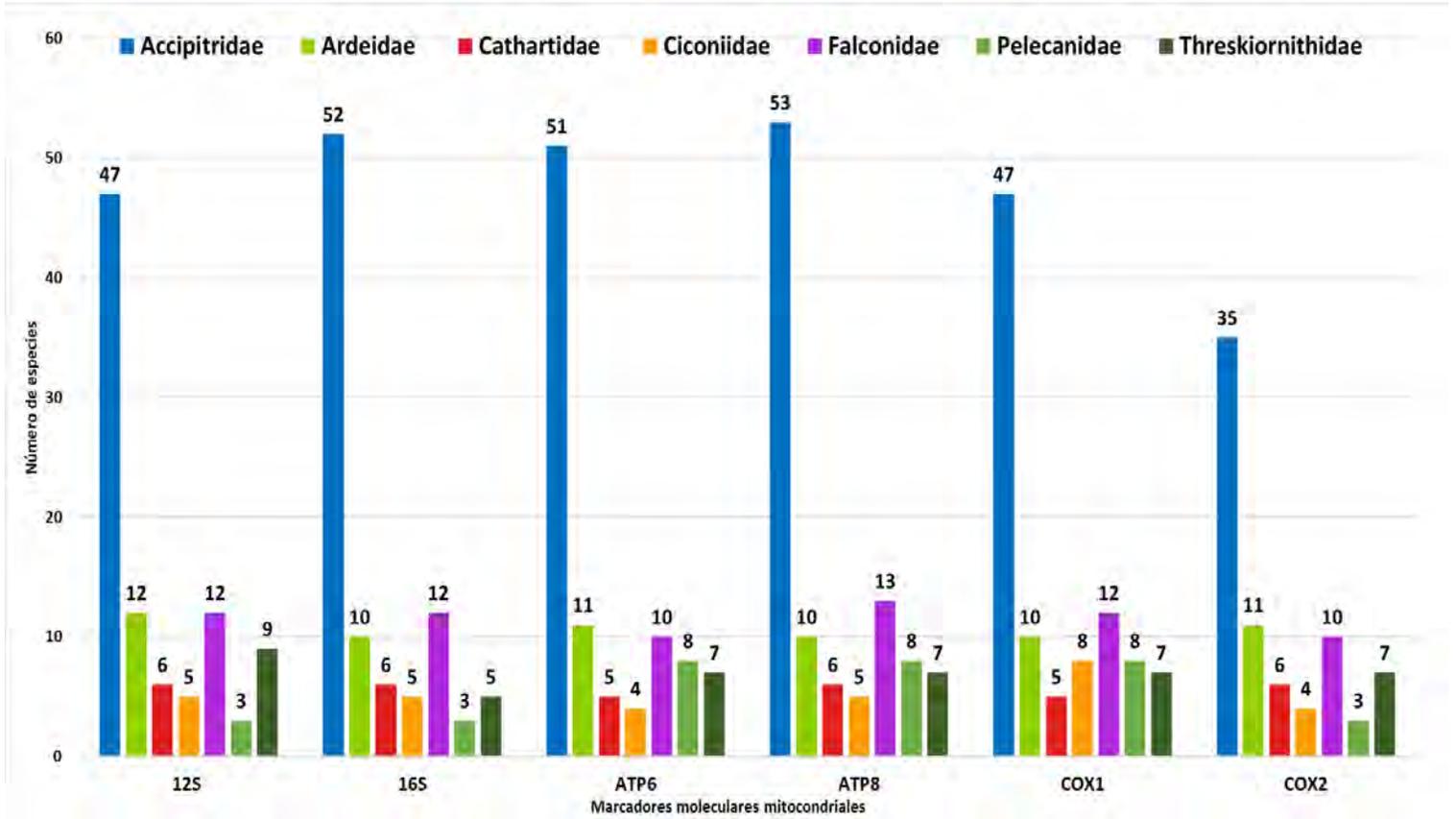


Figura 25. Número de especies con secuencias correspondientes a los marcadores mitocondriales por familia taxonómica.

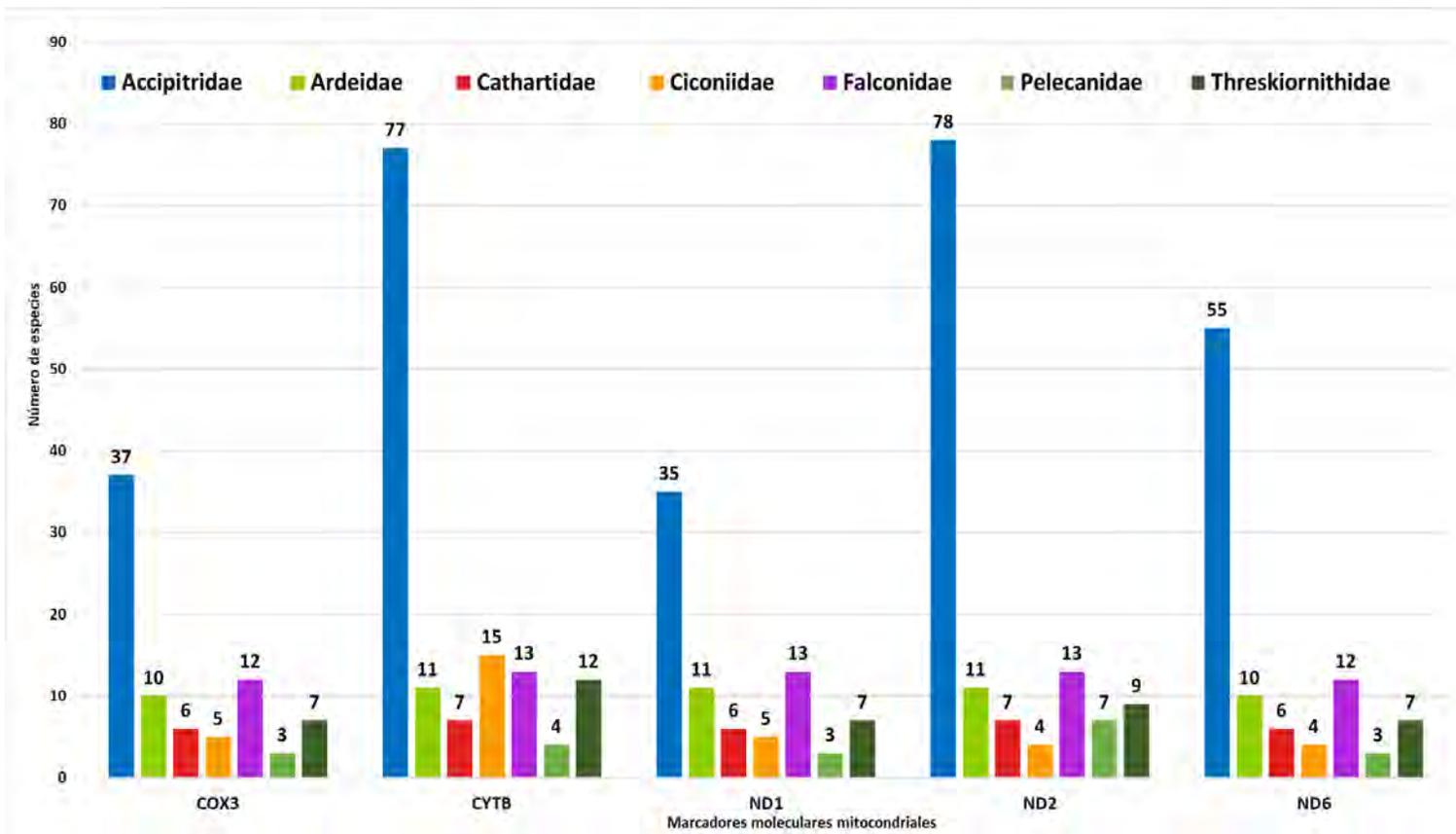


Figura 26. Número de especies con secuencias correspondientes a los marcadores mitocondriales por familia taxonómica.

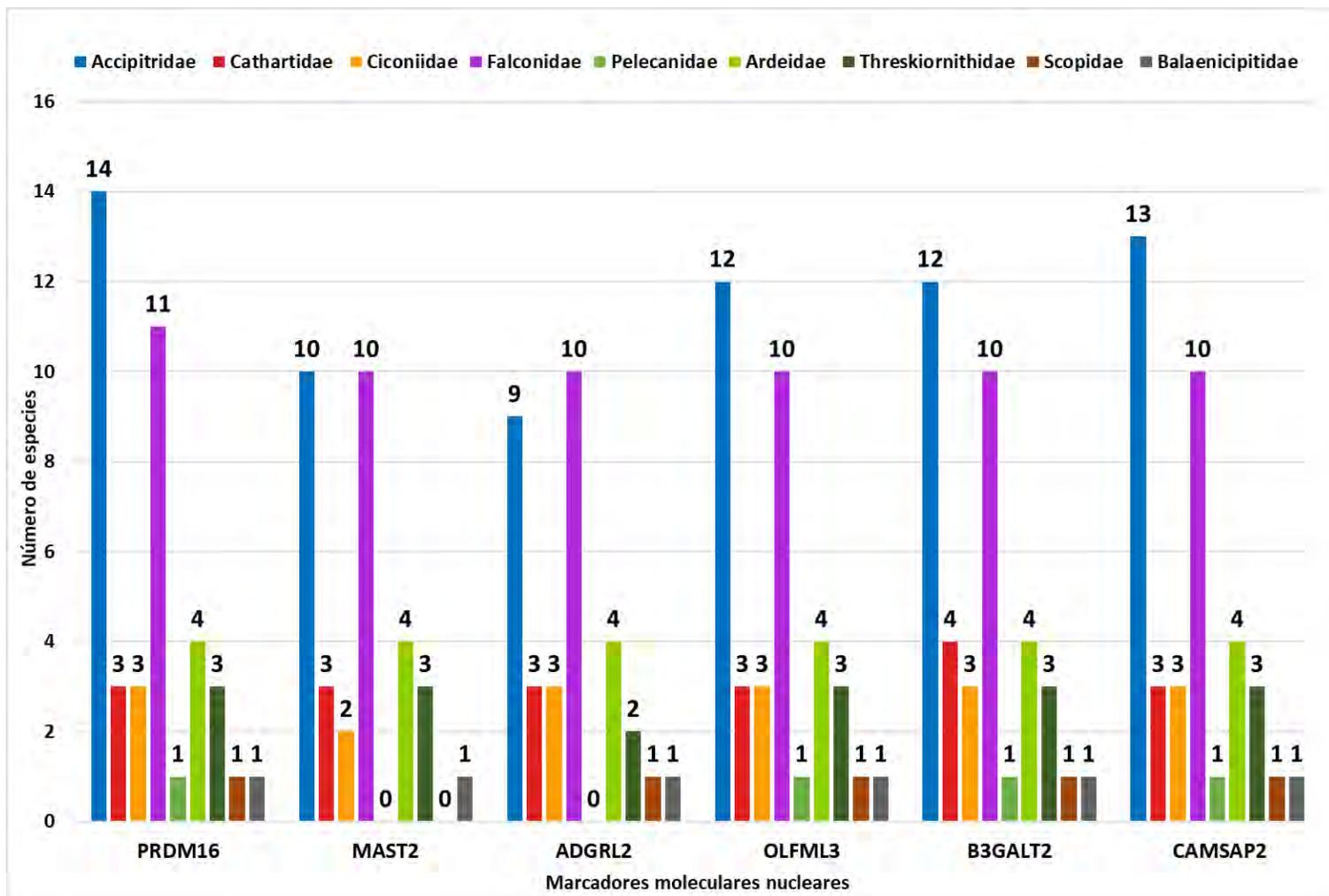


Figura 27. Número de especies con secuencias correspondientes a los marcadores nucleares por familia taxonómica.

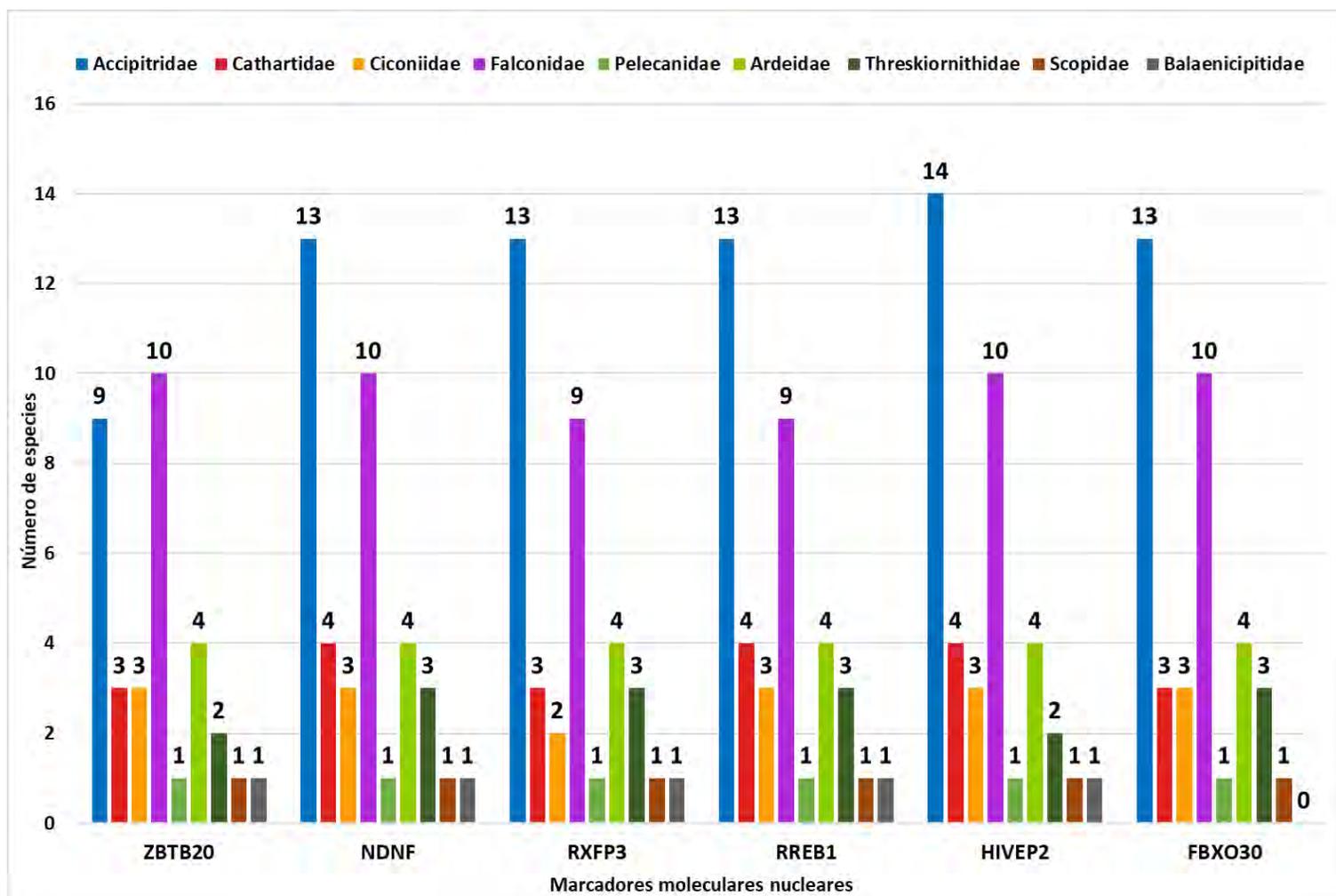


Figura 28. Número de especies con secuencias correspondientes a los marcadores nucleares por familia taxonómica

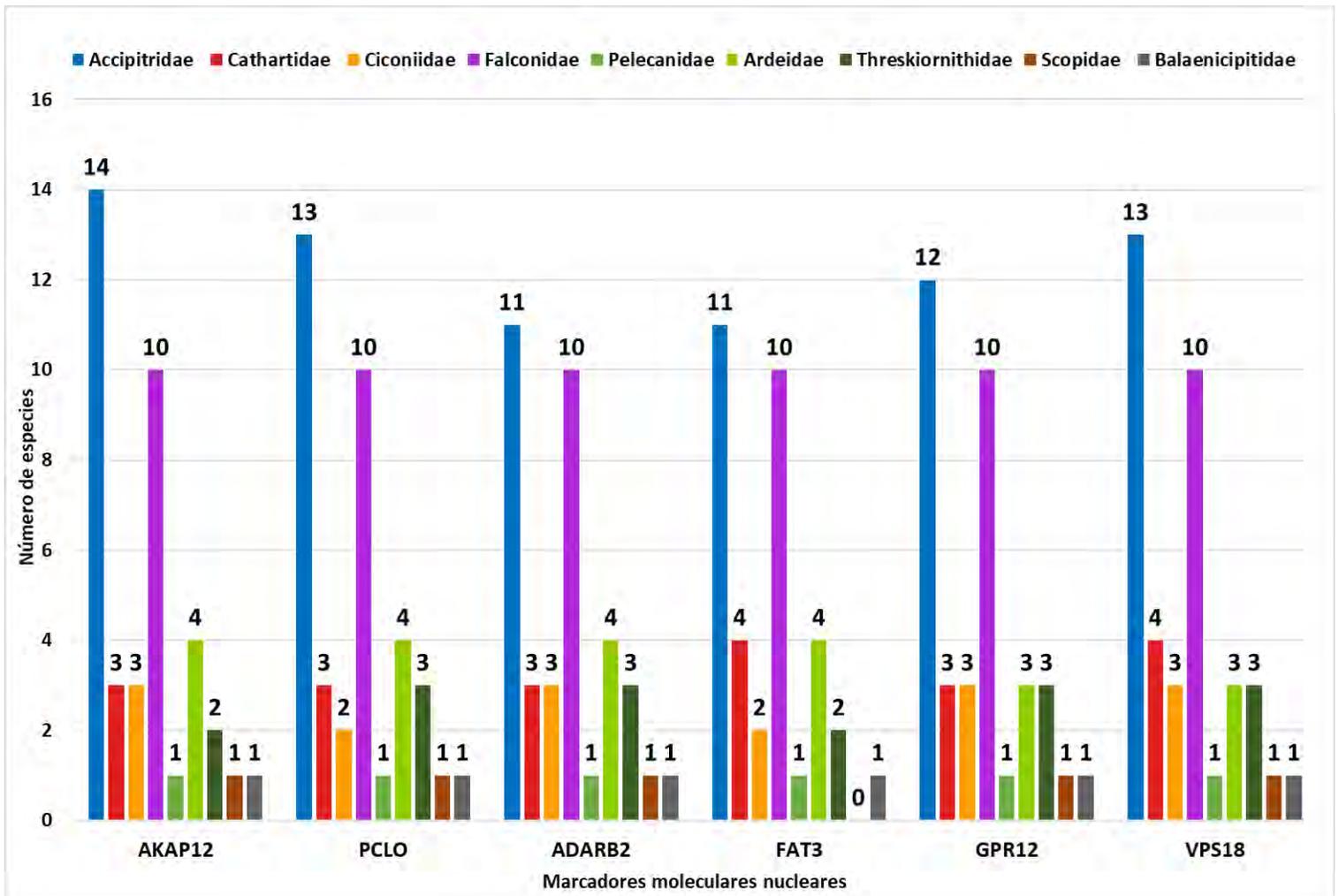


Figura 29. Número de especies con secuencias correspondientes a los marcadores nucleares por familia taxonómica

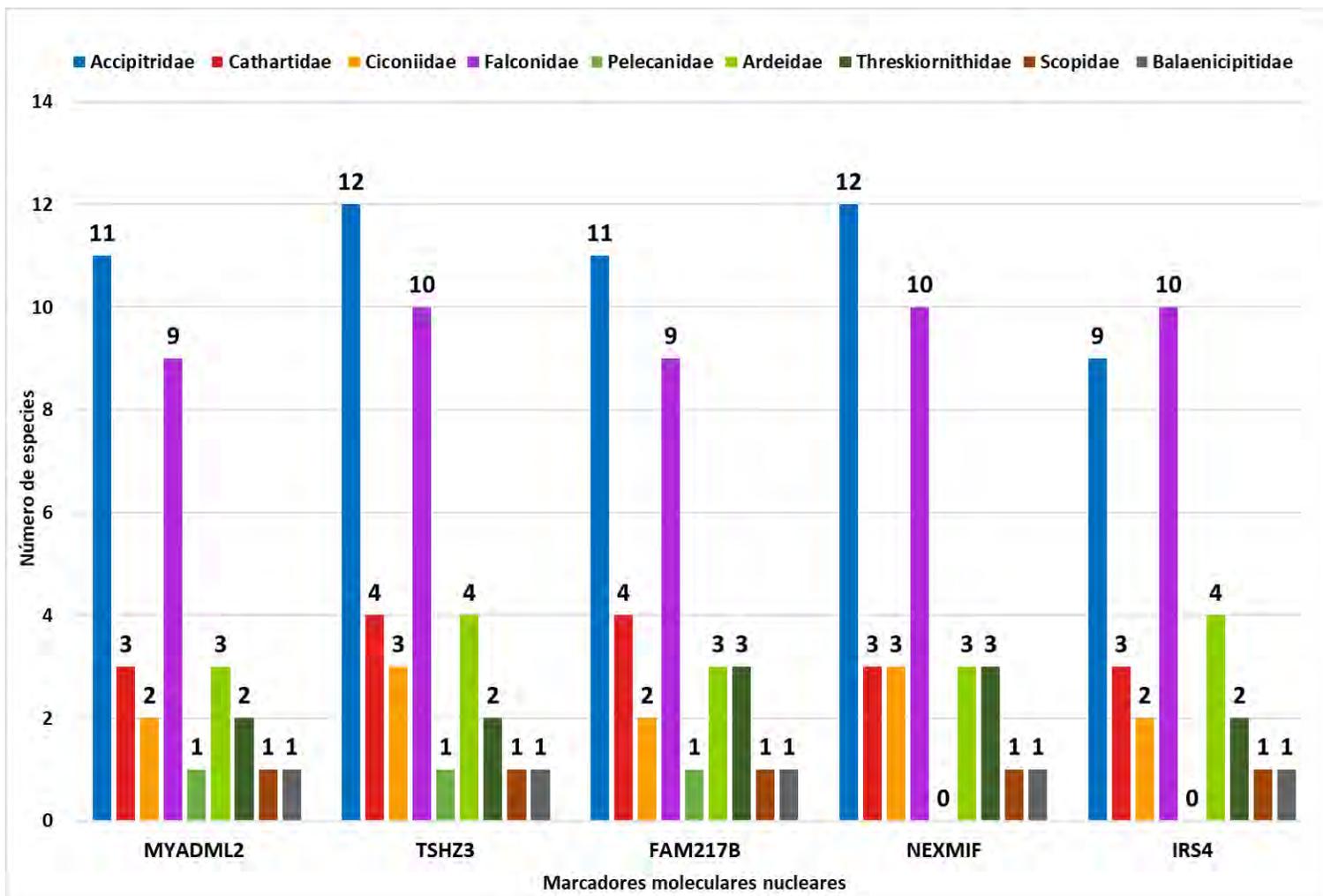


Figura 30. Número de especies con secuencias correspondientes a los marcadores nucleares por familia taxonómica

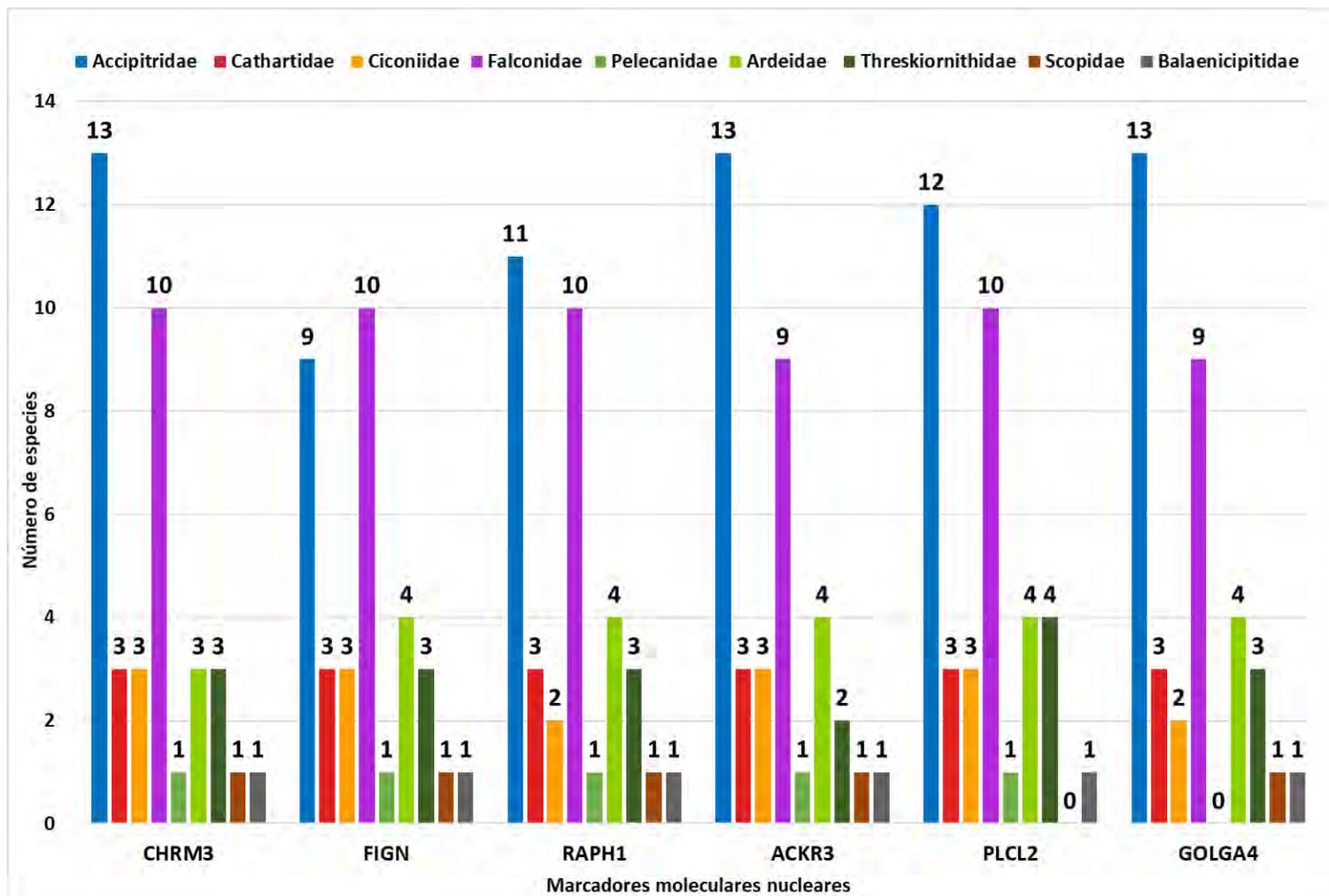


Figura 31. Número de especies con secuencias correspondientes a los marcadores nucleares por familia taxonómica

Las gráficas de las Figura 27, Figura 28, Figura 29, Figura 30 y Figura 31 representan a las especies *Scopus umbretta* y *Belaeniceps rex* de las familias Scopidae y Balaenicipitidae, respectivamente, en tonos marrón y grisáceo para resaltar la presencia de estas aves dentro del conjunto de datos descritos en las gráficas. Sin embargo, debido a que estas especies sólo poseen información de secuencias nucleares, en los árboles filogenéticos, estos ejemplares fueron detallados en el mismo tono verde con que se señalan a los miembros de la familia Pelecanidae, para así lograr reconocer si dichas especies se agrupan junto a diferentes familias del orden Pelecaniformes.

La información de *Scopus umbretta* y *Belaeniceps rex* utilizada en el análisis filogenético corresponde a los datos públicos de la investigación de Prum et al. (2015). A pesar de que se intentó obtener información de estas especies para el resto de los marcadores moleculares, la cantidad y calidad de las secuencias era muy baja. Por ello, sólo se consideró dejar las secuencias que ya habían sido trabajadas y anotadas en estudios previos, para evitar afectar la resolución de los árboles filogenéticos generados por los modelos bioinformáticos.

6.2 Árboles filogenéticos

6.2.1 Árboles consenso de partida

Para corroborar la calidad de las secuencias moleculares de los marcadores mitocondriales y nucleares, se efectuaron análisis individuales de cada marcador para posteriormente elaborar matrices multigénicas con aquellos genes que reconstruyeran correctamente las filogenias de las especies aviares y así construir los árboles filogenéticos con el mayor conjunto de datos.

Adicionalmente, se elaboraron árboles de partida donde se excluyeron los datos moleculares de los Cathartiformes (Figura 32 y Figura 33) con el objetivo de precisar la afinidad de las especies dentro de cada familia aviar y evaluar la distribución de estos grupos dentro de los taxones en los que han sido clasificadas.

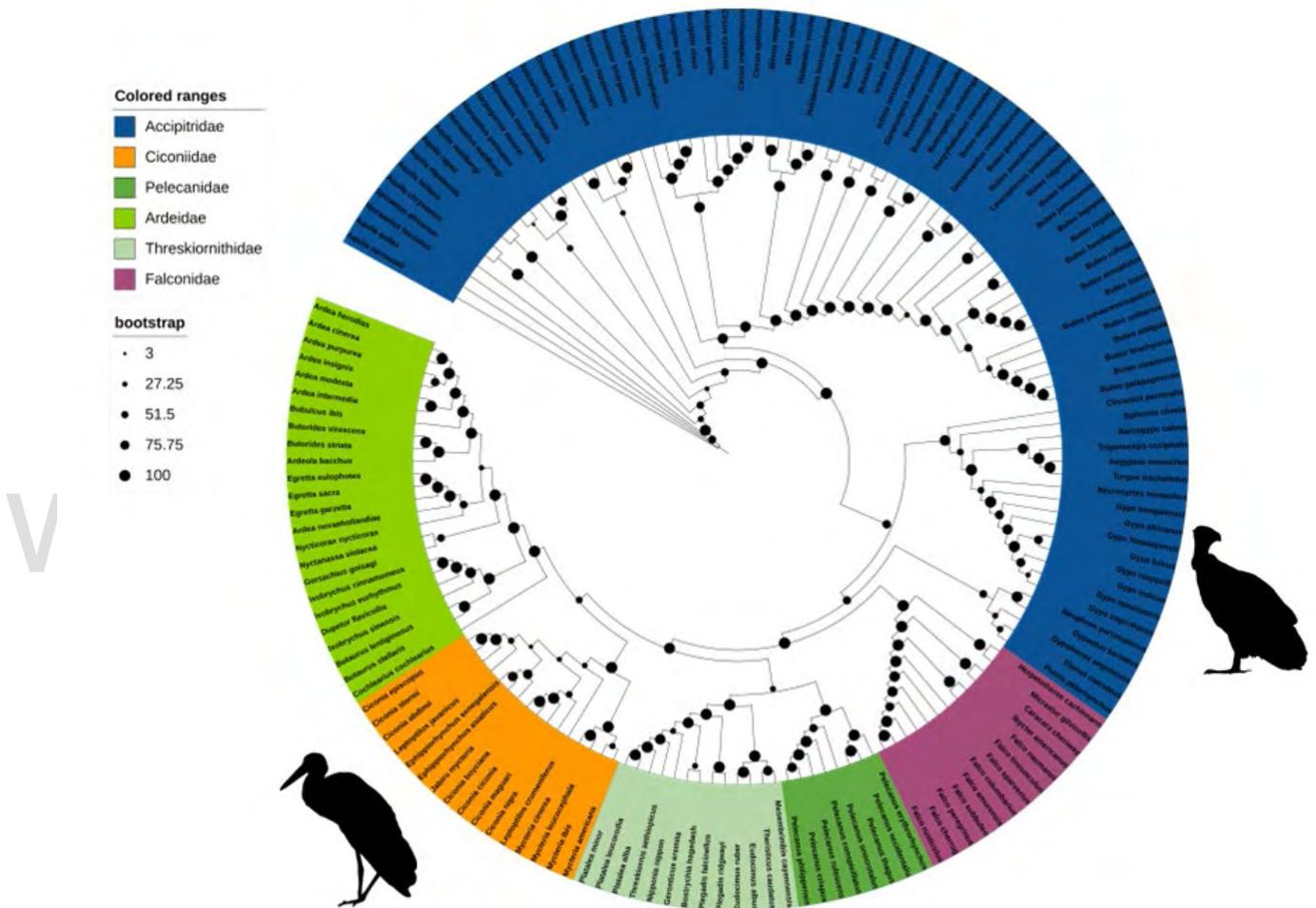


Figura 32. Árbol filogenético inferido con la matriz multigénica de los marcadores mitocondriales de seis familias taxonómicas de las aves empleadas en el análisis.

6.2.2. Árboles consenso obtenidos para los buitres americanos

Los árboles filogenéticos consenso de ambos conjuntos de marcadores moleculares que sí contienen la información de las especies del orden Cathartiformes agrupan a todas los carroñeros americanos en un orden único, separado de los Accipitriformes. Sin embargo, según la topología obtenida para el árbol desarrollado a partir el conjunto de marcadores mitocondriales, los catártidos están más vinculados a los pelícanos y las cigüeñas (Figura 34), mientras que la filogenia obtenida de la matriz multigénica del conjunto de marcadores nucleares, señala que los carroñeros americanos comparten un vínculo filogenético más cercano con los halcones (Figura 35).

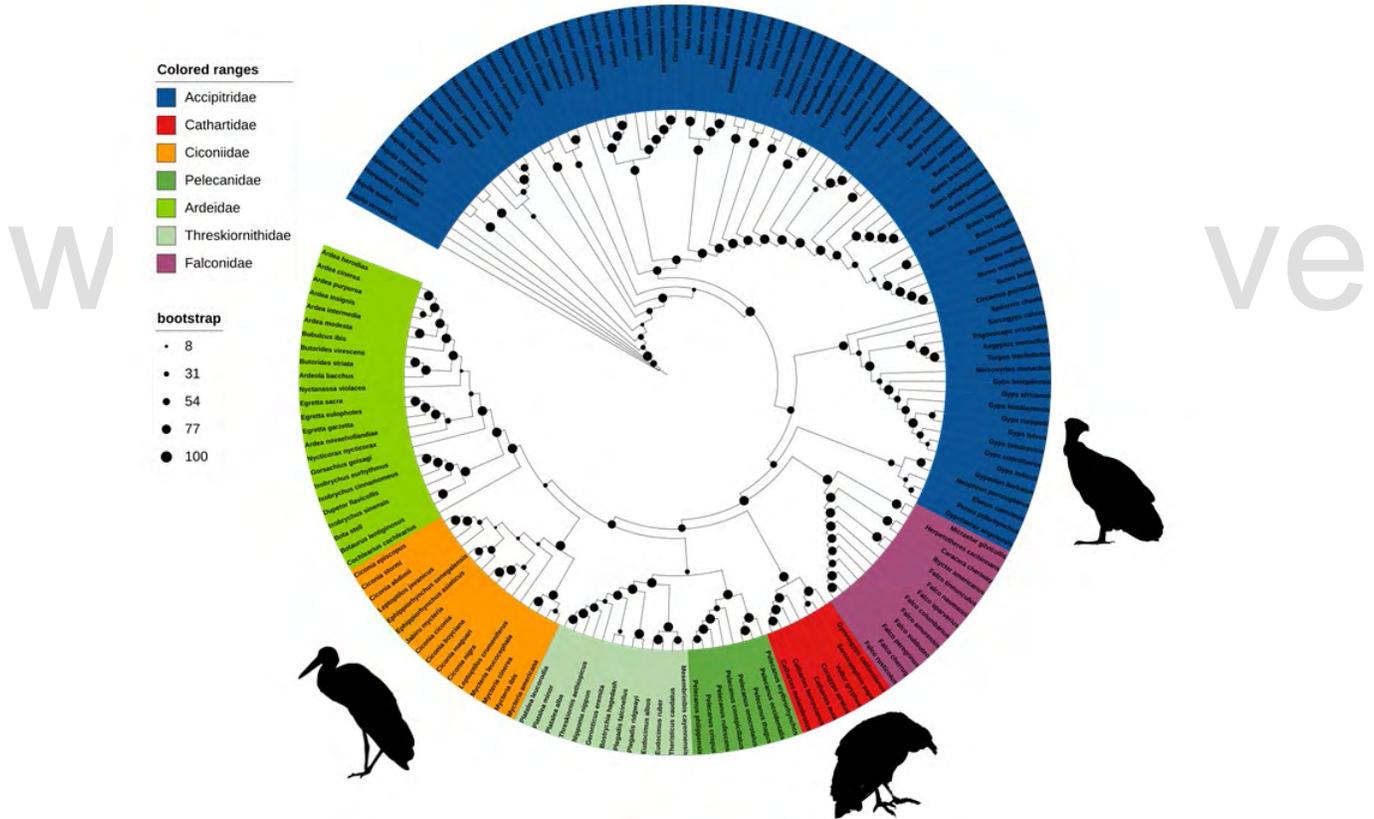


Figura 34. Árbol filogenético inferido con la matriz multigénica de los marcadores mitocondriales de todos los grupos taxonómicos de aves empleadas en el análisis

marcadores moleculares y se produjo una filogenia única para determinar el nivel de afinidad entre cada uno de los grupos aviares y determinar con la mayor información posible el grupo filogenético más vinculado a los Cathartiformes (Figura 36).

En este árbol filogenético se observó que los buitres americanos se encuentran más relacionados a las cigüeñas. Además, la topología del árbol filogenético obtenida del análisis de todo el conjunto de marcadores moleculares, señala que los buitres americanos y las cigüeñas forman parte de un clado mayor, junto con las especies del orden Pelecaniformes.

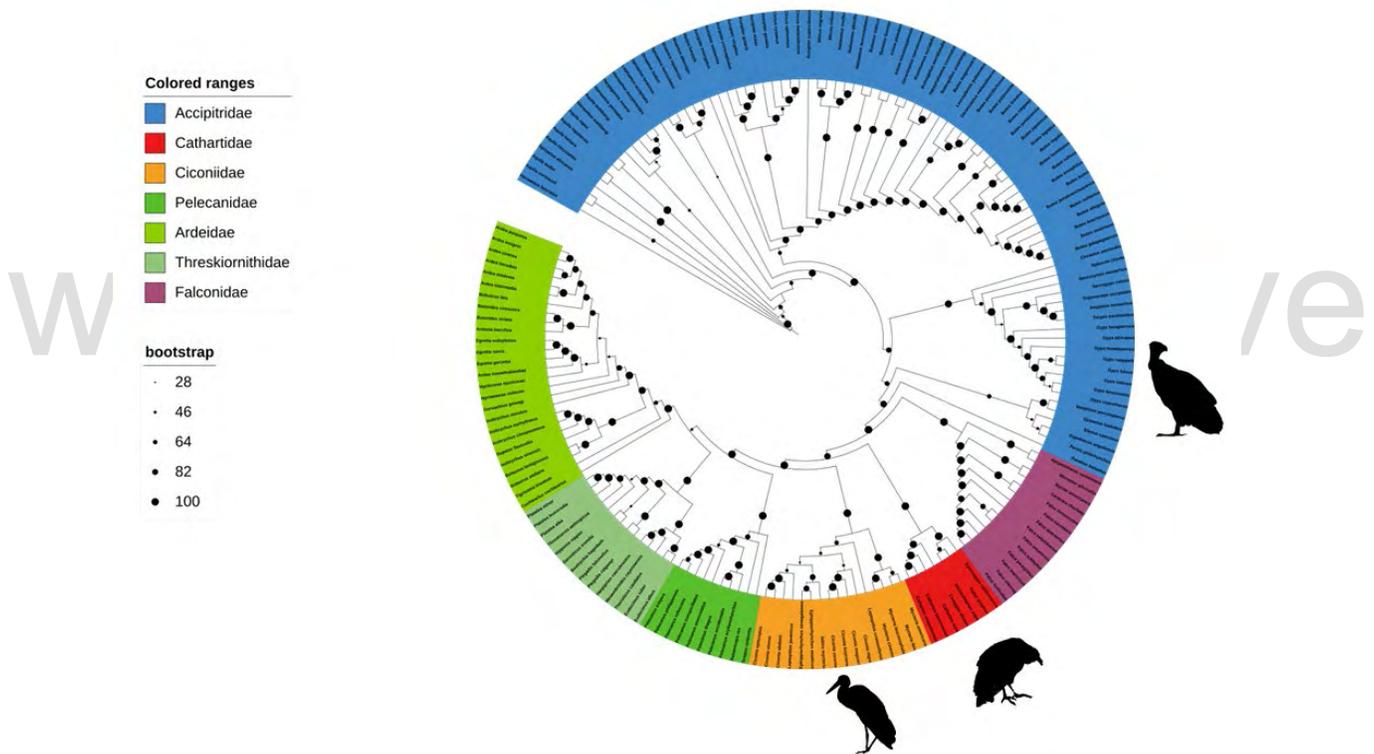


Figura 36. Árbol filogenético concatenado inferido con la información de las secuencias identificadas para la totalidad de los 41 marcadores moleculares

7. Discusión

7.1 Los marcadores moleculares

Ni los estudios de Avise et al. (1994), Wink (1995) y Urantówka et al. (2021) ni las investigaciones de Ericsson et al. (2006), Jarvirt et al. (2014) y Prum et al. (2015) incluyeron información de secuencias nucleotídicas que procedieran simultáneamente del genoma mitocondrial y nuclear para sus análisis de las relaciones filogenéticas entre los diferentes grupos de aves.

Aunque las metodologías de los primeros trabajos mencionados elaboraron inferencias filogenéticas para determinar exclusivamente el nivel de asociación entre los carroñeros americanos, los buitres del viejo mundo y las cigüeñas, la información molecular que utilizaron solo comprendía fragmentos de secuencias nucleotídicas del gen mitocondrial CYTB y elementos genéticos duplicados de ciertas especies representativas de algunos órdenes taxonómicos vinculados a los Cathartiformes, acotando la resolución de las filogenias a un solo tipo de genoma y a un grupo determinado de especies.

En contraposición a los trabajos de Avise et al. (1994) y Wink (1995), las relaciones filogenéticas de los buitres americanos evaluada en este estudio, fueron analizadas empleando las secuencias nucleotídicas de 11 marcadores mitocondriales y 30 marcadores nucleares para determinar la afinidad entre los buitres Cathartiformes y los demás linajes aviares empleando secuencias completas, con altos porcentajes de identidad y de propiedades distintas para elaborar una filogenia única que describa la historia evolutiva de los carroñeros americanos.

Si bien los trabajos de Avise et al. (1994) y Wink (1995) desarrollaron filogenias empleando enfoques diferentes, el único carácter comparativo entre las especies eran las secuencias de gen CYTB, por lo que, para corroborar que la filogenia obtenida a partir de las secuencias de este marcadores describía correctamente las relaciones evolutivas entre las especies de aves, era necesario realizar análisis comparativos con marcadores moleculares que tuvieran

propiedades diferentes para contrastar y comparar las filogenias obtenidas en esa investigación a partir de las secuencias del gen CYTB.

Urantówka et al. (2021) elaboraron comparaciones con regiones duplicadas del mitogenoma correspondientes a las especies de buitres Accipitriformes y Cathartiformes que produjeron filogenias sustentadas con valores de *bootstrap* en donde se observa un alto grado de afinidad entre los buitres americanos y los buitres del viejo mundo. Sin embargo, su metodología no consideró a ninguna especie de cigüeña, garza o ibis, a pesar de que a ciertos ejemplares de los órdenes Ciconiiformes y Pelecaniformes se les han identificado regiones duplicadas de sus mitogenomas. Por lo tanto, la ausencia de información de estas especies aviares dentro del análisis hace que las comparaciones efectuadas con los mitogenomas sean insuficientes para describir con precisión la afinidad filogenética entre ambos conjuntos de buitres.

A pesar de que los marcadores moleculares con los que se elaboraron las filogenias de las investigaciones de Avise et al. (1994), Wink (1995) y Urantówka et al. (2021) no son exactamente los mismos, los resultados obtenidos tanto en las investigaciones mencionadas como en este estudio, asignan a las especies de buitres americanos en un orden taxonómico único que no muestra ninguna relación con los buitres Accipitriformes.

Sin embargo, las filogenias producidas en los trabajos de Ericsson et al. (2006), Jarvirt et al. (2014) y Prum et al. (2015) disienten de nuestros resultados, debido a que presentan árboles filogenéticos donde los buitres del nuevo mundo forman parte del orden de rapaces diurnas Accipitriformes, manteniendo la postura clásica de reunir a ambos grupos de aves carroñeras en un solo taxón.

Las presiones selectivas que sufren los marcadores moleculares y la cantidad de información recopilada para los análisis moleculares pueden determinar la calidad y precisión con la que se infieren las relaciones filogenéticas de las aves. Los estudios que han intentado determinar el vínculo filogenético entre las especies de la clase aves empleando exclusivamente marcadores mitocondriales o nucleares han obtenido árboles filogenéticos que no muestran

topologías similares, describiendo filogenias diferentes para varios grupos de aves, lo que supone que la historia evolutiva que cuentan los marcadores mitocondriales no es la misma que cuando se analiza empleando información del genoma nuclear. De ser esto completamente cierto, las topologías de los árboles construidos únicamente con la información de los genes nucleares durante esta investigación deberían tener una organización similar o equivalente a algunas de las filogenias elaboradas en los trabajos de Ericsson et al. (2006), Jarvirt et al. (2014) y especialmente de Prum et al. (2015), dado que gran parte de la información molecular utilizada para la búsqueda de las secuencias nucleotídicas de los marcadores nucleares provienen de los datos públicos presentados en dichas investigaciones.

Es importante señalar que los trabajos de Ericsson et al. (2006), Jarvirt et al. (2014) y Prum et al. (2015) no se enfocaron exclusivamente en determinar las relaciones evolutivas de las aves carroñeras. Por ende, la información correspondiente al genoma nuclear de especies representativas de los órdenes Accipitriformes, Cathartiformes y Ciconiiformes es bastante escasa dentro de esos análisis, y a pesar de que las topologías obtenidas agrupan tanto a los buitres americanos como a los buitres del viejo mundo en un mismo orden, los valores de *bootstrap* de los clados internos son considerablemente bajos como para sostener fehacientemente estos resultados.

En torno a la determinación e identificación de los marcadores moleculares, es importante mencionar que a pesar de que en los trabajos de Chung et al. (2015) y Zou et al. (2021) se identificaron secuencias genéticas conservadas que poseían una señal convergente y genes que operaban en la secreción de ácido gástrico y en el sistema inmunitario, dichos marcadores no se encuentran presentes en todas las especies de buitres. Por lo tanto, emplear estos datos no habría sido eficiente para determinar efectivamente las relaciones filogenéticas de los buitres Cathartiformes, debido a la limitada cantidad de información y a la ausencia de los marcadores moleculares de elección en todas las especies, para el análisis comparativo.

7.2 Los árboles filogenéticos

En particular, aunque el acervo de genes nucleares cuenta con menos secuencias que correspondan a las especies aviares de cada taxón, en contraposición al conjunto de secuencias halladas para los genes mitocondriales, el análisis individual de cada marcador permitió corroborar que estos genes efectivamente logran reconstruir las filogenias de los distintos grupos de aves, produciendo árboles con topologías similares a las propuestas de clasificación recientes, así como a las presentadas en los estudios evaluados durante la revisión bibliográfica.

Con excepción del marcador mitocondrial COX 2 (Figura 43), todos los demás genes utilizados en el análisis agrupan correctamente a cada una de las especies de aves a nivel taxonómico de familia. La filogenia inferida con las secuencias de COX2 indica que las especies aviares *Micrastur gilvicollis*, *Herpetotheres cachinnans*, *Pelecanus crispus*, *Pelecanus occidentalis* y *Pelecanus conspicillatus* comparten un vínculo de afinidad a pesar de ser especies de órdenes completamente distintos. Este resultado particular indica que cuando se trabaja con este marcador molecular, debido a la diversidad del marcador, se requiere de un mayor número de secuencias que correspondan a más especies del orden Falconiformes para determinar correctamente el grado de parentesco entre los halcones, evitando producir grupos convergentes con especies que no necesariamente comparten una historia evolutiva reciente, y que tampoco se han vinculado en ninguna propuesta de clasificación.

Para las filogenias consenso obtenidas de la concatenación de los genes mitocondriales y nucleares (Figura 34 y Figura 35), el árbol correspondiente a la matriz de marcadores mitocondriales vincula a los buitres americanos con las especies aviares de los órdenes Ciconiiformes y Pelecaniformes en un clado mayor que posee un soporte estadístico de *bootstrap* de 74. Por su parte, el árbol filogenético desarrollado con el conjunto de marcadores nucleares agrupa a los buitres Cathartiformes en un clado junto a los Falconiformes con un soporte estadístico de *bootstrap* de 60.

Aunque los árboles filogenéticos inferidos a partir de las matrices multigénicas de los dos conjuntos de marcadores moleculares produjeron topologías que describen el vínculo entre las

especies a nivel de familia (Figura 34 y Figura 35), los resultados podrían suponer que la resolución filogenética inferida con los marcadores mitocondriales se encuentra mejor respaldada que los análisis realizados con los marcadores nucleares, dado que los primeros están representados por un mayor número especies. Sin embargo, aunque los resultados obtenidos de los análisis efectuados con las matrices son discrepantes con respecto a la determinación del grupo taxonómico filogenéticamente más vinculado a los buitres americanos, la heterogeneidad de ambos conjuntos de marcadores moleculares no muestra una historia evolutiva muy diferente en torno a las especies de constituyen cada grupo taxonómico, lo que nos permitió elaborar una matriz concatenada donde se agrupo la información de los 41 marcadores moleculares.

Aunque se considera que la diversidad de información que se emplea en los análisis moleculares puede generar una falsa señal filogenética, y la agrupación de algunas especies podría no ser la correcta, existen estudios que han demostrado que la falta o variabilidad de datos no influye negativamente sobre la topología de los árboles, las estimaciones de longitud de las ramas o el soporte de nodos; además, al concatenar los datos recopilados se potencia la estimación de las relaciones filogenéticas que pueden existir entre un grupos de especies (Figuroa et al. 2016).

La concatenación de datos en matrices multigénicas optimiza la determinación de las relaciones filogenéticas y uno de los enfoques de análisis considera que es conveniente tener un gran número de marcadores moleculares para un conjunto muy limitado de especies, ya que la amplia variedad de marcadores proporcionaría un mejor apoyo para resolver las relaciones de niveles superiores, sin dejar de resolver todas las relaciones a nivel de especies (Cho et al. 2011).

Esta idea puede observarse en la topología del árbol concatenado (Figura 36) donde se aprecia que la distribución de todas las especies a las para las que se halló información molecular corresponde con las familias taxonómicas en las que han sido clasificadas. Si bien el conjunto de especies a los que se les determinó información de todos los marcadores moleculares identificados en las bases de datos es limitado, especialmente para los marcadores nucleares, la similitud en torno a la historia evolutiva descrita por ambos conjuntos de marcadores moleculares

permitió construir un árbol concatenado que contiene los datos de los 41 genes utilizados en el análisis filogenético. Esto permitió constatar la topología de todas las filogenias elaboradas durante esta investigación y determinar que los Cathartiformes y Ciconiiformes se encuentran relacionados en un nodo con un soporte estadístico de *bootstrap* de 84 y forman un clado junto con las especies de Pelecaniformes.

Un aspecto resaltante en torno al desarrollo de los árboles filogenéticos es que, si bien las topologías individuales y consenso inferidas en este estudio no muestran una distribución concretamente definida para el orden Pelecaniformes, los resultados demuestran que las relaciones filogenéticas de las especies aviares no se presentan de manera aleatoria o incongruente a las propuestas de clasificación existentes en las que se han organizado todas las especies empleadas en este estudio. Por lo tanto, las evidencias presentadas por esta investigación permiten corroborar el vínculo filogenético intraespecífico entre los ejemplares de cada grupo aviar.

7.3 El grupo hermano de los Cathartiformes

Los análisis efectuados en este trabajo lograron determinar mediante sistemática molecular que los buitres americanos y los carroñeros del viejo mundo no comparten ninguna relación filogenética cercana, confirmando que ninguna de las especies de los Cathartiformes pertenece al orden Accipitriformes, y rechazando las propuestas que continúan agrupando a ambos conjuntos de buitres dentro de un mismo orden taxonómico.

Aunque la filogenia resultante en este estudio muestre que los Cathartiformes se agrupan junto con el gran clado donde se incluyen a los Pelecaniformes y a los Ciconiiformes (Figura 36), nuestros datos apoyan los planteamientos que habían señalado que los buitres del nuevo mundo y las cigüeñas pueden compartir algunas relaciones filogenéticas debido al conjunto de características morfológicas comunes que poseen únicamente las especies de estos dos grupos taxonómicos, como el mecanismo de excreción en las patas para refrescarse, la composición de

las secreciones de las glándulas uropigiales, la anatomía de los músculos de las patas y la pelvis, y el color del plumaje.

En virtud de los análisis hechos en este trabajo y considerando el conjunto de características morfológicas descritas para las especies de catártidos y cigüeñas, se logró determinar que el grupo taxonómico que parece estar filogenéticamente más relacionado con los buitres Cathartiformes son las aves del orden Ciconiiformes. Sin embargo, estos grupos de aves no forman un clado completamente aislado del resto de los grupos taxonómicos, sino que se ven agrupados junto con las especies del orden Pelecaniformes. Cabe destacar que si bien en el árbol concatenado (Figura 36) todas las familias se agrupan en un subclado separado de las cigüeñas y los buitres del nuevo mundo, en algunos de los árboles de los marcadores moleculares individuales se observa un vínculo entre los Cathartiformes y algunas especies de pelícanos (Figura 40, Figura 45, Figura 63 y Figura 78).

8. Conclusiones

En base a los resultados obtenidos en este trabajo de reconstrucción filogenética de las especies de Cathartiformes, Ciconiiformes, Accipitriformes, Pelecaniformes y Falconiformes, podemos concluir:

- a. Ninguna de las aves Cathartiformes posee relación con las rapaces del orden Accipitriformes, constatando que no existe ningún vínculo filogenético entre los buitres del viejo mundo y los carroñeros del nuevo mundo.
- b. Los buitres americanos (Cathartiformes) se encuentran más estrechamente relacionados con las aves del orden Ciconiiformes, siendo las cigüeñas, muy probablemente, el grupo hermano de los catártidos.

9. Anexos

9.1 Grupos taxonómicos de aves vinculados a los buitres americanos

Accipitridae	Ardeidae	Ciconiidae	Falconid ae	Pelecanidae	Threskiornithidae
<i>Aquila audax</i>	<i>Ardeola bacchus</i>	<i>Ciconia boyciana</i>	<i>Falco amurensis</i>	<i>Pelecanus crispus</i>	<i>Mesembrinibis cayennensis</i>
<i>Aquila chrysaetos</i>	<i>Ardea cinerea</i>	<i>Ciconia ciconia</i>	<i>Falco cherrug</i>	<i>Pelecanus conspicillatus</i>	<i>Eudocimus ruber</i>
<i>Accipiter cirrocephalus</i>	<i>Ardea herodias</i>	<i>Ciconia maguari</i>	<i>Falco columbarius</i>	<i>Pelecanus erythrorhynchos</i>	<i>Nipponia nippon</i>
<i>Aquila fasciatus</i>	<i>Ardea insignis</i>	<i>Ciconia nigra</i>	<i>Falco peregrinus</i>	<i>Pelecanus occidentalis</i>	<i>Platalea minor</i>
<i>Accipiter gentilis</i>	<i>Ardea intermedia</i>	<i>Mycteria americana</i>	<i>Falco naumanni</i>	<i>Pelecanus onocrotalus</i>	<i>Platalea leucorodia</i>
<i>Accipiter gularis</i>	<i>Ardea modesta</i>		<i>Falco rusticolus</i>	<i>Pelecanus rufescens</i>	<i>Plegadis ridgwayi</i>
<i>Aquila heliaca</i>	<i>Ardea purpurea</i>		<i>Falco sparverius</i>	<i>Pelecanus philippensis</i>	<i>Threskiornis aethiopicus</i>
<i>Aegypius monachus</i>	<i>Bubulcus ibis</i>		<i>Falco subbuteo</i>	<i>Pelecanus thagus</i>	
<i>Aquila nipalensis</i>	<i>Botaurus stellaris</i>		<i>Falco tinnunculus</i>		
<i>Accipiter nisus</i>	<i>Butorides striata</i>				
<i>Aquila rapax</i>	<i>Egretta eulophotes</i>				
<i>Accipiter soloensis</i>	<i>Egretta garzetta</i>				
<i>Accipiter trivirgatus</i>	<i>Egretta novaehollandiae</i>				
<i>Aquila verreauxii</i>	<i>Egretta sacra</i>				
<i>Accipiter virgatus</i>	<i>Ixobrychus eurhythmus</i>				
<i>Buteo albigula</i>	<i>Ixobrychus flavicollis</i>				
<i>Buteo brachyurus</i>	<i>Ixobrychus sinensis</i>				
<i>Buteo buteo</i>	<i>Nycticorax nycticorax</i>				
<i>Buteo galapagoensis</i>	<i>Nyctanassa violacea</i>				
<i>Buteo hemilasius</i>					
<i>Buteo turindicus</i>					
<i>Buteo jamaicensis</i>					
<i>Buteo lagopus</i>					
<i>Buteo lineatus</i>					

<i>Butastur liventer</i>					
<i>Buteo magnirostris</i>					
<i>Buteo gallusmeridionalis</i>					
<i>Buteo oreophilus</i>					
<i>Buteo polyosoma</i>					
<i>Buteo regalis</i>					
<i>Buteo ridgwayi</i>					
<i>Buteo rufinus</i>					
<i>Buteo solitarius</i>					
<i>Buteo swainsoni</i>					
<i>Buteo gallusurubitinga</i>					
<i>Circus pectoralis</i>					
<i>Circus cyaneus</i>					
<i>Circus melanoleucos</i>					
<i>Circus spilonotus</i>					
<i>Elanus caeruleus</i>					
<i>Geranoaetus melanoleucus</i>					
<i>Geranoospiza caerulescens</i>					
<i>Haliaeetus albicilla</i>					
<i>Harpyhaliaetus coronatus</i>					
<i>Haliaeetus leucocephalus</i>					
<i>Hieraaetus morphnoides</i>					
<i>Hieraaetus pennatus</i>					
<i>Haliaeetus vocifer</i>					
<i>Hieraaetus wahlbergi</i>					
<i>Ictinia mississippiensis</i>					
<i>Ictinia plumbea</i>					
<i>Milvus migrans</i>					
<i>Milvus milvus</i>					
<i>Nisaetus alboniger</i>					

9.3 Información de los marcadores moleculares

Todos los genes identificados para el análisis filogenético actúan dentro de algún proceso que facilita la síntesis de ATP, la transferencia de electrones en la cadena transportadora, reguladores de transcripción, traducción de señales, crecimiento y desarrollo de células nerviosas entre otros procesos. Ninguno de los marcadores moleculares opera dentro de procesos fisiológicos asociados al emblemático estilo de vida carroñero de los buitres.

9.3.1 Marcadores mitocondriales empleados en el análisis molecular

Nombre del Gen	Seudónimo de Gen	Función
12S rRNA	MT-RNR1 RNR1 12S RNA	Participa en la síntesis de proteínas y reconocimiento de los codones mRNA. Además, puede intervenir en procesos fisiológicos de algunas moléculas que regulan sensibilidad y homeostasis de la insulina
16S rRNA	MT-RNR2 16S RNA	Codifica para la subunidad ribosomal del mRNA. Al igual que el gen 12S, participan en la síntesis de proteínas en las mitocondrias.
ATP sintasa subunidad A	MT-ATP6 ATP6	Es una de las subunidades de la ATP-sintasa que opera en conjunto con la subunidad ATP8 para efectuar la translocación de los protones en la membrana mitocondrial interna, facilitando la síntesis de ATP a partir de ADP.
Proteína ATP8 sintasa	MT-ATP8 ATP8	La ATP8 forma parte del complejo de la enzima ATP-sintasa y junto con la subunidad ATP6, impulsando la síntesis de ATP en las mitocondrias.
Citocromo c oxidasa subunidad 1	MT-COI COI COXI COX1	Es una de las subunidades principales de la enzima citocromo c oxidasa, que contribuye con la transferencia de electrones a moléculas de oxígeno y el establecimiento de un gradiente de protones para la síntesis de ATP.
Citocromo c oxidasa subunidad 2	MT-CO2 COII COX II COX2	Es una de las subunidades que forma parte de la enzima citocromo c oxidasa, y tiene como función principal facilitar la transferencia de electrones para reducir el oxígeno a agua.
		Al igual que las subunidades ya descritas, el COX3 opera dentro de la cadena respiratoria de las mitocondrias al facilitar la transferencia de electrones desde el citocromo c al oxígeno

Citocromo c oxidasa subunidad 3	MT-CO3 COIII COXIII COX3	molecular e impulsar el bombeo de protones con los que se genera un gradiente electroquímico que se utiliza para la síntesis de ATP.
Citocromo b	MT- CYTB CYTB COB	Es una proteína que forma parte de la cadena respiratorio mitocondrial, que actúa en la transferencia de electrones y contribuye en la generación de un gradiente de protones que se utiliza para la síntesis de ATP.
NADH deshidrogenasa subunidad 1	MT-ND1 NADH1 ND1	Subunidad central de la cadena respiratoria NADH deshidrogenasa de la membrana mitocondrial que cataliza la transferencia de electrones
NADH deshidrogenasa subunidad 2	MT-ND2 NADH2 ND2	Así como la NADH1, la NADH2 forma parte del complejo I de la cadena respiratoria NADH deshidrogenasa que opera en la transferencia de electrones a través del complejo para la conversión de la energía de los electrones que serán transferidos al gradiente de protones.
NADH deshidrogenasa subunidad 6	MT-ND6 NADH6 ND6	Es una de las subunidades que forma parte del complejo I de la cadena respiratoria NADH y que opera en la transferencia de electrones para la formación de moléculas de ATP en las mitocondrias.

*La información presentada en la tabla fue recopilada empleando los recursos disponibles en los portales Web del NCBI, UniProt y GeneCards. Este recurso proporciona una descripción breve de cada gen identificado y empleado en el análisis, incluyendo sus nombres, seudónimos y la función que desempeñan en los procesos metabólicos que actúan.

9.3.2 Marcadores nucleares empleados en el análisis molecular

Nombre del Gen	Seudónimo de Gen	Función
PR/SET Domain 16 PR Domain-Containing Protein 16\	PRDM16	Se une al ADN y funciona como regulador transcripcional. También se ha determinado que en pruebas <i>in vitro</i> , esta proteína muestra actividad de histona metiltransferasa y monometila en el 'Lys-9' de la histona H3 (H3K9me1), catalizando la monometilación de la histona H3 libre en el citoplasma, que luego es transportada al núcleo e incorporada a los nucleosomas, donde las metiltransferasas SUV39H la utilizan como sustrato para catalizar la trimetilación del 'Lys-9' de la histona H3.

Threonine Kinase 2 Threonine Protein Kinase	MAST2	Parece unir la red distrofina/utrofina con filamentos de microtúbulos vía las sintrofinas, además opera en fosforilación de DMD o UTRN modulando sus afinidades para las proteínas asociadas al proceso.
Adhesion G Protein-Coupled Receptor L2	ADGRL2	Receptor probablemente implicado en la regulación de la excitosis.
Olfactomedin-Like Protein 3	OLFML3	Proteína de andamiaje secretada que desempeña un papel esencial durante el desarrollo temprano. Aparentemente, puede tener una función relacionada con la matriz implicada en el desarrollo placentario y embrionario, o funciones similares en otros procesos fisiológicos.
Beta-1,3-Galactosyltransferase 2	B3GALT2	Interviene en la biosíntesis de los glúcidos de los glicolípidos y las glicoproteínas.
Calmodulin-Regulated Spectrin-Associated Protein 2	CAMSAP2	Proteína clave para la organización de los microtúbulos que se une específicamente al extremo negativo, regulando su dinámica y organización. Reconoce específicamente los extremos negativos de los microtúbulos en crecimiento y estabiliza de forma autónoma la red de microtúbulos formada por la polimerización de los extremos negativos de los microtúbulos.
Muscarinic Acetylcholine Receptor M3	CHRM3	El receptor muscarínico de la acetilcolina media diversas respuestas celulares, incluida la inhibición del adenilato ciclasa, la degradación de los fosfoinosítidos y la modulación de los canales de potasio mediante la acción de las proteínas G
Fidgetin, Microtubule Severing Factor	FIGN	Proteína separadora de microtúbulos dependiente de ATP. Corta los microtúbulos a lo largo de su longitud y despolimeriza sus extremos, principalmente el extremo negativo, suprimiendo el crecimiento de los microtúbulos desde los centrosomas y su unión a ellos.
Ras-Associated-leckstrin Homology Domains- Containing Protein 1	RAPH1	Mediador de señales de membrana localizadas. Implicado en la regulación de la dinámica lamelipodial.
Atypical Chemokine Receptor 3	ACKR3	Receptor atípico de quimiocinas que controla los niveles y la localización de quimiocinas a través de la unión de quimiocinas de alta afinidad que se desacopla de las cascadas de transducción de señales clásicas impulsadas por ligandos, permitiendo la degradación o transcitosis de quimiocinas.
Phospholipase C Like 2	PLCL2	Puede desempeñar un papel en la regulación de algunas moléculas en

		el retículo endoplásmico.
Golgi Autoantigen, GolginSubfamily A, 4	GOLGA4	Interviene en el tráfico vesicular a nivel del aparato de Golgi, mediando la entrega de vesículas de transporte que contienen proteínas ligadas a GPI desde la red trans-Golgi a través de su interacción con MACF1.
Zinc Finger And BTB Domain Containing 20	ZBTB20	Puede ser un factor de transcripción que puede estar implicado en la hematopoyesis, la oncogénesis y las respuestas inmunitarias.
NeuronDerivedNeurotrophic Factor	NDNF	Proteína secretora que interviene en procesos de crecimiento y regulación. Puede promover la migración, el crecimiento y la supervivencia de las neuronas, así como el desarrollo de las neuritas, y del sistema olfativo.
RelaxinFamilyPeptide Receptor 3	RXFP3	Puede desempeñar un papel en los procesos de señalización de neuropéptidos.
Ras Responsive Element Binding Protein 1	RREB1	Factor de transcripción que se une específicamente a los elementos que responden a RAS (RRE) de los promotores de los genes. Reprime el gen del angiotensinógeno.
Transcription Factor HIVEP2	HIVEP2	Esta proteína se une específicamente a la secuencia de ADN 5'-GGGACTTTCC-3' que se encuentra en los elementos potenciadores de numerosos promotores virales como los del SV40, CMV o VIH1. Además, se encuentran secuencias relacionadas en los elementos potenciadores de una serie de promotores celulares, incluidos los de los genes MHC de clase I, del receptor de interleucina-2, del receptor de somatostatina II y del interferón-beta. Puede actuar en la activación de las células T
F-Box OnlyProtein 30	FBXO30	Componente de reconocimiento de sustrato del complejo de ubiquitinas ligasas E3 de tipo SKP1-CUL1-F-box, su función es requerida para la atrofia muscular tras la denervación.
A-Kinase Anchor Protein 12	AKAP12	Proteína de anclaje que media la compartimentación subcelular de la proteína quinasa A (PKA) y la proteína quinasa C (PKC).
Piccolo PresynapticCytomatrixProtein	PCLO	Proteína de andamiaje de la cito-matriz presináptica en la zona activa (CAZ) que es el lugar de la sinapsis donde se libera el neurotransmisor. Participa en la formación de orgánulos membranosos derivados del Golgi, denominados vesículas de transporte Piccolo-Bassoon (PTV), que son transportados a lo largo de los axones hasta los lugares de los contactos sinápticos nacientes.

AdenosineDeaminase, RNA-Specific, B2	ADARB2	Evita la unión de otras enzimas ADAR a objetivos durante procesos <i>in vitro</i> , disminuyendo la eficiencia de estas enzimas.
FAT AtypicalCadherin 3	FAT3	Puede desempeñar un papel en las interacciones entre las neuritas derivadas de subconjuntos específicos de neuronas durante el desarrollo.
G Protein-Coupled Receptor 12	GPR12	Promueve el crecimiento de las neuritas y bloquea la inhibición de la mielina en las neuronas.
Vacuolar ProteinSortingProtein 18	VPS18	Desempeña un papel en el tráfico de proteínas mediado por vesículas hacia compartimentos lisosomales, incluyendo las vías de transporte de membrana endocítica y autofágica.
Membrane Integral NOTCH2 Associated Receptor 1	MINAR1	Regula negativamente la angiogénesis y el crecimiento celular de neuritas en neuronas del hipocampo.
Myeloid Associated Differentiation Marker Like 2	MYADML2	Aún se mantiene en estudio
Teashirt Zinc FingerHomeobox 3	TSHZ3	Actúa como regulador transcripcional implicado en procesos de desarrollo como la formación de neuronas. También puede promover el mantenimiento de las motoneuronas que gobiernan la función de las vías respiratorias superiores y en la diferenciación de las células musculares lisas de la uretra proximal durante los procesos de desarrollo.
Family With Sequence Similarity 217 Member B	FAM217B	Aún se mantiene en estudio
NeuriteExtension and Migration Factor	NEXMIF	Participa en el crecimiento de las neuritas regulando la adhesión célula-célula a través de la vía de señalización de la N-cadherina. Adicionalmente, puede actuar regulando la expresión de genes codificadores de proteínas, como las N-cadherinas y la integrina beta-1 (ITGB1).
Insulin Receptor Substrate 4	IRS4	Puede desempeñar un papel en la transducción de señales en respuesta a la insulina y, en menor medida, en respuesta a la IL4 y la GH en la mitogénesis, además interviene en el crecimiento, la reproducción y la homeostasis de la glucosa.

* La información presentada en la tabla fue recopilada empleando los recursos disponibles en los portales Web del NCBI, UniProt y GeneCards. Este recurso proporciona una

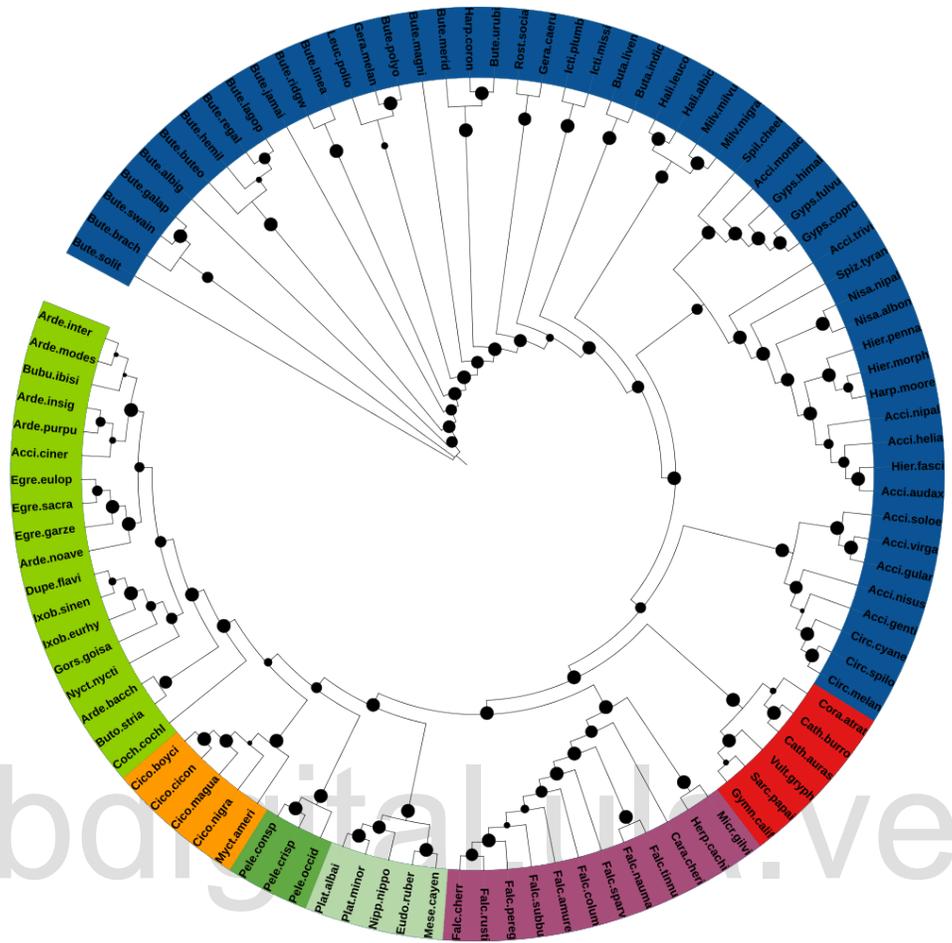


Figura 39. Árbol filogenético inferido con el marcador mitocondrial 16S, para las siete familias de aves empleadas en la determinación del grupo hermano de los buitres americanos

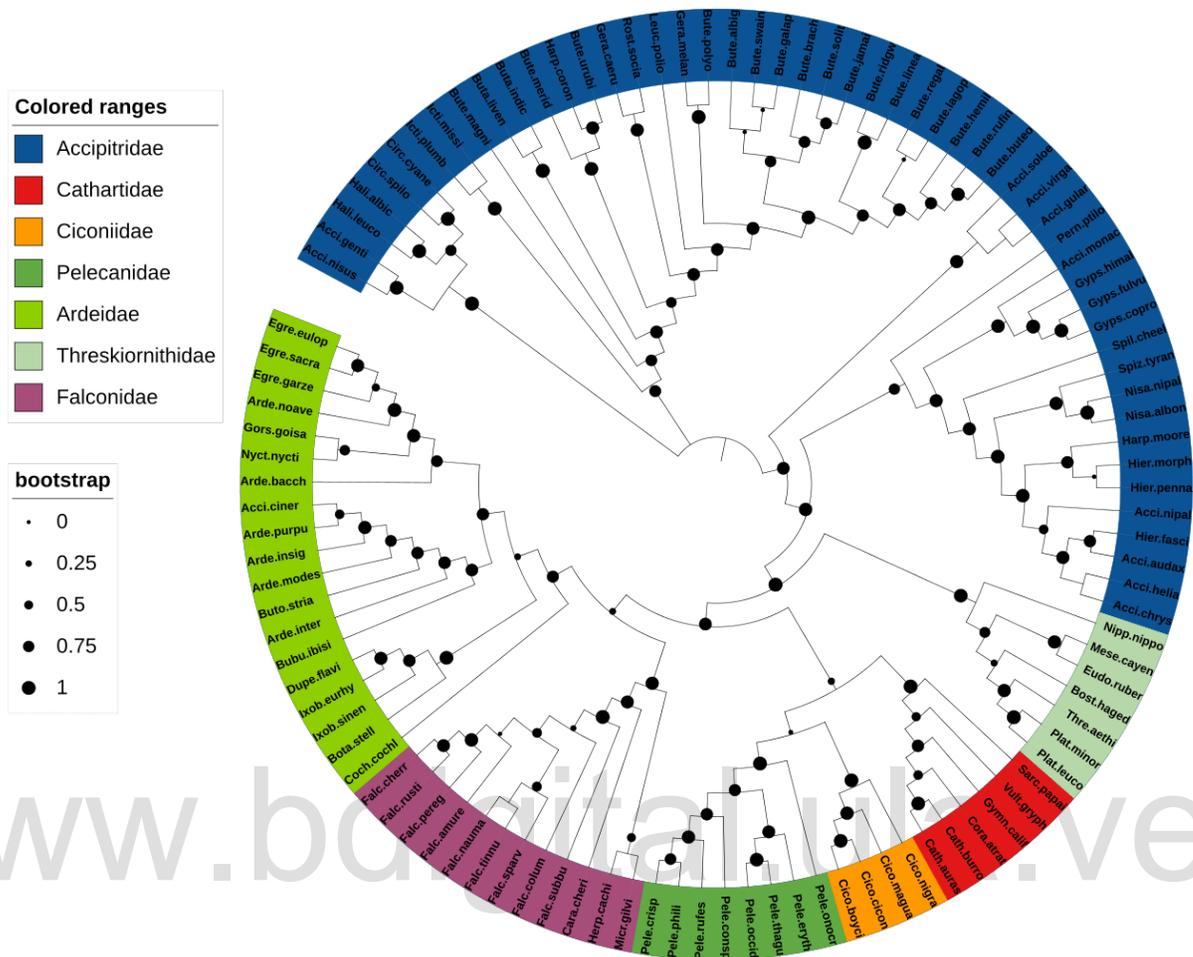


Figura 40. Árbol filogenético inferido con el marcador mitocondrial ATP8, para las siete familias de aves empleadas en la determinación del grupo hermano de los buitres americanos

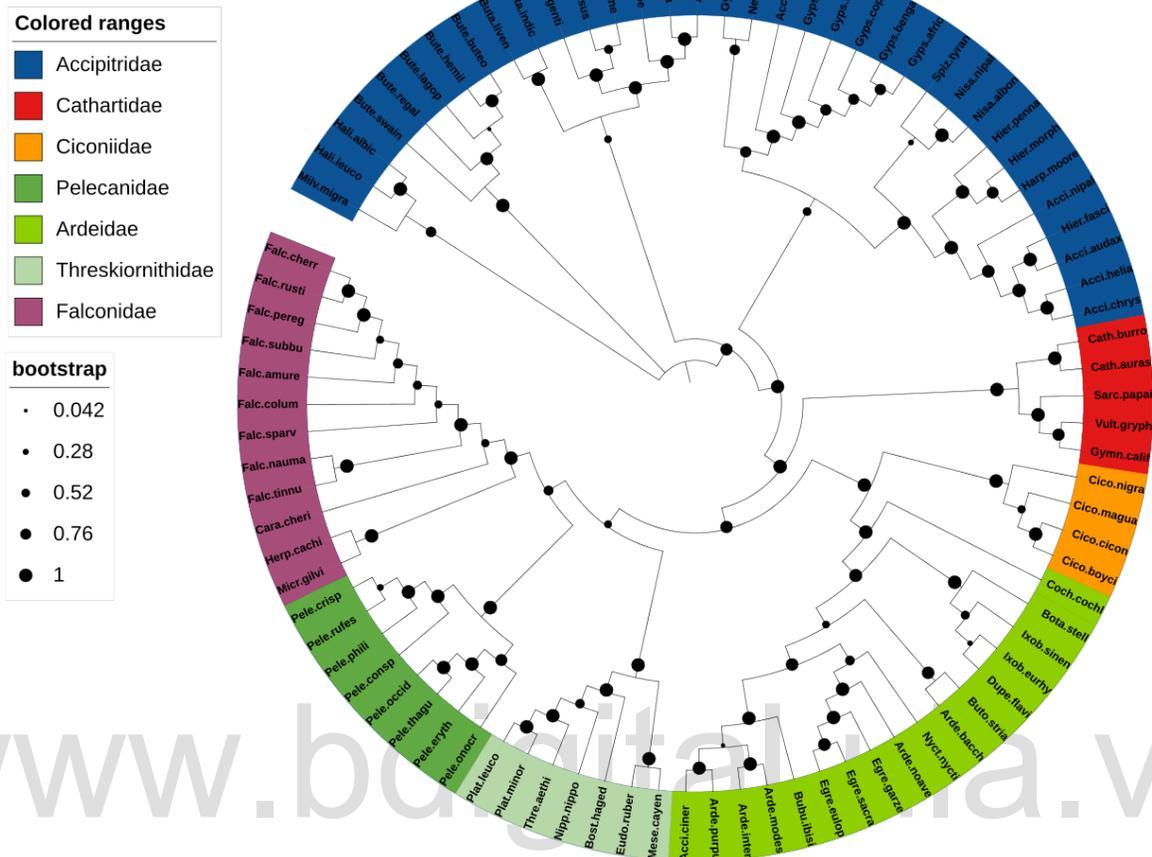


Figura 42. Árbol filogenético inferido con el marcador mitocondrial COX1, para las siete familias de aves empleadas en la determinación del grupo hermano de los buitres americanos

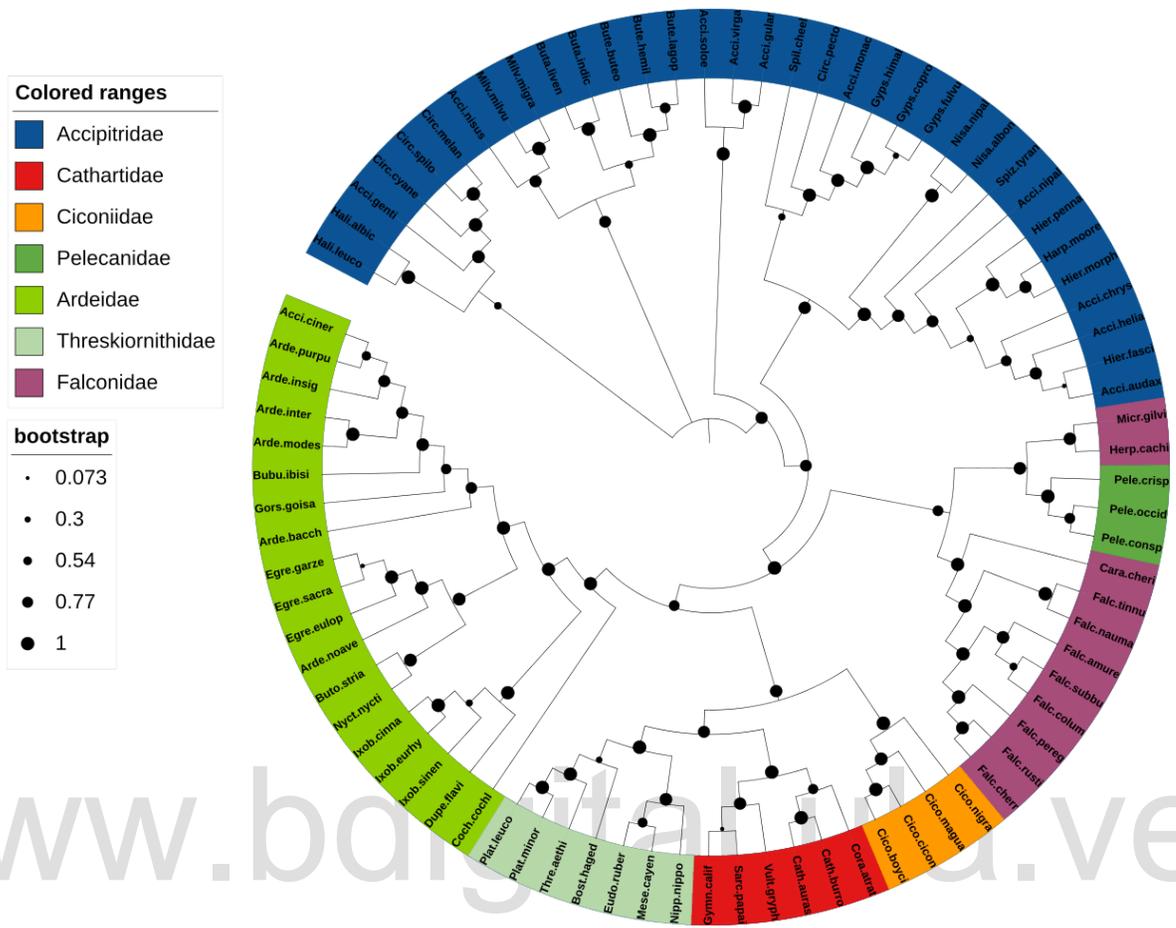


Figura 43. Árbol filogenético inferido con el marcador mitocondrial COX2, para las siete familias de aves empleadas en la determinación del grupo hermano de los buitres americanos

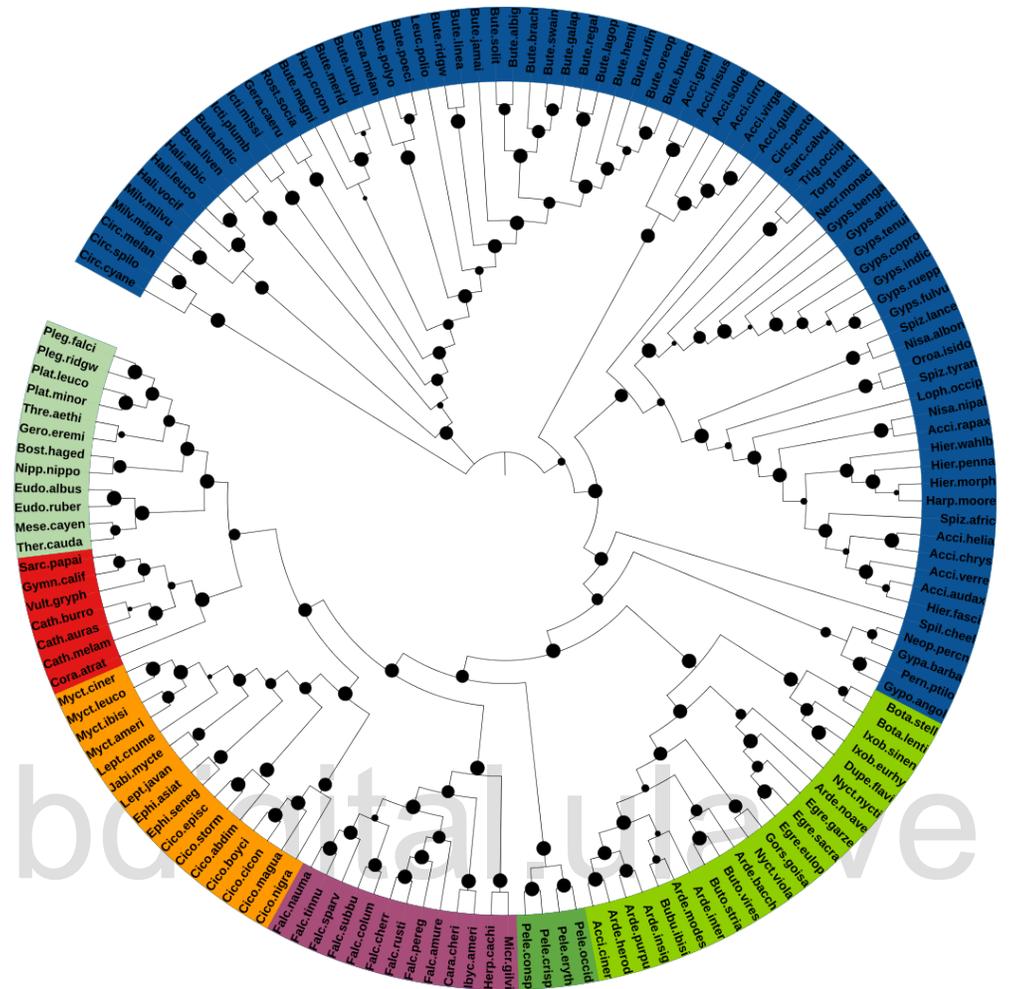


Figura 45. Árbol filogenético inferido con el marcador mitocondrial CYTB, para las siete familias de aves empleadas en la determinación del grupo hermano de los buitres americanos

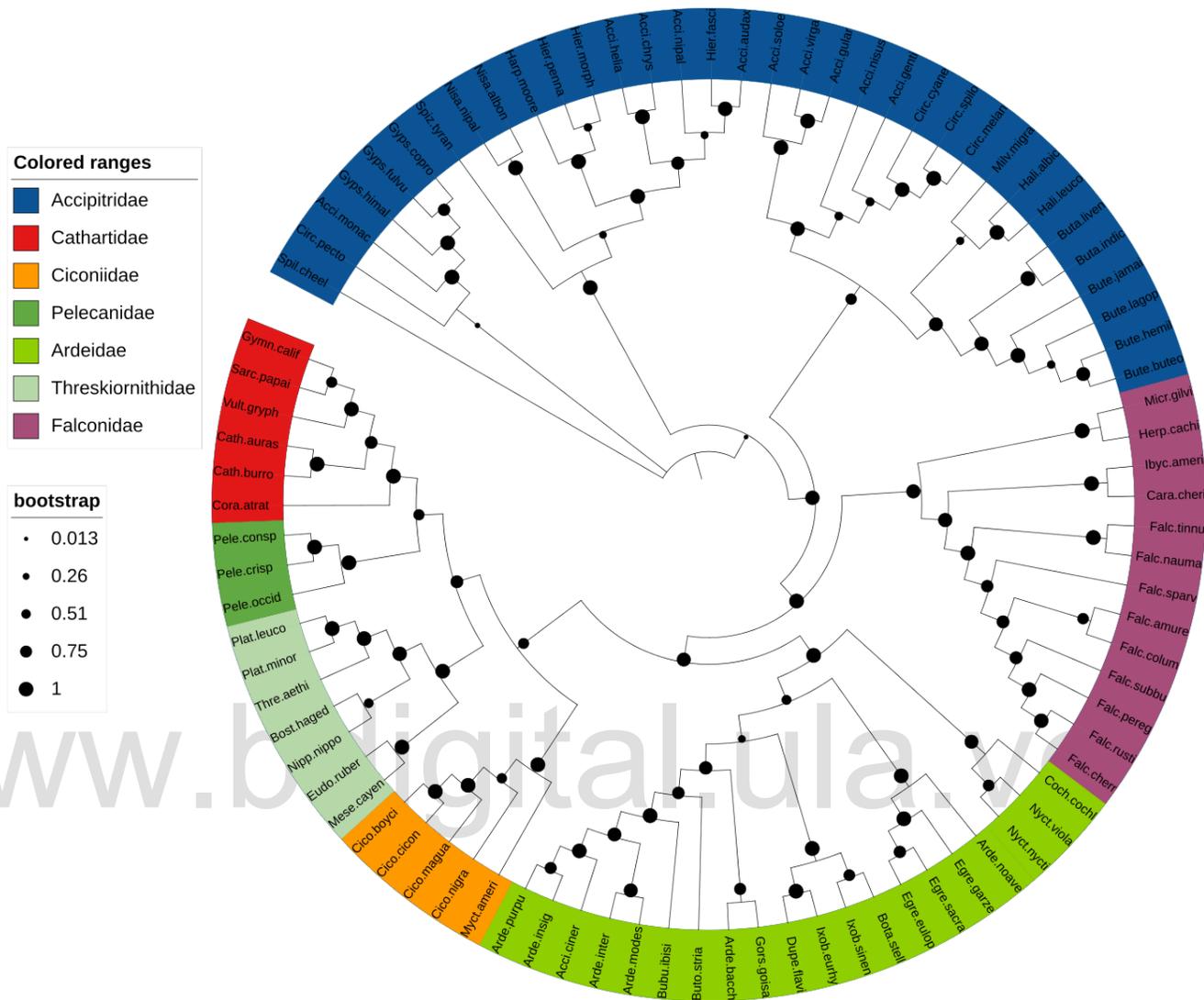


Figura 46. *Árbol filogenético inferido con el marcador mitocondrial NDI, para las siete familias de aves empleadas en la determinación del grupo hermano de los buitres americanos*

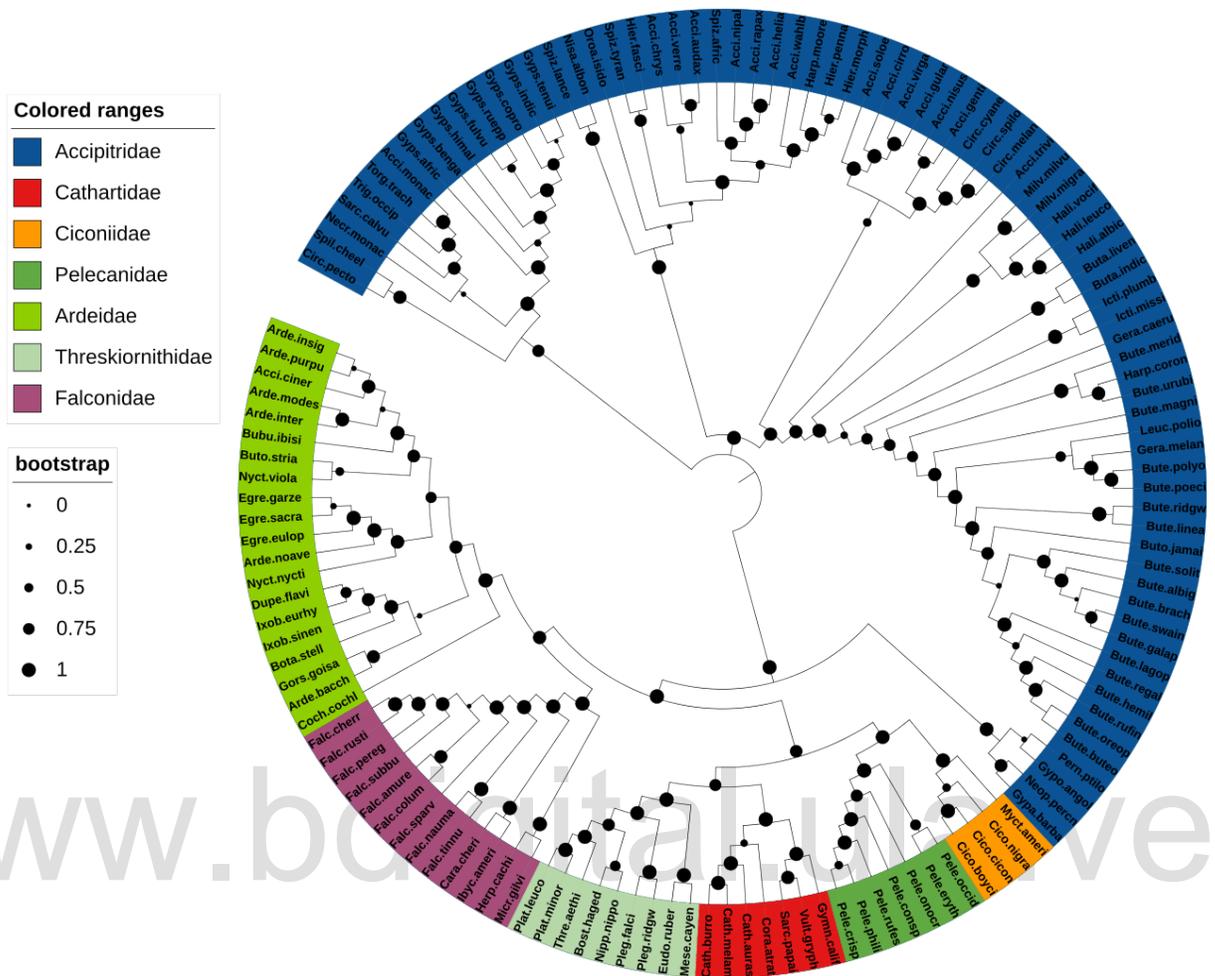


Figura 47. Árbol filogenético inferido con el marcador mitocondrial ND2, para las siete familias de aves empleadas en la determinación del grupo hermano de los buitres americanos

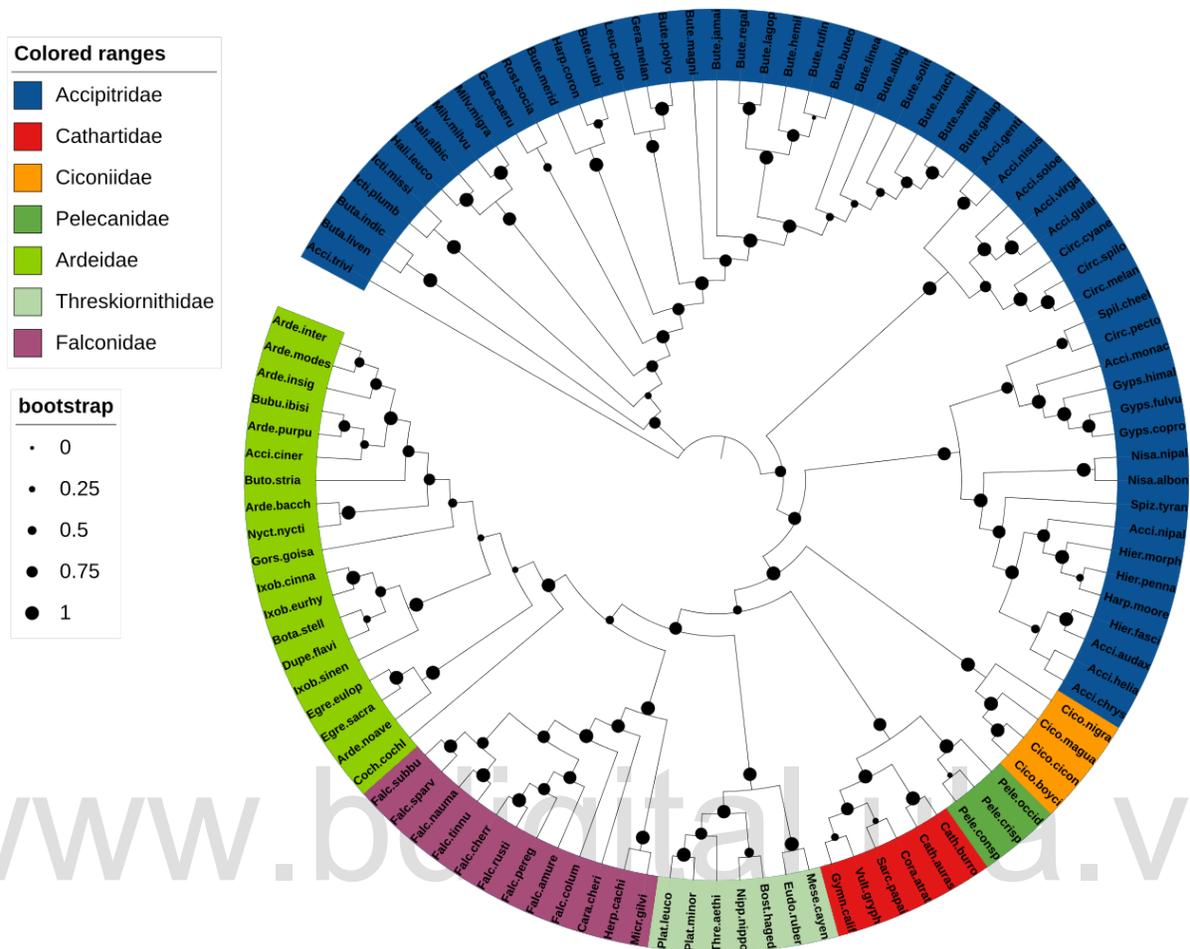


Figura 48. Árbol filogenético inferido con el marcador mitocondrial ND6, para las siete familias de aves empleadas en la determinación del grupo hermano de los buitres americanos

9.4.2 Árboles nucleares

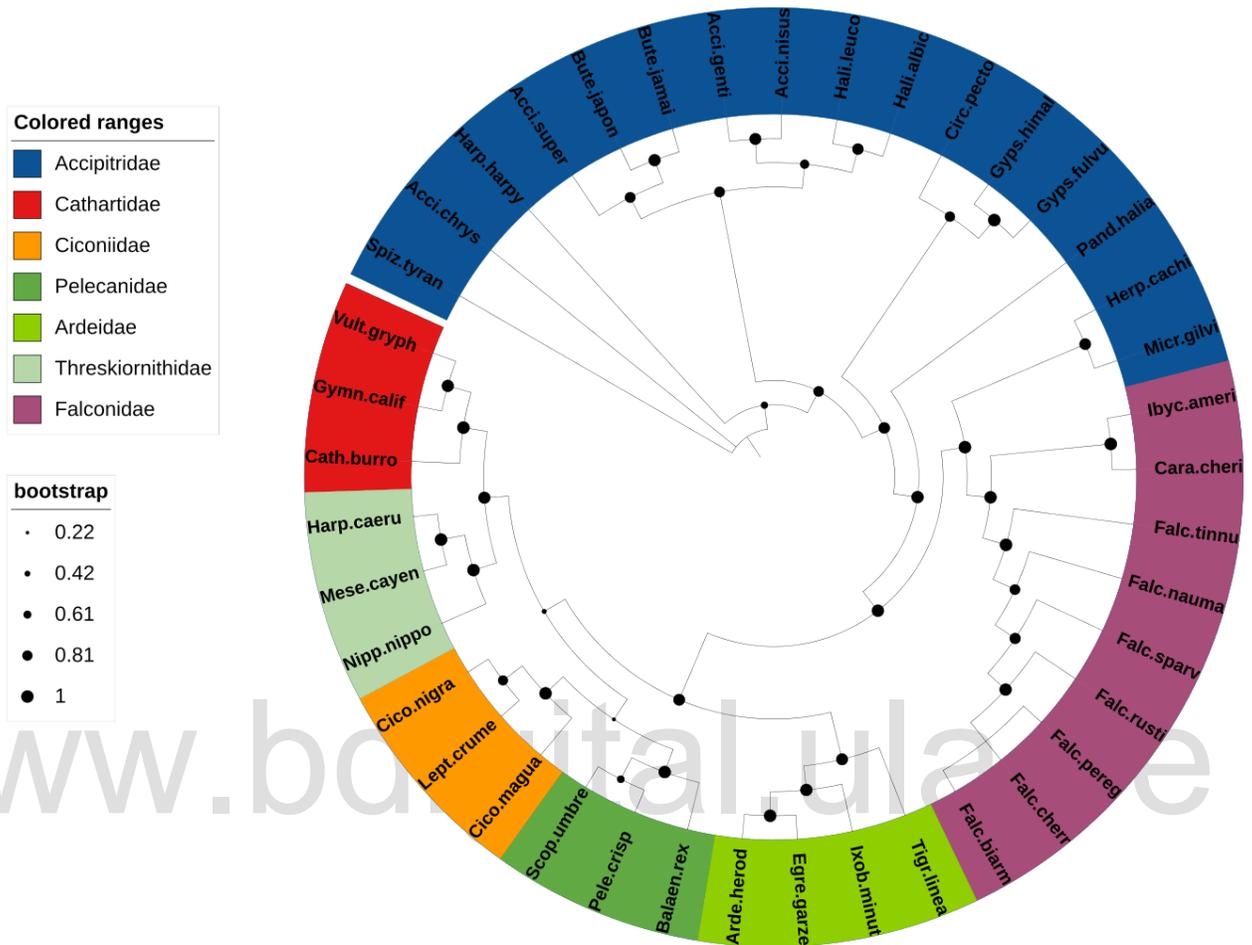


Figura 49. Árbol filogenético inferido con el marcador nuclear PRDM16, para las siete familias de aves empleadas en la determinación del grupo hermano de los buitres americanos

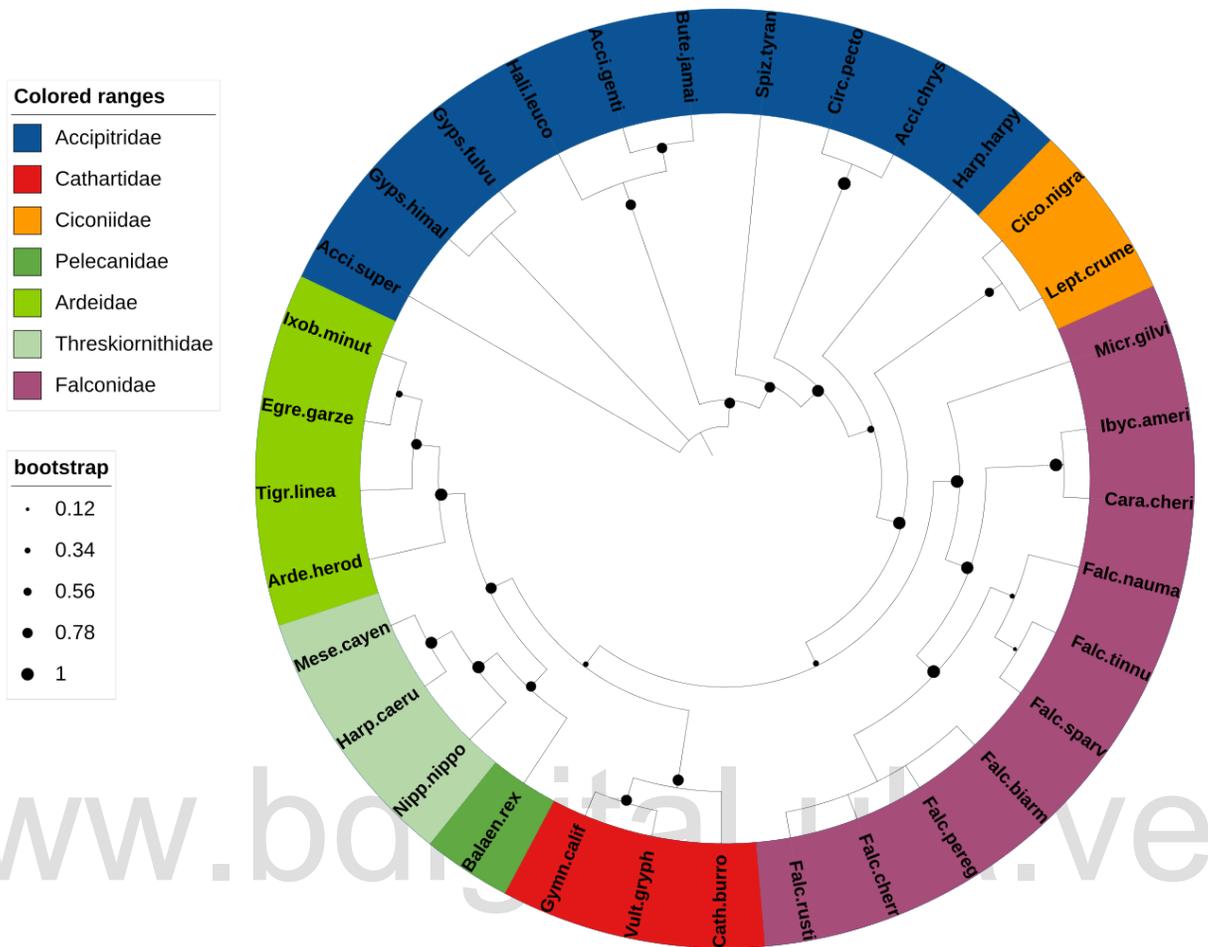


Figura 50. Árbol filogenético inferido con el marcador nuclear MAST2, para las siete familias de aves empleadas en la determinación del grupo hermano de los buitres americanos

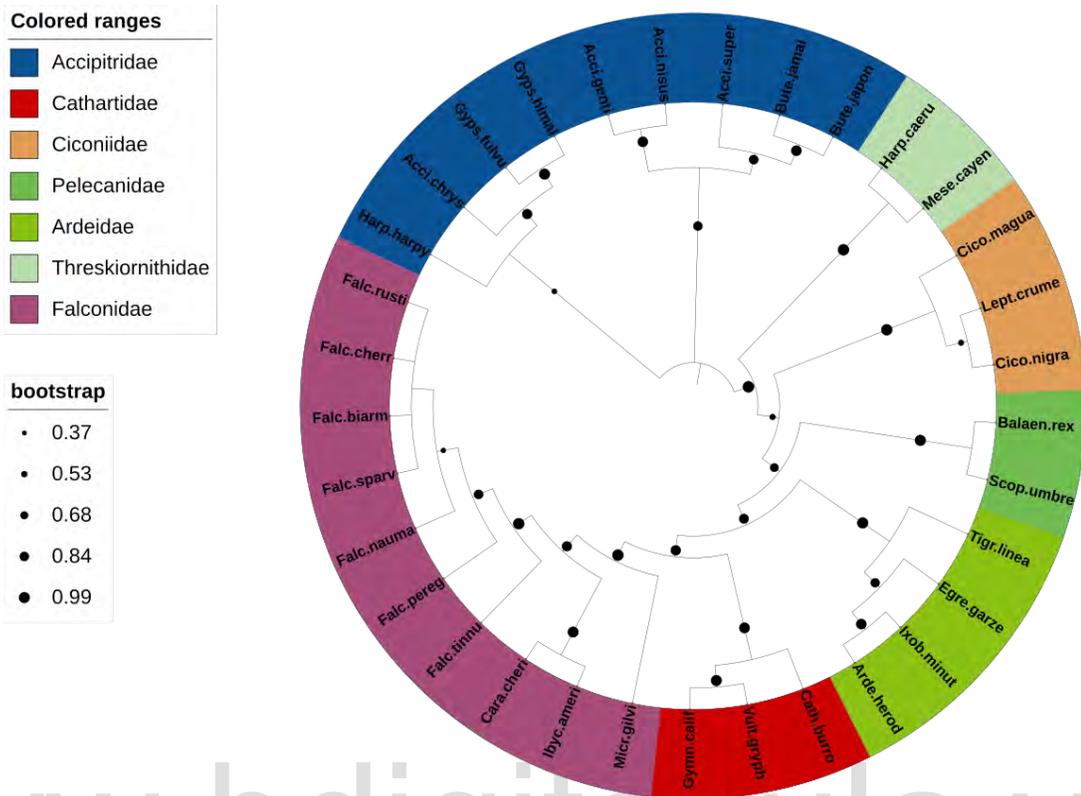


Figura 51. Árbol filogenético inferido con el marcador nuclear ADGRL2, para las siete familias de aves empleadas en la determinación del grupo hermano de los buitres americanos

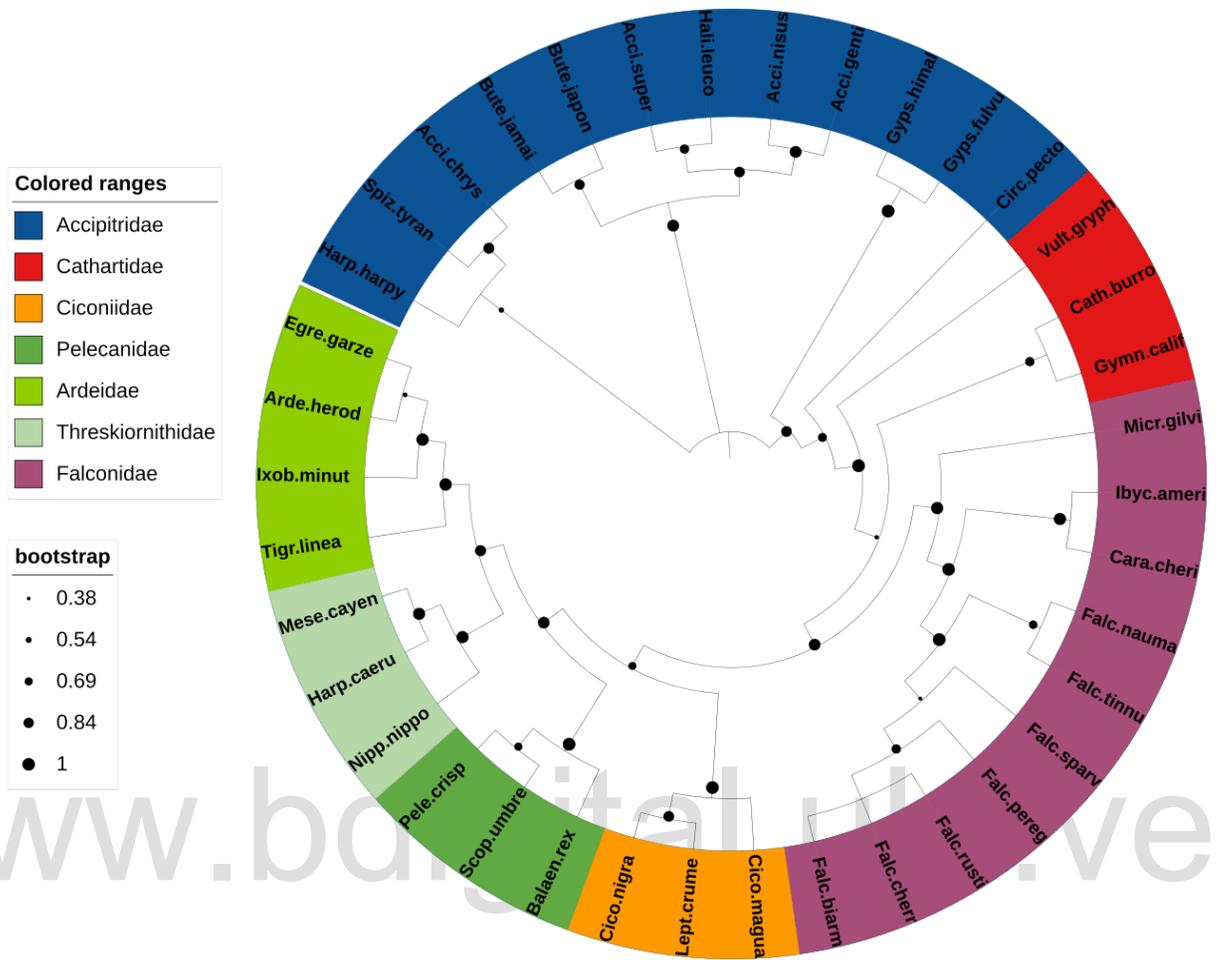


Figura 52. Árbol filogenético inferido con el marcador nuclear OLFML3, para las siete familias de aves empleadas en la determinación del grupo hermano de los buitres americanos

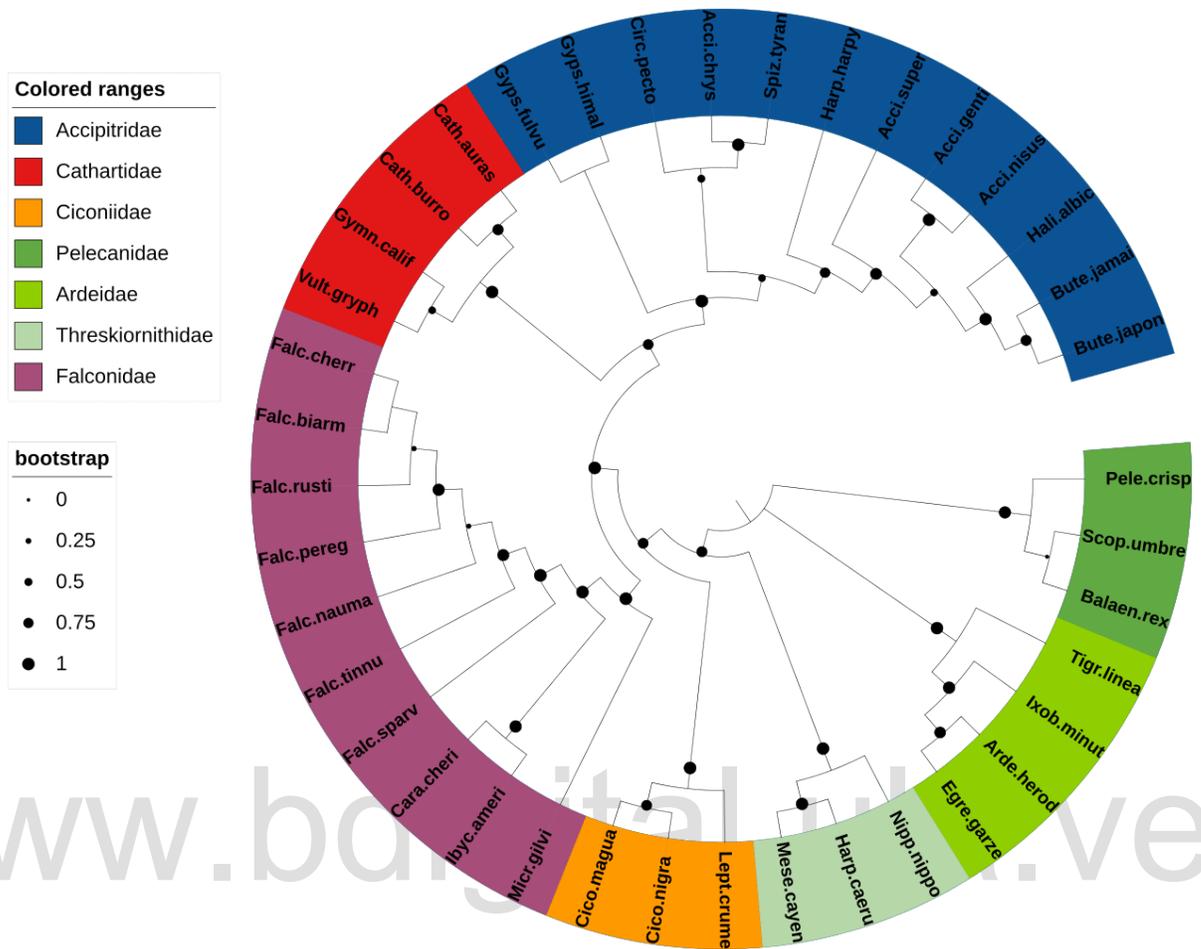


Figura 53. Árbol filogenético inferido con el marcador nuclear B3GALT2, para las siete familias de aves empleadas en la determinación del grupo hermano de los buitres americanos

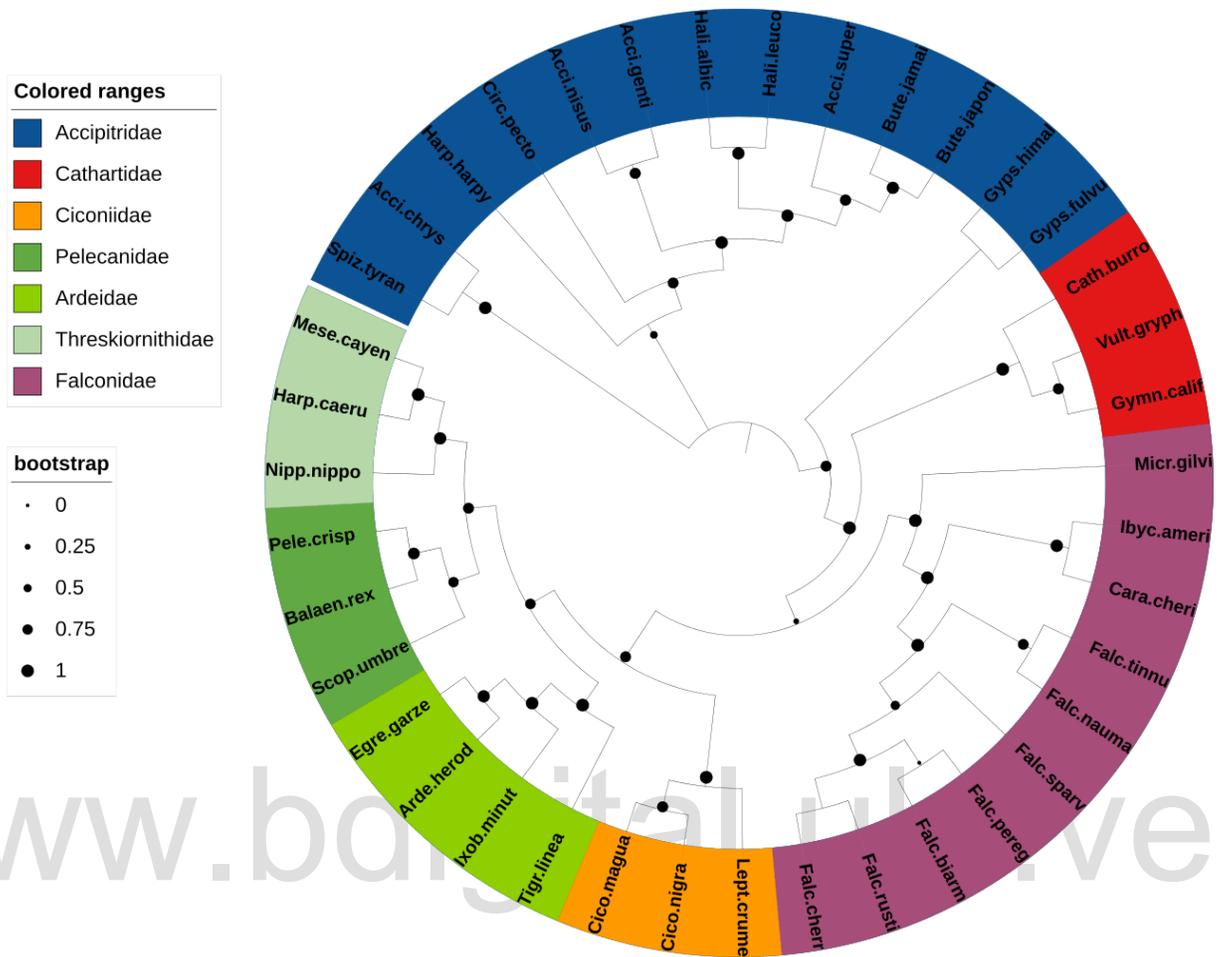


Figura 54. Árbol filogenético inferido con el marcador nuclear CAMSAP2, para las siete familias de aves empleadas en la determinación del grupo hermano de los buitres americanos

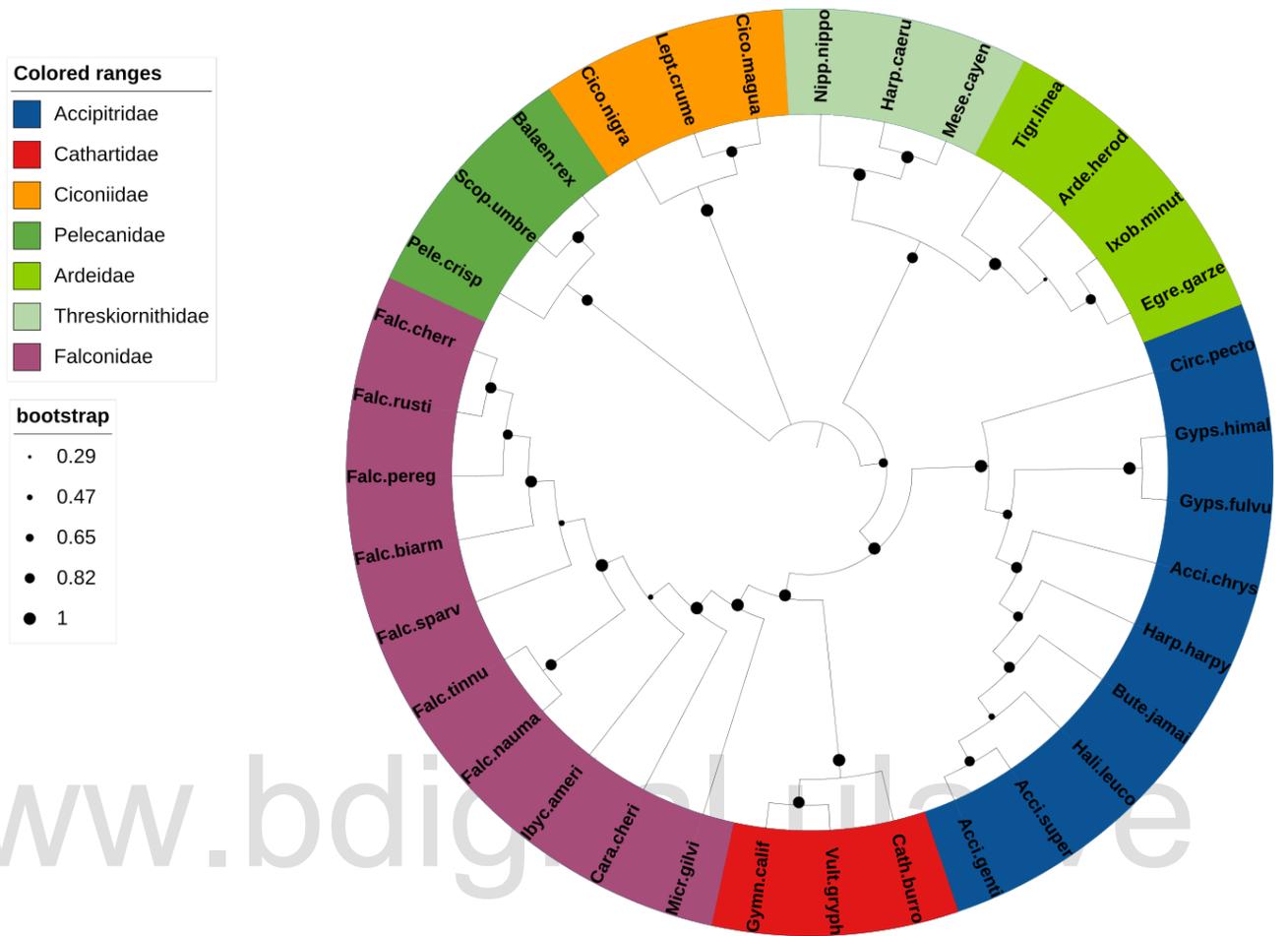


Figura 56. Árbol filogenético inferido con el marcador nuclear FIGN, para las siete familias de aves empleadas en la determinación del grupo hermano de los buitres americanos

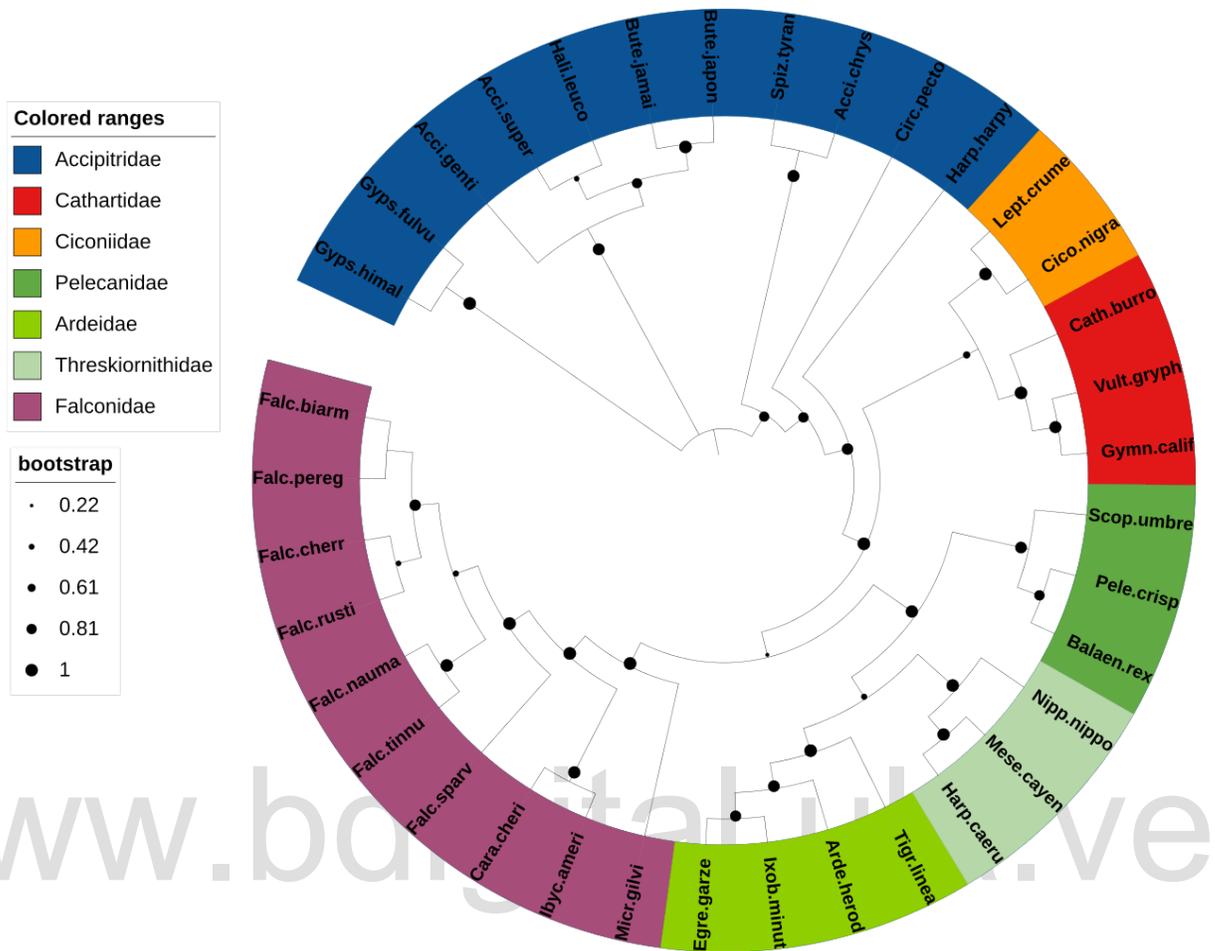


Figura 57. Árbol filogenético inferido con el marcador nuclear RAPH1, para las siete familias de aves empleadas en la determinación del grupo hermano de los buitres americanos

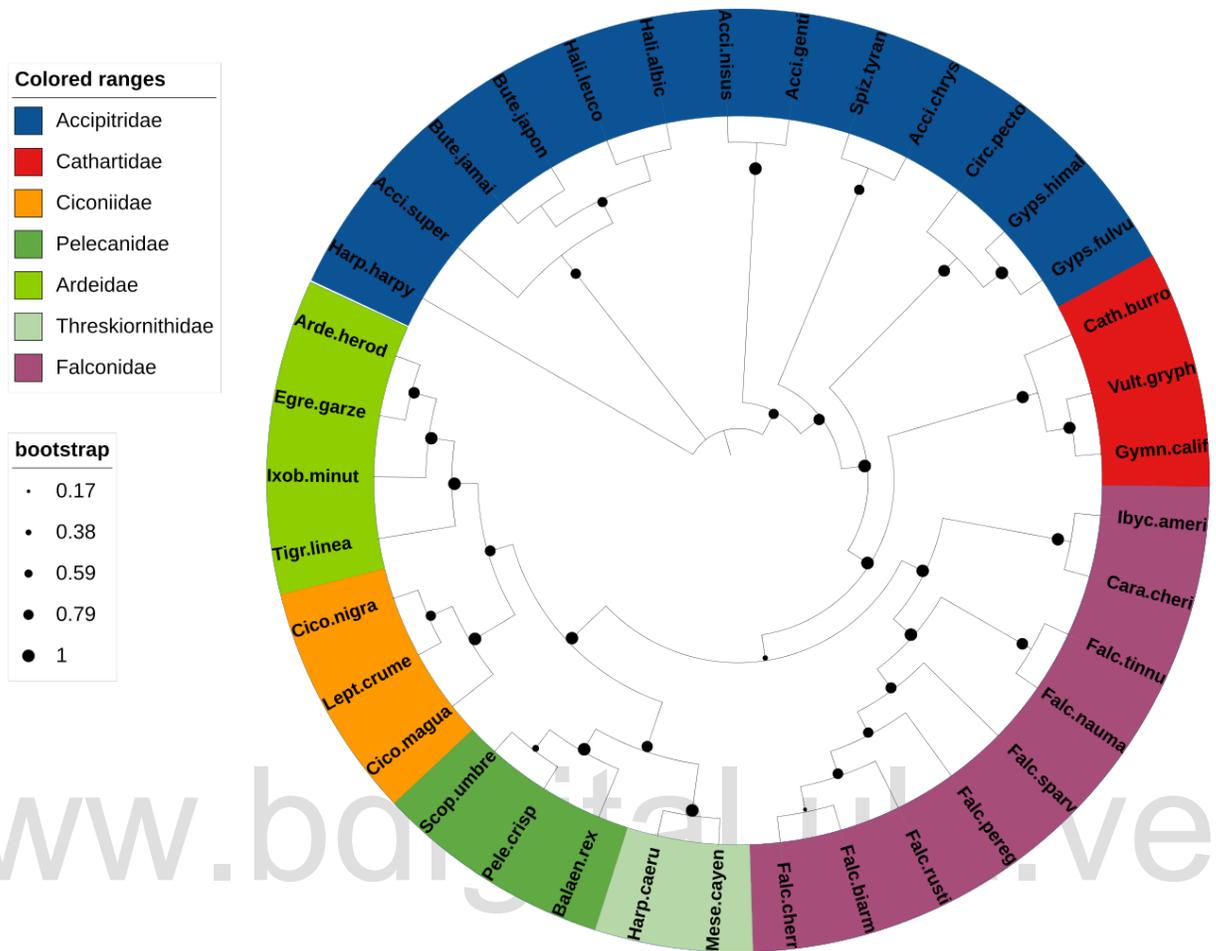


Figura 58. Árbol filogenético inferido con el marcador nuclear ACKR3, para las siete familias de aves empleadas en la determinación del grupo hermano de los buitres americanos

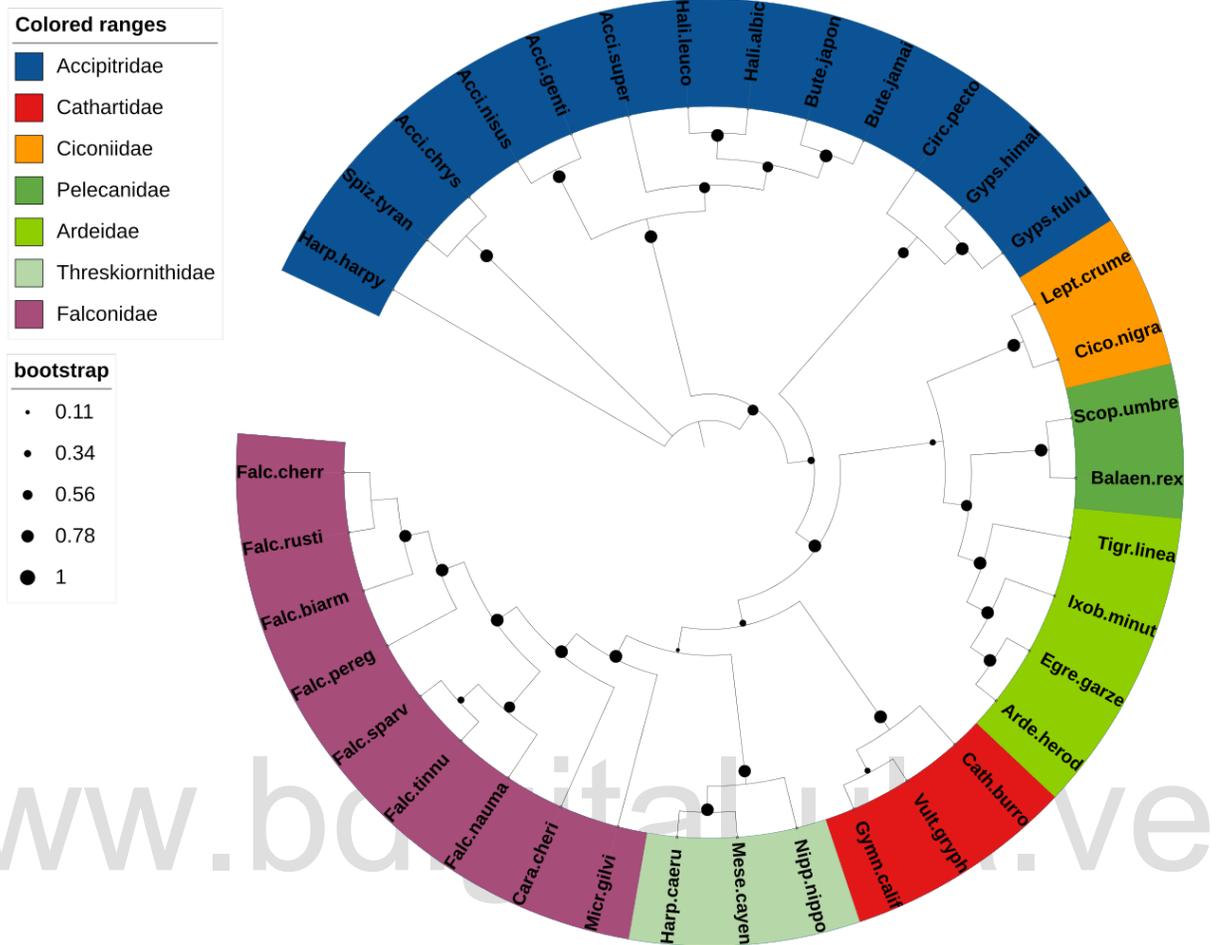


Figura 60. Árbol filogenético inferido con el marcador nuclear GOLGA4, para las siete familias de aves empleadas en la determinación del grupo hermano de los buitres americanos

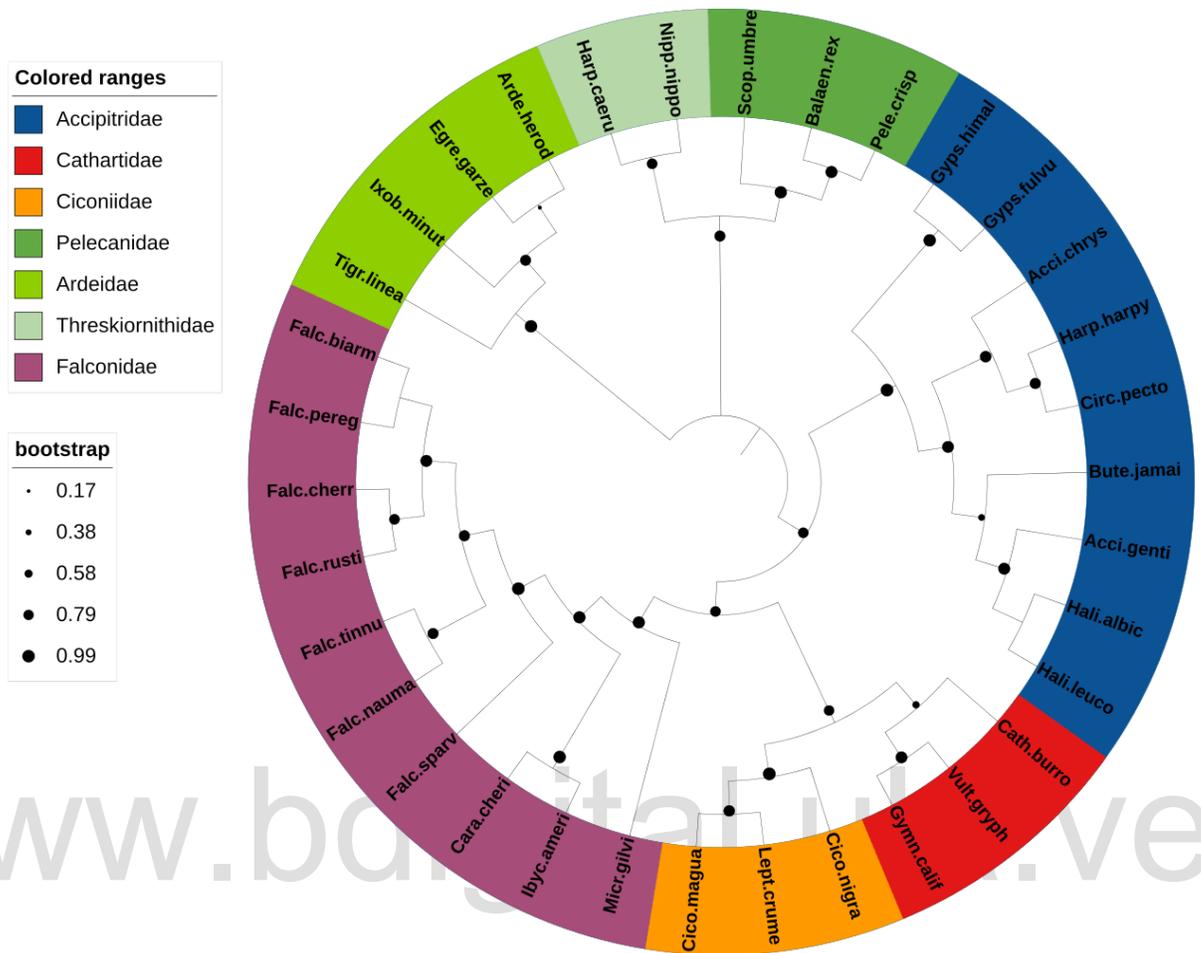


Figura 61. Árbol filogenético inferido con el marcador nuclear ZBTB20, para las siete familias de aves empleadas en la determinación del grupo hermano de los buitres americanos

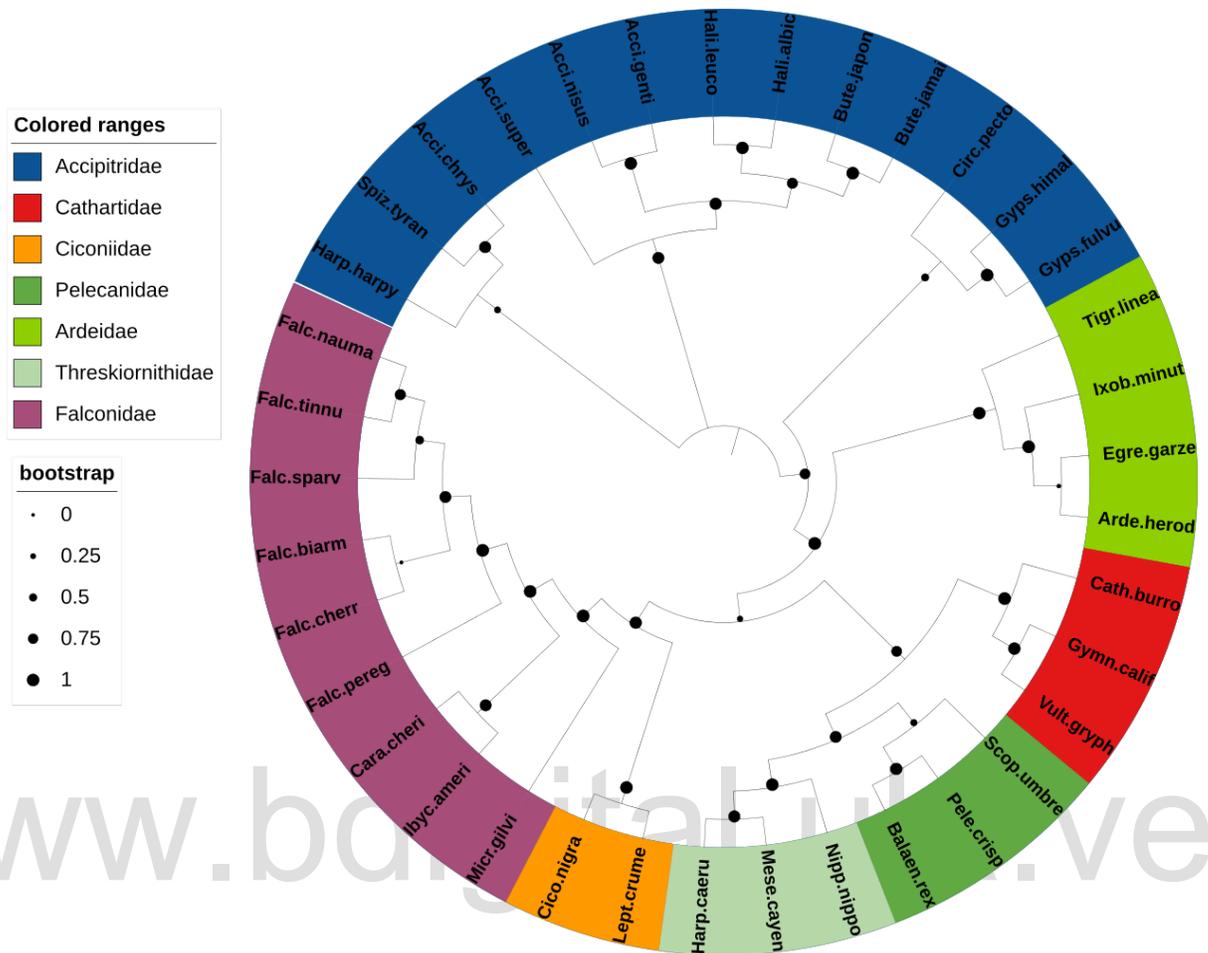


Figura 63. Árbol filogenético inferido con el marcador nuclear RXP3, para las siete familias de aves empleadas en la determinación del grupo hermano de los buitres americanos

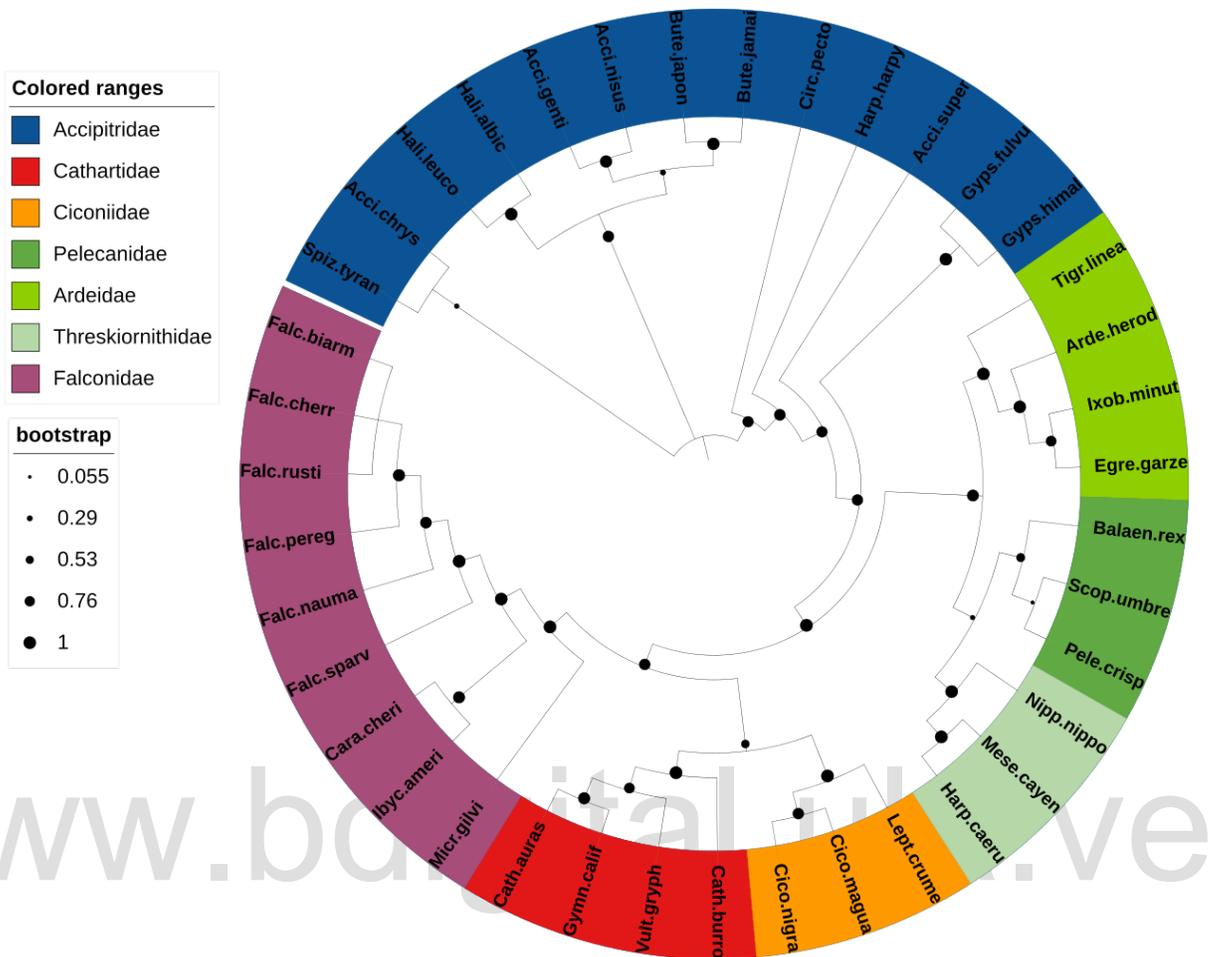


Figura 64. Árbol filogenético inferido con el marcador nuclear RREB1, para las siete familias de aves empleadas en la determinación del grupo hermano de los buitres americanos

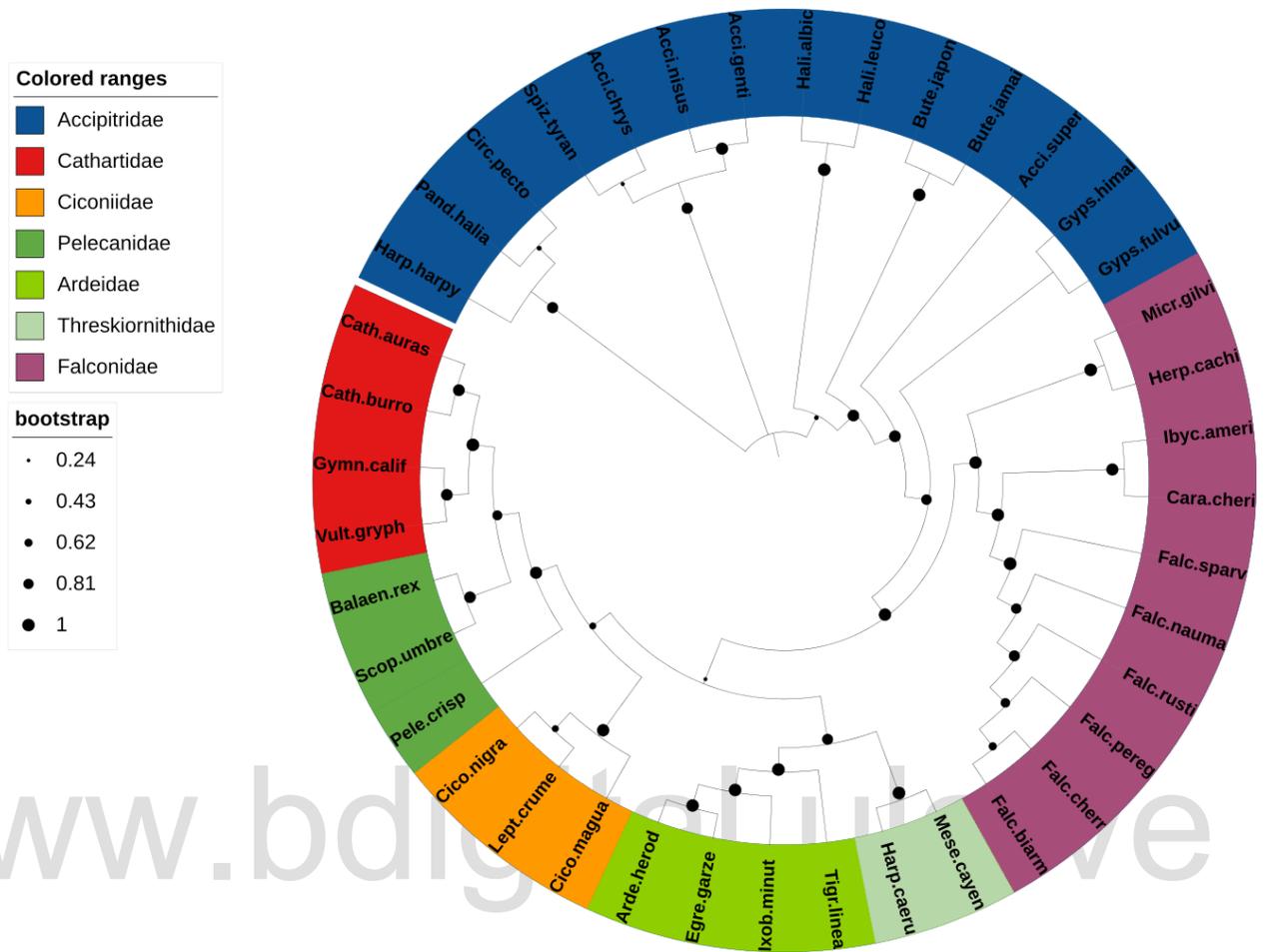


Figura 65. Árbol filogenético inferido con el marcador nuclear HIVEP2, para las siete familias de aves empleadas en la determinación del grupo hermano de los buitres americanos

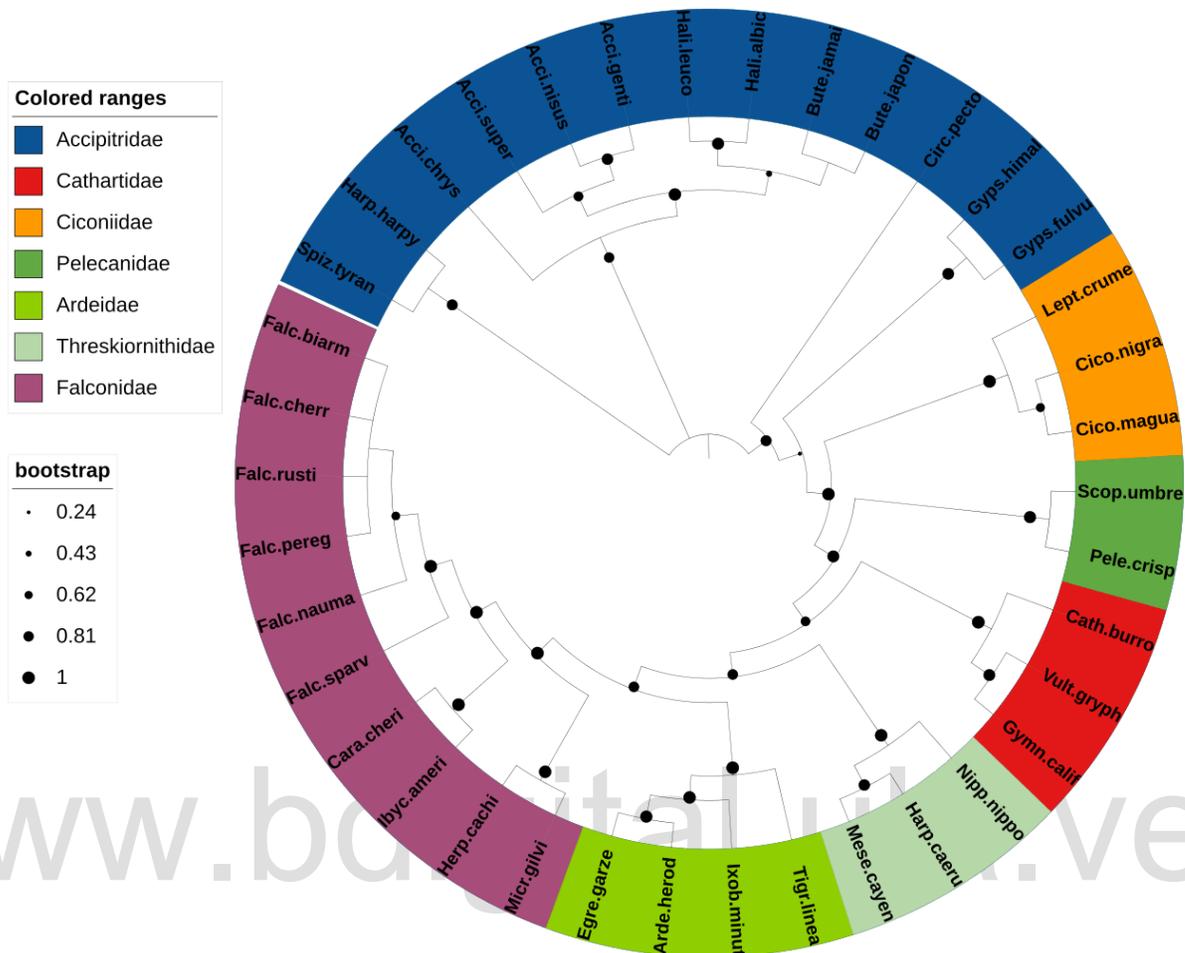


Figura 66. Árbol filogenético inferido con el marcador nuclear FBXO30, para las siete familias de aves empleadas en la determinación del grupo hermano de los buitres americanos

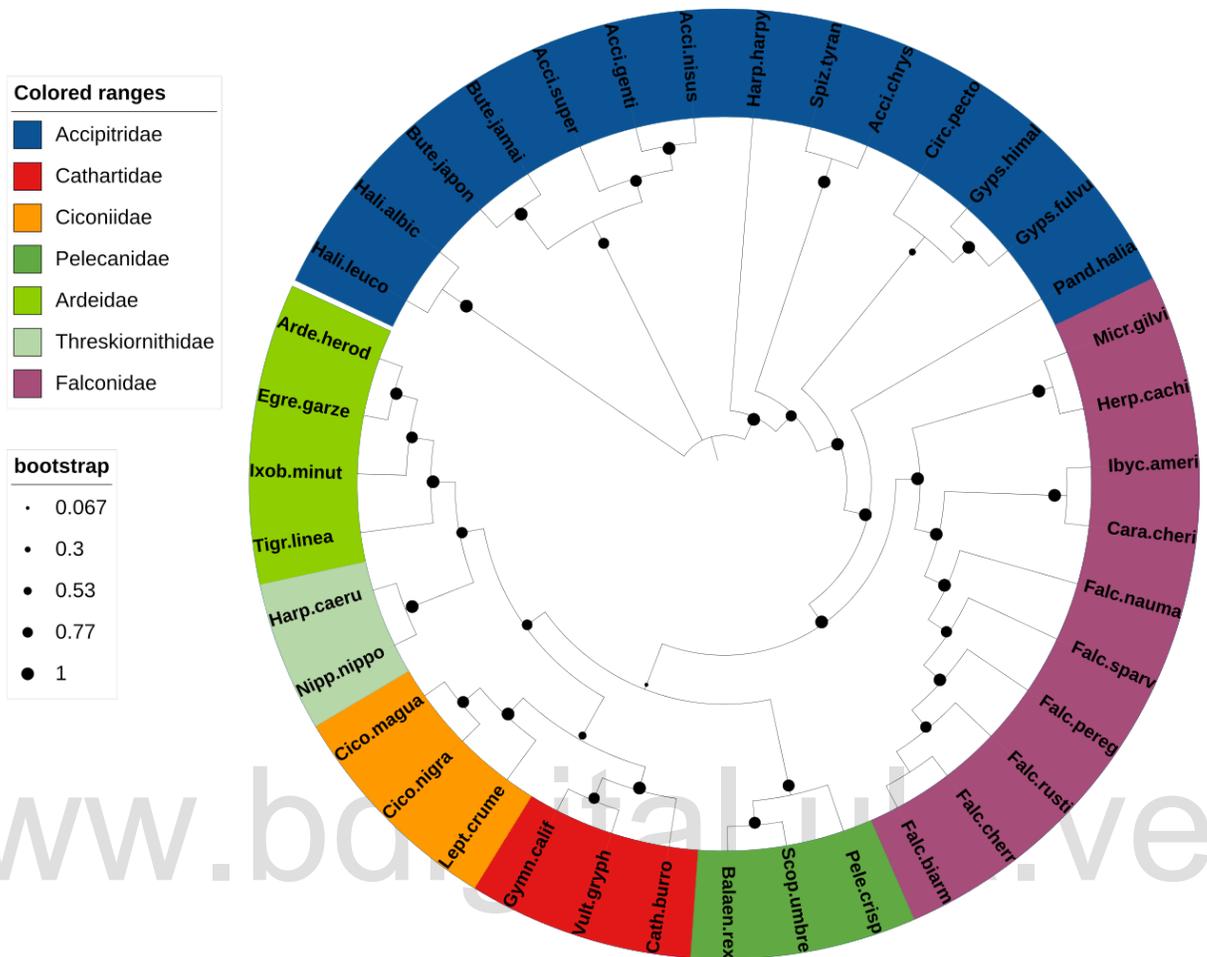


Figura 67. Árbol filogenético inferido con el marcador nuclear AKAP12, para las siete familias de aves empleadas en la determinación del grupo hermano de los buitres americanos

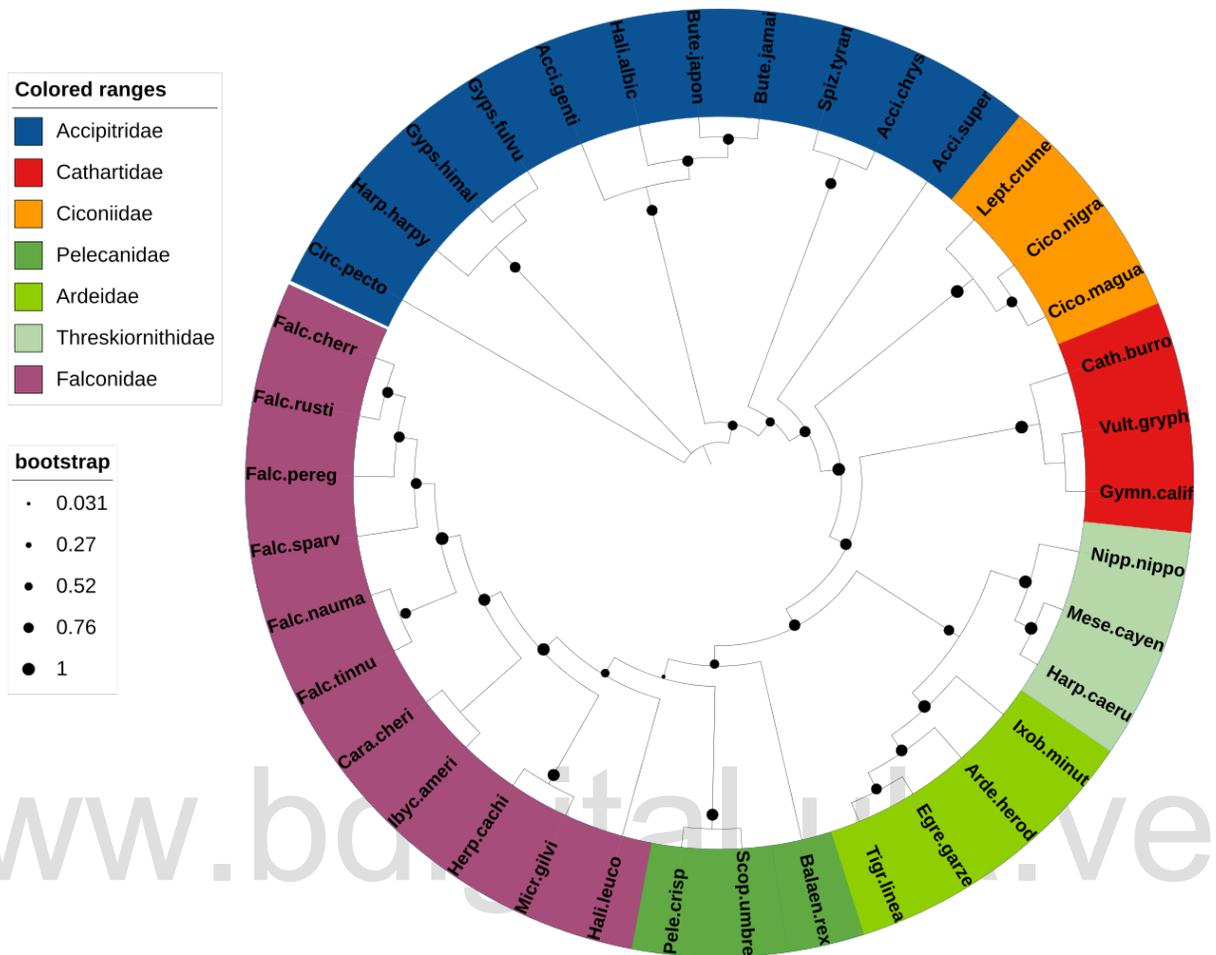


Figura 69. Árbol filogenético inferido con el marcador nuclear ADARB2, para las siete familias de aves empleadas en la determinación del grupo hermano de los buitres americanos

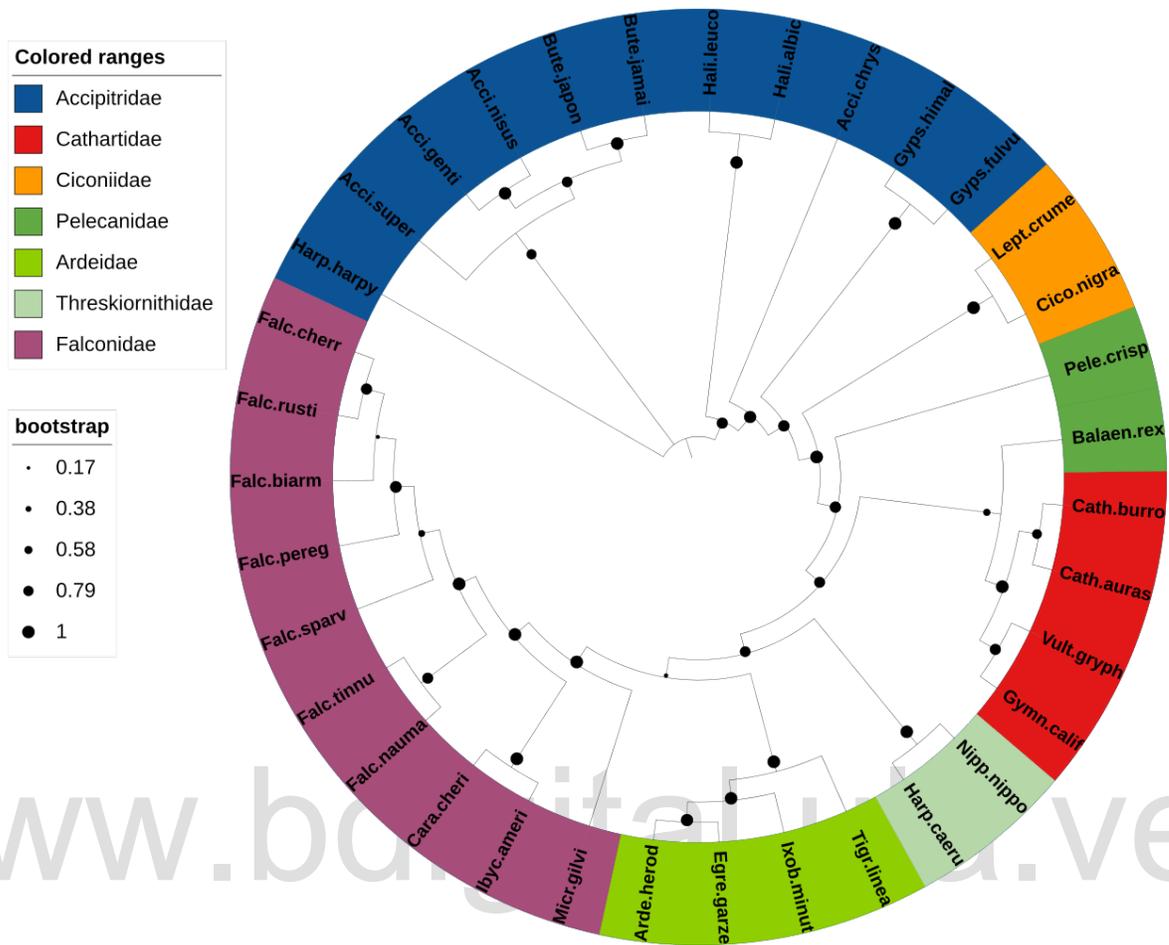


Figura 70. Árbol filogenético inferido con el marcador nuclear FAT3, para las siete familias de aves empleadas en la determinación del grupo hermano de los buitres americanos

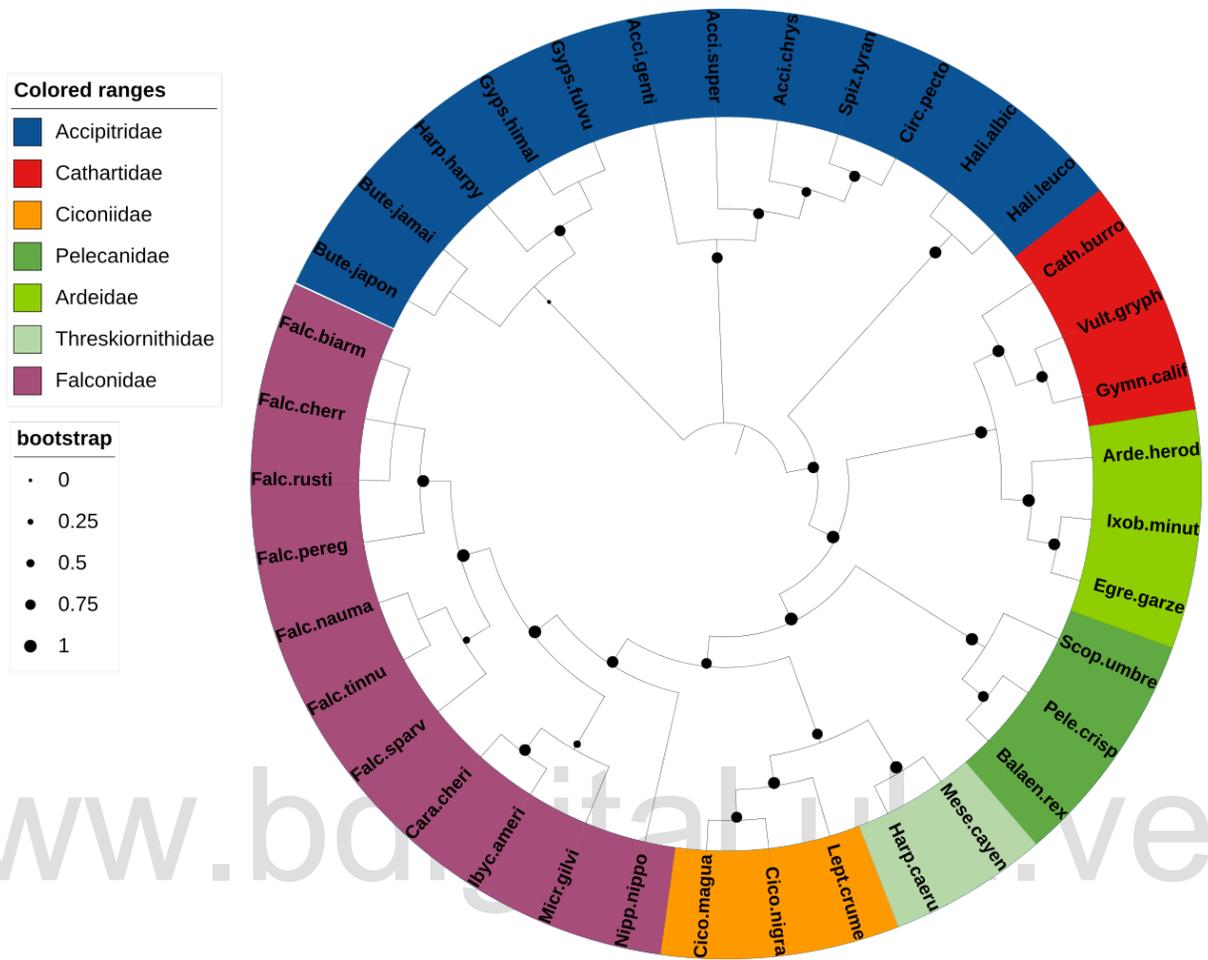


Figura 71. Árbol filogenético inferido con el marcador nuclear GPR12, para las siete familias de aves empleadas en la determinación del grupo hermano de los buitres americanos

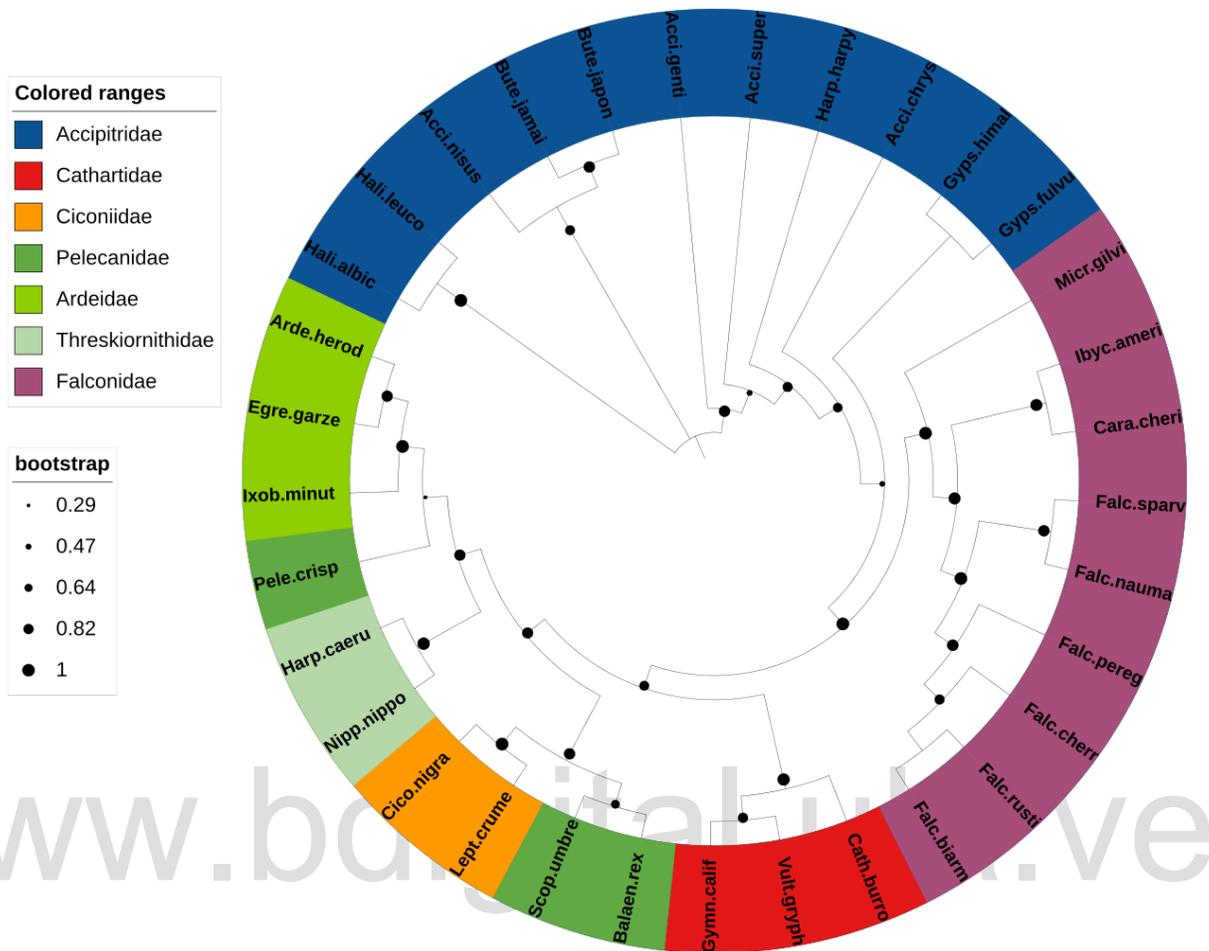


Figura 74. Árbol filogenético inferido con el marcador nuclear MYADML2, para las siete familias de aves empleadas en la determinación del grupo hermano de los buitres americanos

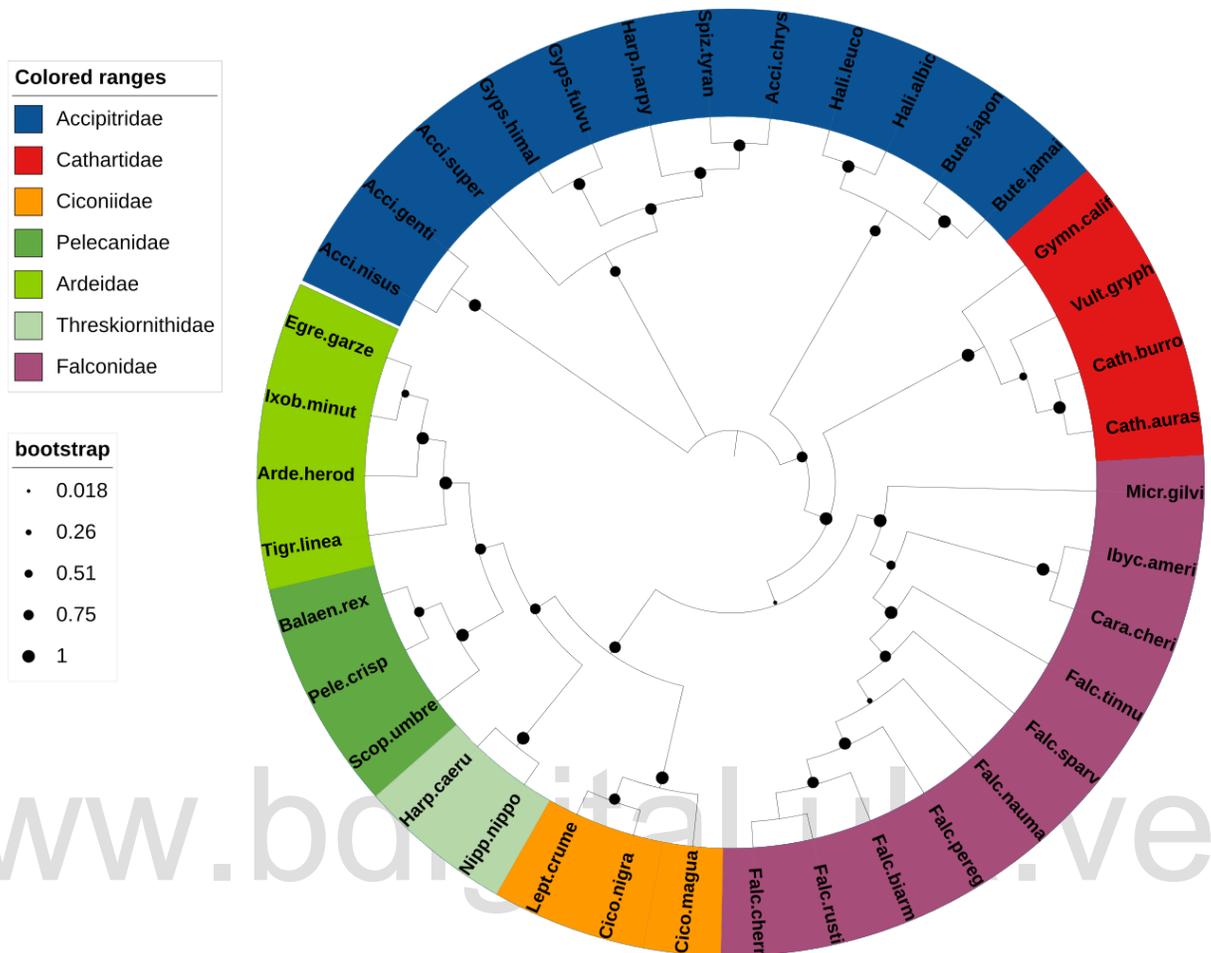


Figura 75. Árbol filogenético inferido con el marcador nuclear TSHZ3, para las siete familias de aves empleadas en la determinación del grupo hermano de los buitres americanos

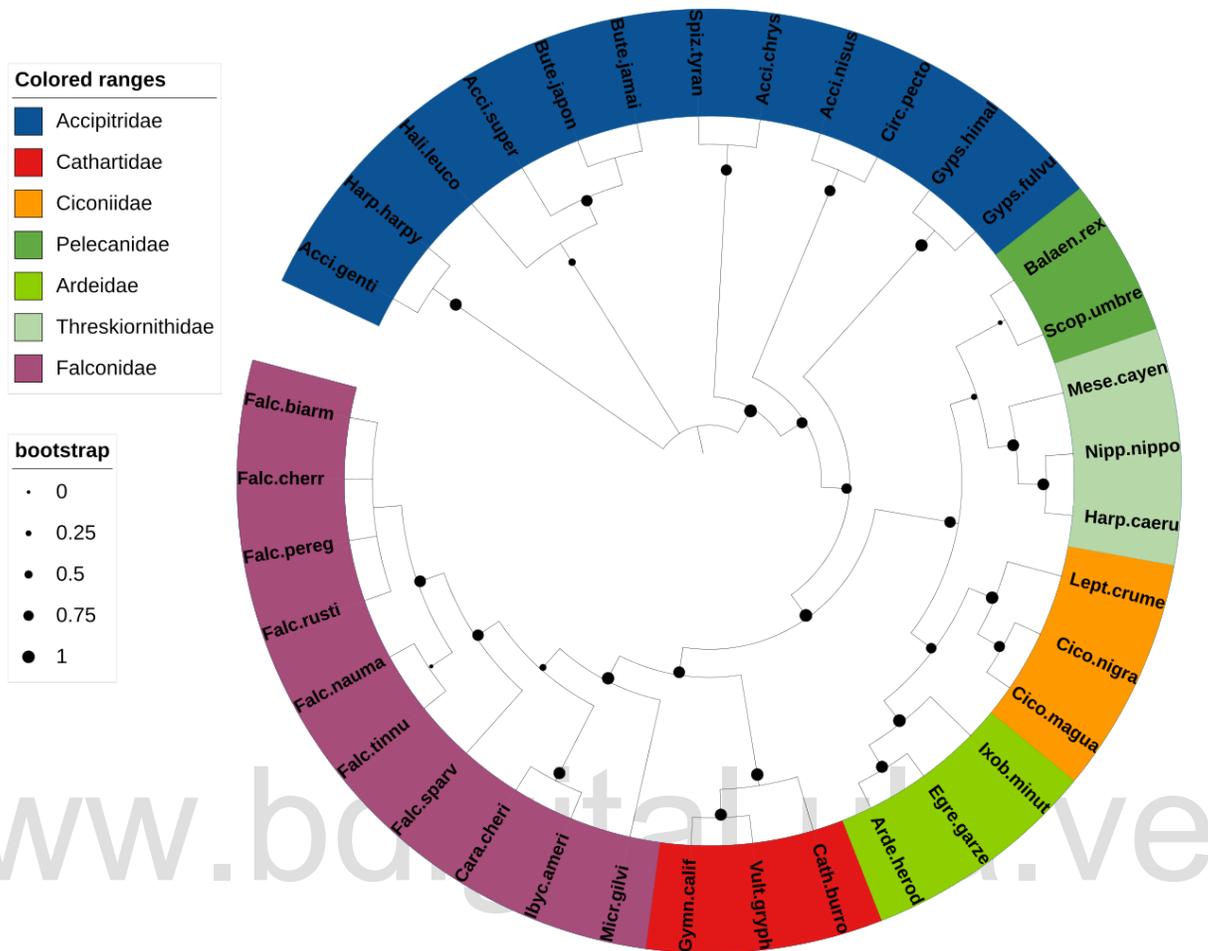


Figura 77. Árbol filogenético inferido con el marcador nuclear NEXMIF, para las siete familias de aves empleadas en la determinación del grupo hermano de los buitres americanos

Buckley, N. J., Kluever, B. M., Driver, R., & Rush, S. A. (2022). Black Vulture (*Coragyps atratus*), version 2.0. *Birds of the World*. Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, NY, USA. <https://doi.org/10.2173/bow.blkvul.02>

Chan, A. H. E., Chaisiri, K., Morand, S., Saralamba, N., & Thaenkham, U. (2020). Evaluation and utility of mitochondrial ribosomal genes for molecular systematics of parasitic nematodes. *Parasites & Vectors*, *13*(1), 364. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04242-8>

Cho, Y. S., Jun, J., Kim, J. A., Kim, H.-M., Chung, O., Kang, S. G., Park, J. Y., Kim, H. J., Kim, S., Kim, H. J., Jang, J. H., Na, K. J., Kim, J., Park, S. G., Lee, H. Y., Manica, A., Mindell, D. P., Fuchs, J., Edwards, J. S., ... Bhak, J. (2019). Raptor genomes reveal evolutionary signatures of predatory and nocturnal lifestyles. *Genome Biology*, *20*(1), 181. <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1793-1>.

Cho, S., Zwick, A., Regier, J. C., Mitter, C., Cummings, M. P., Yao, J., Du, Z., Zhao, H., Kawahara, A. Y., Weller, S., Davis, D. R., Baixeras, J., Brown, J. W., & Parr, C. (2011). Can deliberately incomplete gene sample augmentation improve a phylogeny estimate for the advanced moths and butterflies (Hexapoda: Lepidoptera)? *Systematic biology*, *60*(6), 782–796. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syr079>

Chung, O., Jin, S., Cho, Y. S., Lim, J., Kim, H., Jho, S., Kim, H.-M., Jun, J., Lee, H., Chon, A., Ko, J., Edwards, J., Weber, J. A., Han, K., O'Brien, S. J., Manica, A., Bhak, J., & Paek, W. K. (2015). The first whole genome and transcriptome of the cinereous vulture reveals adaptation in the gastric and immune defense systems and possible convergent evolution between the Old and New World vultures. *Genome Biology*, *16*(1), 215. <https://doi.org/10.1186/s13059-015-0780-4>

Clark, W. S., Christie, D. A., & Kirwan, G. M. (2020a). Red-headed Vulture (*Sarcogyps calvus*), version 1.0. *Birds of the World. Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, NY, USA*.
<https://doi.org/DOI: 10.2173/bow.rehvu1.01>

Clark, W. S., Christie, D. A., & Kirwan, G. M. (2020b). White-rumped Vulture (*Gyps bengalensis*), versión 1.0. *Birds of the World. Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, NY, USA*. <https://doi.org/10.2173/bow.whrvu1.01>

Clark, W. S., Christie, D. A., & Marks, J. S. (2020). Indian Vulture (*Gyps indicus*), versión 1.0. *Birds of the World. Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, NY, USA*.
<https://doi.org/10.2173/bow.indvu1.01>

Clark, W. S., Kirwan, G. M., Marks, J. S., & Sharpe, C. J. (2020). Himalayan Griffon (*Gyps himalayensis*), versión 1.0. *Birds of the World. Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, NY, USA*. <https://doi.org/10.2173/bow.himgri1.01>

Cracraft, J., Barker Keith, F., Braun, M. J., Harshman, J., Dike, G. J., Feinstein, J., Stanley, S., Cibois, A., Schikler, P., Beresford, P., Moreno-García, J., Sorenson, M. D., Yuri, T., & Mindell, D. P. (2004). Chapter 27: Phylogenetic Relationships among Modern Birds (Neornithes): Toward an Avian Tree of Life. En *Assembling The Tree of Life* (pp. 468-489). Oxford University Press.

Curtis, H., Barnes, S. N., Schnek, A., & Massarini, A. (2008a). Capítulo 9: Las bases químicas de la herencia: El DNA y su replicación. En *Biología* (7ma ed., pp. 442-454). Editorial Médica Panamericana, Madrid, España.

Curtis, H., Barnes, S. N., Schnek, A., & Massarini, A. (2008b). Capítulo 23: La clasificación de los organismos. En *Biología* (7ma ed., pp. 442-454). Editorial Médica Panamericana, Madrid, España.

del Hoyo, J., Collar, N., & Marks, J. S. (2020). Slender-billed Vulture (*Gyps tenuirostris*), version 1.0. *Birds of the World. Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, NY, USA.*
<https://doi.org/10.2173/bow.slbvul1.01>

Diamond, J. M. (1966). Zoological classification system of a primitive people. *Science*, *151*, 1102-1104. <https://doi.org/10.1126/science.151.3714.1102>

Edgar, R. C. (2004). MUSCLE: A multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity. *BMC Bioinformatics*, *5*(1), 113. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-5-113>

Eitnienar, J. C. (2020). Lesser Yellow-headed Vulture (*Cathartes burrovianus*), version 1.0. *Birds of the World. Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, NY, USA.*
<https://doi.org/10.2173/bow.lyhvu1.01>

Ericson, P. G. P., Anderson, C. L., Britton, T., Elzanowski, A., Johansson, U. S., Källersjö, M., Ohlson, J. I., Parsons, T. J., Zuccon, D., & Mayr, G. (2006). Diversification of Neoaves: Integration of molecular sequence data and fossils. *Biology Letters*, *2*(4), 543-547.
<https://doi.org/10.1098/rsbl.2006.0523>

Figuroa, A., McKelvy, A. D., Grismer, L. L., Bell, C. D., & Lailvaux, S. P. (2016). A Species-Level Phylogeny of Extant Snakes with Description of a New Colubrid Subfamily and Genus. *PloS one*, *11*(9), e0161070. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0161070>

Finkelstein, M., Kuspa, Z., Snyder, N. F., & Schmitt, N. J. (2020). California Condor (*Gymnogyps californianus*), version 1.0. *Birds of the World. Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, NY, USA.* <https://doi.org/10.2173/bow.calcon.01>

Gibb, G. C., Kennedy, M., & Penny, D. (2013). Beyond phylogeny: Pelecaniform and ciconiiform birds, and long-term niche stability. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 68(2), 229-238. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2013.03.021>

Grover, A., & Sharma, P. C. (2016). Development and use of molecular markers: Past and present. *Critical Reviews in Biotechnology*, 36(2), 290-302. <https://doi.org/10.3109/07388551.2014.959891>

Hackett, S. J., Kimball, R. T., Reddy, S., Bowie, R. C. K., Braun, E. L., Braun, M. J., Chojnowski, J. L., Cox, W. A., Han, K.-L., Harshman, J., Huddleston, C. J., Marks, B. D., Miglia, K. J., Moore, W. S., Sheldon, F. H., Steadman, D. W., Witt, C. C., & Yuri, T. (2008). A Phylogenomic Study of Birds Reveals Their Evolutionary History. *Science*, 320(5884), 1763-1768. <https://doi.org/10.1126/science.1157704>

Hackett Salvador, A. (2022). Eurasian Griffon (*Gyps fulvus*), version 3.0. *Birds of the World*. Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, NY, USA. <https://doi.org/10.2173/bow.eurgr1.03>

Hackett Salvador, A. (2023). Cinereous Vulture (*Aegyptius monachus*), version 2.0. *Birds of the World*. Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, NY, USA. <https://doi.org/10.2173/bow.cinvul1.02>

Hall, T. (2004). *BioEdit versión 7.0* [Windows]. www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html

Hickman, Jr, C. P., Roberts, L. S., Larson, A., I'Anson, H., & Eisenhour, D. J. (2000a). Capítulo 11: Clasificación y filogenia de los animales. En *Principios Integrales de Zoología* (10ma ed., pp. 200-213). McGRAW-HILL/ Interamericana S.A.

Hickman, Jr, C. P., Roberts, L. S., Larson, A., I'Anson, H., & Eisenhour, D. J. (2000b). Capítulo 30: Aves. En *Principios Integrales de Zoología* (10ma ed., pp. 574-599). McGRAW-HILL/ Interamericana S.A.

Holste, M., Ruth, J. M., & Eitniear, J. C. (2020). King Vulture (*Sarcoramphus papa*), version 1.0.

Birds of the World. Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, NY, USA.

<https://doi.org/10.2173/bow.kinvul1.01>

Houston, D., Kirwan, G. M., Christie, D. A., & Sharpe, C. J. (2020). Andean Condor (*Vultur gryphus*), version 1.0. *Birds of the World. Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, NY, USA.*

<https://doi.org/10.2173/bow.andcon1.01>

Jarvis, E. D., Mirarab, S., Aberer, A. J., Li, B., Houde, P., Li, C., Ho, S. Y. W., Faircloth, B. C., Nabholz, B., Howard, J. T., Suh, A., Weber, C. C., Da Fonseca, R. R., Li, J., Zhang, F., Li, H., Zhou, L., Narula, N., Liu, L., ... Zhang, G. (2014). Whole-genome analyses resolve early branches in the tree of life of modern birds. *Science*, *346*(6215), 1320-1331.

<https://doi.org/10.1126/science.1253451>

Jones, M. F. (2020). Greater Yellow-headed Vulture (*Cathartes melambrotus*), version 1.0. *Birds of the World. Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, NY, USA.*

<https://doi.org/10.2173/bow.gyhvul1.01>

Katoh, K., Misawa, K., Kuma, K., & Miyata, T. (2002). MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Research*, *30*(14), 3059-3066. <https://doi.org/10.1093/nar/gkf436>

Kemp, A. C., Christie, D. A., Kirwan, G. M., Garcia, E. F. J., & Sharpe, C. J. (2020). White-backed Vulture (*Gyps africanus*), versión 10. *Birds of the World. Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, NY, USA.* <https://doi.org/10.2173/bow.whbvul1.01>

Kemp, A. C., Christie, D. A., Kirwan, G. M., & Sharpe, C. J. (2020a). Cape Griffon (*Gyps coprotheres*), versión 1.0. *Birds of the World. Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, NY, USA.* <https://doi.org/10.2173/bow.capgri1.01>

- Kemp, A. C., Christie, D. A., Kirwan, G. M., & Sharpe, C. J. (2020b). Rüppell's Griffon (*Gyps rueppelli*), version 1.0. *Birds of the World. Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, NY, USA.*
<https://doi.org/10.2173/bow.ruegri1.01>
- Kemp, A. C., Christie, D. A., Kirwan, G. M., & Sharpe, C. J. (2020c). White-headed Vulture (*Trigonoceps occipitalis*), version 1.0. *Birds of the World. Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, NY, USA.* <https://doi.org/10.2173/bow.whhvul1.01>
- Kemp, A. C., Christie, D. A., Marks, J. S., & Sharpe, C. J. (2020). Hooded Vulture (*Necrosyrtes monachus*), version 1.0. *Birds of the World. Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, NY, USA.*
<https://doi.org/10.2173/bow.hoovul1.01>
- Kemp, A. C., Christie, D. A., & Sharpe, C. J. (2020). Lappet-faced Vulture (*Torgos tracheliotos*), version 1.0. *Birds of the World. Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, NY, USA.*
<https://doi.org/10.2173/bow.lafvul1.01>
- Kemp, A. C., & Kirwan, G. M. (2020). Palm-nut Vulture (*Gypohierax angolensis*), version 1.0. *Birds of the World. Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, NY, USA.*
<https://doi.org/10.2173/bow.panvul1.01>
- Kimball, R. T., Guido, M., Hosner, P. A., & Braun, E. L. (2021). When good mitochondria go bad: Cyto-nuclear discordance in landfowl (Aves: Galliformes). *Gene*, 801, 145841.
<https://doi.org/10.1016/j.gene.2021.145841>
- Kirk, D. A., & Mossman, M. J. (2020). Turkey Vulture (*Cathartes aura*), version 1.0. *Birds of the World. Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, NY, USA.*
<https://doi.org/10.2173/bow.turvul.01>

- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). *MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms* (Versión 10ma) [Windows].
<https://academic.oup.com/mbe/article/35/6/1547/4990887>
- Lehninger, A. L. (1985). Capítulo 31: El DNA y la estructura del material genético. En *Bioquímica* (2da ed., pp. 871-902). Ediciones Omega, S.A.
- Letunic, I., & Bork, P. (2021). *Nucleic Acids Research* [Recurso de Edición, Exploración y Visualización de Árboles Filogenéticos]. iTOL Interactive Tree of Life.
<https://itol.embl.de/>
- Ligon, J. D. (1967). Relationships of cathartid vultures. *Occasional Papers University of Michigan Museum of Zoology*, 651.
- Liu, K., Linder, C. R., & Warnow, T. (2011). RAxML and FastTree: Comparing Two Methods for Large-Scale Maximum Likelihood Phylogeny Estimation. *PLoS ONE*, 6(11), e27731.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027731>
- Miller, M., Pfeiffer, W., & Zhuang, M. (2010). *CIPRES Cyberinfrastructure for Phylogenetic Research* [Recurso de Investigación]. CIPRES Cyberinfrastructure for Phylogenetic Research. <https://www.phylo.org/index.php>
- National Center for Biotechnology Information, (NCBI). (1988). *National Center for Biotechnology Information (NCBI) [Internet]* [Centro de Información Científica y Base de Datos en Biotecnología y Biomedicina]. National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Navarro S, A. G. (1988). Filogenia y Clasificación de las Aves. *Ciencias*, (012), 16-29.
<https://www.revistas.unam.mx/index.php/cns/article/view/10986>

O'Neal Campbell, M. (2016). *Vultures: Their evolution, ecology and conservation*. CRC Press Taylor & Francis Group.

Orta, J., de Juana, E., Marks, J. S., Sharpe, C. J., & Garcia, E. F. J. (2020). Bearded Vulture (*Gypaetus barbatus*), version 1.0. *Birds of the World*. Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, NY, USA. <https://doi.org/10.2173/bow.lammer1.01>

Orta, J., Marks, J. S., Garcia, E. F. J., Christie, D. A., & Kirwan, G. M. (2020). Egyptian Vulture (*Neophron percnopterus*), version 1.0. *Birds of the World*. Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, NY, USA. <https://doi.org/10.2173/bow.egyvul1.01>

Patwardhan, A., Samit, R., & Amit, R. (2014). Molecular markers in phylogenetic studies—A review. *Journal of Phylogenetics & Evolutionary Biology*, 2(2). <https://doi.org/10.4172/2329-9002.1000131>

Prince, M. N., Dehal, P. S., & Arkin, A. P. (2009). FastTree: Computing large minimum evolution trees with profiles instead of a distance matrix. *Molecular Biology and Evolution*, 26(7), 1641-1650. <https://doi.org/10.1093/molbev/msp077>

Prum, R. O., Berv, J. S., Dornburg, A., Field, D. J., Townsend, J. P., Lemmon, E. M., & Lemmon, A. R. (2015). A comprehensive phylogeny of birds (Aves) using targeted next-generation DNA sequencing. *Nature*, 526(7574), 569-573. <https://doi.org/10.1038/nature15697>

Schlötterer, C. (2004). The evolution of molecular markers—Just a matter of fashion? *Nature Reviews Genetics*, 5(1), 63-69. <https://doi.org/10.1038/nrg1249>

Schneider, A., & Cannarozzi, G. M. (2009). Support Patterns from Different Outgroups Provide a Strong Phylogenetic Signal. *Molecular Biology and Evolution*, 26(6), 1259-1272. <https://doi.org/10.1093/molbev/msp034>

- Sibley, C. G., & Ahlquist, J. E. (1990). *Phylogeny and Classification of Birds: A Study in Molecular Evolution*. Yale University Press, New Haven.
- Suárez-Díaz, E., & Anaya-Muñoz, V. H. (2008). History, objectivity, and the construction of molecular phylogenies. *Studies in History and Philosophy of Science Part C: Studies in History and Philosophy of Biological and Biomedical Sciences*, 39(4), 451-468. <https://doi.org/10.1016/j.shpsc.2008.09.002>
- The UniProt Consortium. (2021). *UniProt: The universal protein knowledgebase in 2021* [Recurso de Investigación]. <https://www.uniprot.org/>
- Urantówka, A. D., Krocak, A., Strzała, T., Zaniewicz, G., Kurkowski, M., & Mackiewicz, P. (2021). Mitogenomes of Accipitriformes and Cathartiformes Were Subjected to Ancestral and Recent Duplications Followed by Gradual Degeneration. *Genome Biology and Evolution*, 13(9), evab193. <https://doi.org/10.1093/gbe/evab193>
- Vaidya, G., Lohman, D. J., & Meier, R. (2011). SequenceMatrix: Concatenation software for the fast assembly of multi-gene datasets with character set and codon information. *Cladistics*, 27(2), 171-180. <https://doi.org/10.1111/j.1096-0031.2010.00329.x>
- Van Tuine, M. (2009). Birds (Aves). En S. B. Hedges & S. Kumar (Eds.), *The Timetree of Life* (Oxford University Press., pp. 409-411).
- Venditti, C., Meade, A., & Pagel, M. (2010). Phylogenies reveal new interpretation of speciation and the Red Queen. *Nature*, 463(7279), 349-352. <https://doi.org/10.1038/nature08630>
- Voet, D., Voet, J. G., & Pratt, C. (2007). Capítulo 23: Estructura de los ácidos nucleicos. En *Fundamentos de Bioquímica: La vida a nivel molecular* (2da ed., pp. 817-862). Editorial Medica Panamericana.

Wink, M. (1995). Phylogeny of Old and New World Vultures (Aves: Accipitridae and Cathartidae) Inferred from Nucleotide Sequences of the Mitochondrial Cytochrome b Gene. *Zeitschrift Für Naturforschung C*, 50(11-12), 868-882. <https://doi.org/10.1515/znc-1995-11-1220>

Winkler, D. W., Billerman, S. M., & Lovette, I. J. (2020). Hawks, Eagles, and Kites (Accipitridae), version 1.0. *Birds of the World*. Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, NY, USA. <https://doi.org/10.2173/bow.accipi1.01>

Yoder, J. B., Clancey, E., Des Roches, S., Eastman, J. M., Gentry, L., Godsoe, W., Hagey, T. J., Jochimsen, D., Oswald, B. P., Robertson, J., Sarver, B. A. J., Schenk, J. J., Spear, S. F., & Harmon, L. J. (2010). Ecological opportunity and the origin of adaptive radiations. *Journal of Evolutionary Biology*, 23(8), 1581-1596. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2010.02029.x>

Zou, D., Tian, S., Zhang, T., Zhuoma, N., Wu, G., Wang, M., Dong, L., Rossiter, S. J., & Zhao, H. (2021). Vulture Genomes Reveal Molecular Adaptations Underlying Obligate Scavenging and Low Levels of Genetic Diversity. *Molecular Biology and Evolution*, 38(9), 3649-3663. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab130>