



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN  
NICOLÁS DE HIDALGO**



**Facultad de Biología**

**PROGRAMA INSTITUCIONAL  
DE MAestrÍA EN CIENCIAS  
BIOLÓGICAS**

**Evaluación del canto del complejo de hibridación *Pipilo ocai* x *P. maculatus* en el Eje Neovolcánico Transversal**

Tesis que presenta:

**Biol. Irving Fernando Arciga Delgado**

Como requisito para obtener el grado de

**Maestro en Ciencias Biológicas**

**DIRECTOR DE TESIS: Dr. Alejandro Salinas Melgoza**

Morelia, Michoacán, mayo 2025



## DECLARATORIA DE ORIGINALIDAD

Declaración de originalidad

El presente documento es producto del trabajo original de investigación de Irving Fernando Arciga Delgado, estudiante del Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas y respetando siempre los más altos estándares éticos solicitados por la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

Todos los datos de la investigación reportada en el presente documento de tesis (excepto los indicados explícitamente en el texto), fueron obtenidos por Irving Fernando Arciga Delgado durante el periodo que fue estudiante de la Maestría en Ciencias Biológicas, bajo la Dirección del Dr. Alejandro Salinas Melgoza.

**Morelia, Mich., a 30 de mayo de 2025**

**Biol. Irving Fernando Arciga Delgado**

**firma** 

**Dr. Alejandro Salinas Melgoza**

**firma** 

**Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas, UMSNH**

## **DEDICATORIA**

Les dedico esta tesis en señal de agradecimiento a mi familia, Mercedes Delgado Rosales, José Arciga Villanueva, Luis Uriel Arciga Delgado, José Fernando Arciga Heredia, Irene Heredia Espinoza, Ángel Uriel Arciga Mandujano y María Teresa Mandujano González que me estuvieron apoyando en lo que necesitara en cada una de las bajas y altas que hubo en todo el proceso.

Sin olvidar mis amigos del laboratorio y a aquellos que no forman parte de este, en especial a mis amigos de Capoeira Girino, Bochecha, Sorriso, Filho y Andorinha, junto a ellos, también a Alexis Mendoza Lozana y su familia que estuvieron presentes en el camino y cuando los necesité estuvieron ahí, a los cuales les agradeceré siempre por enseñarme y alentarme en ciertos momentos para salir adelante.

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi asesor de tesis, Alejandro Salinas Melgoza, por su apoyo, paciencia, regaños y atención que me tuvo durante este camino.

A todos mis compañeros del laboratorio que estuvieron presentes y ayudándome en el trabajo, especialmente a todos los que me ayudaron en las salidas de campo; Juan José Díaz García, Erik Noé Zamudio Cedillo, Cristian Adrián Borja Moreno, Rafael Pineda Duarte, Emmanuel Garibay Sánchez, Frecia Nallely Ramírez Rincón, Rebeca Selene Miguel Méndez, Adriana Servin Silva, Jaime Abraham Buenrostro Gálvez, Cesar Kalid García Soto, Danya Guadalupe Paz Cruz y Jorge armando Rodríguez Ojeda.

A Ángel Ramón Orozco Ortega, que me ayudó a hacer el mapa de distribución del complejo *Pipilo*.

A Alexis Mendoza Lozana y su familia, quien me apoyó cuando estuve en la ciudad de México.

A José Villa Castillo, director del, Parque Nacional Volcán Nevado de Colima por permitirnos el acceso, alojamiento y uso de las instalaciones durante el tiempo muestreo.

A la secretaria de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación y a la Coordinación de la investigación científica de la UMSNH, por el apoyo financiero otorgado.

Al Dr. José Arnulfo Blanco García, por apoyarme en contactarme con dos sitios de muestreo.

Al Laboratorio de Ornitología de la Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo por la facilidad otorgada por la revisión de especímenes.

A Abel Diaz Mondragon, comisariado del Ejido los Remedios, Centro Ecoturístico Llano de las Papas municipio de Angangueo Mich., que nos permitió el acceso, alojamiento y uso de las instalaciones durante el tiempo muestreo.

A la familia de Danya Guadalupe Paz Cruz, que nos apoyó con asilo y alimentos en su casa en el pueblo de Paramuen, Santa Clara del cobre, Michoacán.

# ÍNDICE

<b>1</b>	<b>RESUMEN</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>ABSTRACT</b> .....	<b>3</b>
<b>3</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>5</b>
<b>4</b>	<b>ANTECEDENTES</b> .....	<b>7</b>
4.1	CONSISTENCIA ENTRE LÍMITES DE ESTRUCTURACIÓN GENÉTICA Y ACÚSTICA .....	8
4.2	VARIACIONES ACÚSTICAS Y LA PRESENCIA DE HÍBRIDOS.....	9
4.3	MODELO DE ESTUDIO .....	10
<b>5</b>	<b>HIPÓTESIS</b> .....	<b>14</b>
<b>6</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>14</b>
6.1	OBJETIVOS GENERAL.....	14
6.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	14
<b>7</b>	<b>MÉTODOS</b> .....	<b>15</b>
7.1	ÁREA DE ESTUDIO .....	15
7.2	OBTENCIÓN DE VOCALIZACIONES .....	15
7.3	CARACTERIZACIÓN ACÚSTICA DE INDIVIDUOS DEL COMPLEJO <i>PIPILO</i> .....	16
7.4	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	19
<b>8</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>22</b>
8.1	ESCALAMIENTO MULTIDIMENSIONAL NO MÉTRICO .....	22
8.2	ANÁLISIS DE FUNCIONES DISCRIMINANTES PERMUTADO .....	25
8.3	ANÁLISIS PARA RECUPERAR LA IDENTIDAD DE LOS SITIOS BASADO EN LAS CARACTERÍSTICAS ACÚSTICAS DE LOS CANTOS .....	26
8.4	EVALUACIÓN DEL PATRÓN DE VARIACIÓN CLINAL POR CORRELACIONES CRUZADAS DE ESPECTROGRAMA .....	29
8.5	ANÁLISIS DE COMPARACIÓN DENTRO Y ENTRE GRUPOS.....	29
8.6	ANÁLISIS DE COMPARACIÓN ENTRE LOS SITIOS EXTREMOS.....	33
8.7	ANÁLISIS DE COMPARACIÓN DE LOS SITIOS EXTREMOS CONTRA LA ZONA HÍBRIDA.....	35
<b>9</b>	<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>38</b>
9.1	EVALUACIÓN DE UN PATRÓN CLINAL DE VARIACIÓN PRESENTE DEL OESTE AL ESTE .....	38
9.2	DIFERENTES PARTES DEL CANTO INDICAN SEÑALES DIFERENTES.....	39
9.3	LAS VOCALIZACIONES COMO UN FACTOR QUE FOMENTA LA HIBRIDACIÓN. ....	40
9.4	ZONAS DE CONTACTO AMPLIAS .....	42
9.5	PERSPECTIVAS A FUTURO .....	43

<b>10</b>	<b>APÉNDICE.....</b>	<b>44</b>
<b>11</b>	<b>LITERATURA CITADA.....</b>	<b>58</b>

## 1 RESUMEN

El canto de las aves se ha demostrado que puede formar patrones de agrupación en distintas poblaciones de una misma especie. Al formarse grupos vocales con el paso del tiempo, las distintas poblaciones llegan a formar también grupos genéticos que separan las distintas poblaciones y pueden resultar en especies distintas. Sin embargo, un contacto secundario de estas puede resultar en la hibridación en especies que son cercanamente relacionadas, si aún no existe una diferenciación total y llegan a reconocerse. Esto puede hacer que los límites geográficos de ocurrencia de grupos genéticos diferenciados no coincidan con los límites de variación acústica, particularmente en especies con aprendizaje vocal. El género *Pipilo* presenta dos especies (*P. ocai* y *P. maculatus*) a lo largo del Eje Neovolcánico Transversal (ENT), que se hibridizan. Análisis genéticos indican la presencia de un gradiente clinal de cambio entre las dos especies parentales a lo largo del ENT. Además, esta diferenciación genética es mejor explicada al formar tres grupos genéticos, grupo *ocai*, grupo hermano *ocai* y grupo *maculatus*. Esta separación parece ser el resultado de eventos de glaciación durante la historia evolutiva de la especie. El objetivo de este estudio fue evaluar la congruencia de los límites de agrupación genética y fenotípica, tomado como el canto en una especie con aprendizaje vocal. La congruencia de los límites tanto genético como fenotípico podría sugerir que las mismas fuerzas que influyeron en el patrón genético han influido en el patrón de diferenciación acústica.

Se realizaron grabaciones de individuos cantando en ocho sitios que corresponden a los muestreados por DeRaad et al. (2023) a lo largo del ENT, para poder hacer comparaciones con el patrón de agrupación genético. El canto se fraccionó en sílaba *a*, *b*, *c* y *Trino* como elementos del canto. Se obtuvieron variables que describen acústicamente estos elementos del canto. Se realizaron pruebas de Árbol de regresión, Análisis de funciones discriminantes permutado, NMDS y Pruebas de Mantel parcial. Con estas pruebas se evaluó la presencia de cuatro criterios de agrupación en las estructuras del canto de acuerdo a grupos genéticos descritos previamente por DeRaad et al. (2023). Además, se incluyó una agrupación por ocho sitios que indicaría un fuerte componente social influyendo en diferenciar cada sitio. Criterio I: presencia de ocho

sitios, Criterio II: dos grupos, Criterio III: tres grupos y Criterio IV: variación clinal. Los análisis indicaron que, de los 4 elementos del canto, solo la sílaba *a* puede servir como un componente del canto que puede diferenciar entre sitio. Los otros elementos del canto fueron estructuralmente similares entre sitios. Se encontró evidencia de una estructuración jerárquica al agrupar los sitios muestreados, donde la mejor explicación fue cada sitio muestreado, seguido por el criterio de tres grupos y por último el de dos grupos. Esto estuvo demostrado por el análisis del árbol de regresión, donde se pudo tener una correcta clasificación > 80% al recuperar los sitios de origen de las grabaciones para ocho sitios. Además, el Análisis de Funciones discriminantes permutado pudo clasificar un porcentaje mayor de las vocalizaciones en comparación a los otros criterios. El criterio de variación clinal, aunque fue significativo, puede ser el resultado de una mayor similitud en las comparaciones dentro del sitio, que se pierde al salir de cada uno de ellos, en vez de un efecto de distancia. Los resultados no apoyan el criterio de tres grupos como la mejor explicación de agrupación acústica, como fue previamente propuesto para los grupos genéticos. Esto posiblemente podría ser el resultado de una mayor interacción social de los individuos del mismo sitio con individuos de su mismo sitio, incrementando la similitud entre ellos. Ya que la diferenciación grupal solo fue posible con uno de los elementos del canto, esto indica, por un lado, que los resultados de diferentes partes del canto pueden tener diferentes historias evolutivas al señalar la membresía de sitio. Por otro lado, que la mayor parte del canto no es una buena señal que pueda servir para diferenciar los individuos de los diferentes sitios a lo largo del Eje Neovolcánico Transversal, y por lo cual puede ser una de las formas de comunicación, que, a pesar de indicar el origen geográfico con una sílaba, no es suficiente para que las dos especies se discriminen y se evite la hibridación.

Palabras clave: Canto, variación vocal, congruencia fenotípica, congruencia genotípica, partes del canto.

## 2 ABSTRACT

Bird song has been shown to form grouping patterns in distinct populations of the same species. As vocal groups form over time, different populations also form genetic clusters that separate the different populations and can result in distinct species. However, secondary contact between these groups can result in hybridization in closely related species, if full differentiation has not yet occurred and they are recognized. This can cause the geographic limits of occurrence of distinct genetic groups to differ from the limits of acoustic variation, particularly in species with vocal learning. The genus *Pipilo* has two species (*P. ocai* and *P. maculatus*) along the Transversal Neovolcanic Belt (ENT), which hybridize. Genetic analyses indicate the presence of a clinal gradient of change between the two parental species along the ENT. Furthermore, this genetic differentiation is best explained by the formation of three genetic groups: the ocai group, the ocai sister group, and the maculatus group. This separation appears to be the result of glaciation events during the species' evolutionary history. The objective of this study was to evaluate the congruence of genetic and phenotypic grouping boundaries, taken as the song of a vocally learned species. The congruence of both genetic and phenotypic boundaries could suggest that the same forces that influenced the genetic pattern have influenced the pattern of acoustic differentiation.

Recordings of singing individuals were made at eight sites corresponding to those sampled by DeRaad et al. (2023) along the ENT, in order to make comparisons with the genetic grouping pattern. The song was divided into syllables *a*, *b*, *c*, and *trill* as song elements. Variables that acoustically describe these song elements were obtained. Regression tree, permuted discriminant function analysis, NMDS, and partial Mantel tests were performed. These analyses evaluated the presence of four grouping criteria in the song structures according to genetic clusters previously described by DeRaad et al. (2023). In addition, a clustering by eight sites was included, which would indicate a strong social component influencing the differentiation of each site. Criterion I: presence of eight sites; Criterion II: two groups; Criterion III: three groups; and Criterion IV: clinal variation. The analyses indicated that, of the four song elements, only syllable *a* can serve as a song component that can differentiate between sites. The other

song elements were structurally similar between sites. Evidence of a hierarchical structuring was found when grouping the sampled sites, where the best explanation was each sampled site, followed by the three-group criterion, and finally the two-group criterion. This was demonstrated by the regression tree analysis, where a correct classification rate of >80% was achieved when recovering the sites of origin from the recordings for the eight sites. Furthermore, Permuted Discriminant Function Analysis was able to classify a higher percentage of calls compared to the other criteria. The clinal variation criterion, although significant, may be the result of greater similarity in within-site comparisons, which is lost beyond each site, rather than a distance effect. The results do not support the three-group criterion as the best explanation for acoustic clustering, as previously proposed for genetic groups. This could possibly be the result of greater social interaction between individuals from the same site and individuals within their own site, increasing the similarity between them. Since group differentiation was only possible with one of the song elements, this indicates, on the one hand, that the results of different song parts may have different evolutionary histories in signaling site membership. On the other hand, the results indicate that most of the song is not a good signal that can be used to differentiate individuals from different sites along the ENT, and therefore it may be one of the forms of communication, which despite indicating the geographical origin with a syllable, this is not enough for the two species to discriminate each other and avoid hybridization.

### 3 INTRODUCCIÓN

Los individuos de una misma especie que presentan una distribución amplia en diferentes áreas geográficas pueden presentar cambios en sus fenotipos y genotipos a lo largo de su rango de distribución, resultado de presiones de selección tanto abióticas como bióticas (Acasuso-Rivero *et al.* 2019; Ricchetti, *et al.* 2024). Los cambios del fenotipo pueden verse expresados en rasgos de los individuos como el tamaño, su color o en las vocalizaciones tanto heredadas como aprendidas (Bradbury y Vehrencamp, 1998; McNaught y Owens, 2002; Lefranc, y Bundgaard, 2004; García de Leaniz, *et al.* 2007; Delhey, 2019; Gordillo-Martínez, *et al.* 2013; Demko, *et al.* 2020). Estos cambios en el fenotipo son importantes en el reconocimiento de conoespecíficos y heteroespecíficos (Kroodsma, 1975; Haavie *et al.* 2004; Greig y Webster, 2013). Estas variantes pueden resultar en diferencias en la forma de comunicación y el reconocimiento de los organismos, lo que potencialmente puede limitar el flujo genético entre poblaciones (Ricchetti, *et al.* 2024; Andrade-González, *et al.* 2023, Dingle, *et al.* 2010; Greig y Webster 2013; Kleindorfer, *et al.* 2013; Gordillo-Martínez, *et al.* 2013; Nicholls, *et al.* 2006).

Especialmente en las aves, las señales vocales a menudo desempeñan un papel fundamental en la comunicación y el reconocimiento entre individuos conoespecíficos y heteroespecíficos. Entre las funciones del canto está la selección de pareja (Dingle *et al.* 2010; Seddon, 2005; Cody y Brown, 1970; Isler, *et al.* 1998; Benjamin y Graham, 2002). El canto como una señal acústica puede formar patrones acústicos geográficos distintivos que varían por poblaciones a lo largo de su distribución (Podos, 2007). Para que la comunicación, y por lo tanto la discriminación y el reconocimiento entre los organismos conoespecíficos sea efectiva, los organismos entonces deberían hipotéticamente compartir señales de comunicación con patrones estereotipados (Isler, *et al.* 1998; Benjamin y Graham, 2002; Kleindorfer, *et al.* 2013; Konishi, 1985). Así, la presencia de variantes en los cantos de poblaciones de una misma especie puede potencialmente actuar como una barrera de aislamiento reproductivo conductual, y ser clave para aislar especies cercanamente relacionadas debido a la falta de reconocimiento (Gordillo-Martínez, *et al.* 2013, Greig y Webster, 2013; Ricchetti, *et al.* 2024).

La presencia de variantes fenotípicas acústicas podría tener dos resultados. Por un lado, la falta de reconocimiento puede originar una estructuración geográfica de los patrones genéticos, que pueden llegar a coincidir con los límites de las variantes fenotípicas acústicas.

Por otro lado, la ausencia de una diferenciación acústica permitiría el reconocimiento entre individuos y promovería la homogeneización tanto genética como acústica en zonas geográficas. Sin embargo, cuando las poblaciones varían acústicamente la falta de discriminación puede dar lugar a la presencia de híbridos entre especies cercanas (Dingle, *et al.* 2008; Gelter, 1987, Shipilina, *et al.* 2017; Halfwerk, *et al.* 2016; Kleindorfer, *et al.* 2013; Vabishchevich y Formozov, 2010). Esto se puede ver representado por la falta de coincidencia de los límites de las variantes acústicas con el patrón geográfico de estructuración genética. Determinar la congruencia de los límites geográficos de las variantes acústicas con la estructuración genética, puede ayudar a entender si las fuerzas de selección están actuando en ambos aspectos. Sin embargo, aún no es claro el grado de diferenciación que se necesita en las variantes acústicas para que los conespecíficos de distintas poblaciones puedan excluirse entre ellos, y eventualmente puedan divergir genéticamente y se separen en especies distintas (Ricchetti, *et al.* 2024; Bolus, 2014; Matessi, *et al.* 2000).

Además, considerando que una vez que ha ocurrido el proceso de especiación, las especies hermanas resultantes pueden llegar a tener contacto secundario y como consecuencia formar híbridos si el aislamiento reproductivo no ha sido completado (Grant y Grant, 1997; Shipilina, *et al.* 2017; Halfwerk, *et al.* 2016; Kleindorfer, *et al.* 2013; Vabishchevich y Formozov, 2010; Dingle, *et al.* 2008; Gelter, 1987). Especies hermanas aún pueden guardar cierto parecido en su fenotipo a pesar de la especiación; alternativamente, especies hermanas pueden ser fenotípicamente diferentes, pero no ser capaces de discriminarse entre ellas. Entonces, si las especies hermanas aún presentan cierto grado de similitud en su fenotipo, o no pueden discriminar, es posible que estos puedan aún generar una respuesta positiva ante vocalizaciones parecidas, aunque disminuida, ante las vocalizaciones de organismos de especies cercanas y pueda permitir la reproducción (Greig y Webster, 2013; Kroodsma, 1975). En este sentido, evaluaciones del patrón de diferenciación fenotípica y su congruencia con el patrón geográfico de estructuración genética pueden ayudar a entender si las fuerzas de selección están actuando en ambos aspectos, y por lo tanto entender la factibilidad de que dos especies cercanamente relacionadas se entrecrucen.

#### 4 ANTECEDENTES

La variación acústica puede suceder a nivel intraespecífico en aves cuando poblaciones de una misma especie presenta variantes de la misma señal acústica, la cual puede ser el primer paso que potencialmente puede llevar al origen de nuevas especies. Variaciones intraespecíficas pueden suceder cuando el canto varía de forma clinal entre poblaciones de la misma especie. Por ejemplo, el canto de *Melospiza melodia* cambia paulatinamente con la distancia entre poblaciones en una zona de 120 km de largo en su área de distribución. Esto significa que la similitud del canto disminuye con la distancia y las poblaciones adyacentes son más similares que las poblaciones más alejadas (Christopher, *et al.* 1999). Esto normalmente es explicado por mecanismos implicados en la evolución cultural entre las poblaciones (Christopher, *et al.* 1999; Searcy, *et al.* 1997). La importancia de determinar estos patrones de variación acústica es que la disminución en la similitud de los cantos puede significar una disminución en la respuesta de reconocimiento de las demás poblaciones en el mismo sentido (Searcy, *et al.* 1997).

*Monarca castaneiventris* es otra especie de ave con variaciones fenotípicas poblacionales presente en las islas Salomón. Los individuos de cada una de las islas emiten un tipo de canto distinto, fomentado por el aislamiento geográfico entre ellas (Uy y Safran, 2013). Se ha encontrado también que el canto de dos poblaciones de *Henicorhina leucophrys* puede variar, en donde el canto de cada una de ellas presenta características distintivas (Halfwerk, *et al.* 2016; Dingle, *et al.* 2008). Otro ejemplo también puede ser el de dos poblaciones de *Malurus cyaneus*. Los individuos de estas dos poblaciones son diferentes en las propiedades acústicas de su canto, lo cual permite que puedan discriminarse acústicamente entre ellas (Kleindorfer, *et al.* 2013). Esto indica la presencia de variaciones acústicas de tal forma que se diferencian acústicamente entre subespecies o grupos de subespecies.

#### 4.1 CONSISTENCIA ENTRE LÍMITES DE ESTRUCTURACIÓN GENÉTICA Y ACÚSTICA

El impacto de la variación vocal en el sistema de comunicación de una especie puede ser visto al evaluar como coinciden los límites geográficos de la variación vocal, con los límites de la estructuración genética de una especie (García, *et al.* 2018; Soha, *et al.* 2004; Wright y Wilkinson, 2001). Aunque se han hecho evaluaciones del patrón de variación vocal de muchas especies y se ha propuesto que las variaciones vocales pueden servir como barreras potenciales de reconocimiento, la evidencia sobre la congruencia de los límites genéticos con los límites vocales es limitada. Uno de los patrones que se ha encontrado es una coincidencia de los límites genéticos con los acústicos. Así, se ha encontrado que uno de los cantos de *Xiphorhynchus fuscus* presenta variantes vocales en tres de sus poblaciones, las cuales coinciden con sus límites genéticos, presentando una diferenciación de las tres poblaciones a lo largo de una variación clinal (García, *et al.* 2018). Sin embargo, existen casos en los que, a pesar de presentar diferenciación acústica, muchas veces marcadas, aún siguen presentando poca o nula diferenciación genética.

Esta baja concordancia en los límites genéticos y vocales que se han encontrado en *Amazona auropalliata*, en la cual, a pesar de presentar tres dialectos vocales marcadamente distintos, genéticamente solo existe una población, indicando que aún existe flujo genético entre los distintos grupos (Wright y Wilkinson, 2001). Este flujo genético puede explicarse debido a que los organismos aún pueden mostrar cierto reconocimiento entre poblaciones, al responder a la invasión simulada de territorios con vocalizaciones de las poblaciones vecinas (Wu, *et al.* 2023; Araya-Salas, *et al.* 2019; Dingle, *et al.* 2010; Wright, *et al.* 2008). Esto indica que, a pesar de la marcada diferencia de las vocalizaciones, los organismos pueden aún reconocerse y podría explicar porque los límites vocales no coinciden con los límites genéticos. Además, traslocaciones entre poblaciones con vocalizaciones distintas han probado que los organismos pueden aprender la nueva variante local, y adecuarse al nuevo ambiente social (Salinas y Wright 2012). También se ha observado que, en ocasiones es posible tener tanto diferenciación genética como vocal, pero sus límites no coinciden espacialmente dentro del rango de distribución de la misma especie, como sucede en *Zonotrichia leucophrys* y *Ptilonorhynchus violaceus*. La falta de congruencia entre los límites geográficos y vocales sugeriría que los organismos se mueven

entre zonas acústicas, y además pueden aprender vocalizaciones, generando vocalizaciones o repertorios con partes vocales de las otras poblaciones (Nicholls, *et al.* 2006; Soha, *et al.* 2004). Por otro lado, la presencia de congruencia en los límites indicaría que no existe movimiento entre las distintas áreas acústicas o que el aprendizaje ocurre antes de la dispersión.

## 4.2 VARIACIONES ACÚSTICAS Y LA PRESENCIA DE HÍBRIDOS

También se ha demostrado que a pesar de las diferencias acústicas que lleguen a presentar las especies o sus poblaciones, estas pueden llegar a desarrollar híbridos cuando ocurren en una zona de contacto. La presencia de organismos híbridos puede deberse a la similitud de los cantos de ambas especies hermanas cercanas en contacto. La presencia de esta similitud puede deberse a dos escenarios; por un lado, esta similitud puede deberse a una diferenciación insipiente o nula en el canto entre ambas especies. Alternativamente, ambas especies pueden presentar un alto grado de similitud en sus vocalizaciones debido a la interacción social en aves que presentan el aprendizaje vocal, como son las aves oscinas. *Henicorhina leucophrys*, es un ave oscina donde individuos de una de las variantes acústicas regionales pueden llegar a generar un canto similar a los individuos de otra de las variantes acústicas por aprendizaje vocal, y generar híbridos. En este caso pueden suceder dos escenarios, uno es donde los organismos híbridos pueden generar un canto mixto de ambos grupos vocales en la zona de contacto. Alternativamente, los organismos en la zona de contacto generan el canto de una solo variante acústica debido a un aprendizaje asimétrico por una falta de reconocimiento como conespecífico (Halfwerk, *et al.* 2016; Dingle, *et al.* 2008). La presencia de un canto mixto ha reducido la capacidad que tienen estos grupos vocales en el reconocimiento y ha fomentado su hibridación (Halfwerk, *et al.* 2016). La presencia de variaciones acústicas de los cantos se ha observado también en las especies *Ficedula hypoleuca* y *F. albicollis*, en las cuales sus cantos presentan diferencias en sus características acústicas en zonas alopátricas, pero en las zonas simpátricas sus cantos suelen tener características compartidas (Vabishchevich y Formozov, 2010; Haavie *et al.* 2004; Saetre, *et al.* 1999; Saetre, *et al.* 1997). Los organismos híbridos en la zona de contacto también pueden presentar un aprendizaje asimétrico en su canto hacia la especie *F. albicollis*, y sus cantos mixtos suelen tener poca presencia (Vabishchevich y

Formozov, 2010; Gelter, 1987). Otro ejemplo de cantos mixtos o de aprendizaje asimétrico a un parental, son los híbridos de las subespecies *Phylloscopus collybita abietinus* y *P. collybita tristis*, donde los organismos híbridos y los de *tristis* que se encuentran en la zona de contacto suelen presentar cantos mixtos o asimétricamente aprender sólo el canto de *abietinus* (Shipilina, *et al.* 2017). Sin embargo, hay un desconocimiento de cómo influyen los patrones de variación geográfica del canto en la presencia de híbridos en la zona de contacto. En este sentido, si el canto es importante en la reproducción de los organismos, la presencia de un canto con ligeros cambios acumulados con la distancia, o con características de las diferentes especies que suceden en una zona de contacto podría jugar un papel importante en la presencia de híbridos.

### 4.3 MODELO DE ESTUDIO

El rascador moteado (*Pipilo maculatus*) y el rascador de collar (*P. ocai*) pertenecen a la familia Passerellidae. Ambas especies forman parte de cuatro especies hermanas monofiléticas que divergieron hace más de dos millones de años, en las cuales *P. maculatus* y *P. erythrophthalmus* están más relacionadas entre sí y se separan de *P. ocai* y *P. chlorurus* (DeRaad, *et al.* 2023; DaCosta, *et al.* 2009). En México, la especie *P. maculatus* se encuentra desde el norte de México hasta Chiapas. A lo largo de su rango de distribución se le encuentra en altitudes que rondan entre los 1700 y 2700 msnm, donde es posible encontrarlo en bosques de encino y pino-encino. Mientras que *P. ocai* es endémico a las montañas más altas del altiplano mexicano, a una altura entre 1800 - 3800 msnm (Loera-Casillas, *et al.* 2022; Sibley y West, 1958); está presente en lugares donde predomina una vegetación de maleza densa asociada con bosques de pinos y abetos. Esta situación sugiere que las especies tienen poco contacto entre ellas, debido a diferencias ecológicas por el tipo de vegetación preferido y por las altitudes donde preferentemente cada especie se encuentra, (Sibley y West, 1958).

*P. ocai* presenta un plumaje de alas y espalda de color verde-oliva, cabeza rallada con una corona color canela, con la garganta blanca, el pecho negro (Fig. 1a), y con un rango de longitud de pico a cola de 20-21 cm. Por otro lado, *P. maculatus* presenta un plumaje con la cabeza, espalda y pecho negros, vientre blanco y costados del abdomen café-rojizo con manchas blancas en las alas (Fig. 1b; Howell y Webb, 1995; Peterson y Chalif, 1973), con un peso de 33-

49 gr, una longitud de pico a cola 17-21 cm y una envergadura de 28 cm (Animalia, 2024). Estas dos especies de rascadores forman un complejo de hibridación en dos zonas de México, a través del Eje Neovolcánico Transversal y en la Sierra Madre Oriental. En el Eje Neovolcánico Transversal se presentan ambas especies parentales en los extremos, estando presente *P. ocai* en Colima, extremo Oeste y *P. maculatus* en Puebla, extremo Este (DeRaad, *et al.* 2023; Kingston, *et al.* 2017; Kingston, *et al.* 2012).

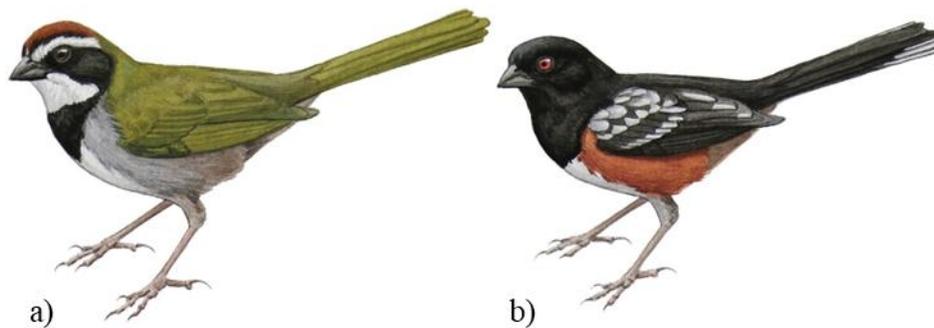


Figura 1: Ilustraciones representativas de a) *Pipilo ocai* y b) *Pipilo maculatus*. Imagen modificada de DeRaad, *et al.* (2023).

El complejo de hibridación que forman *P. maculatus* y *P. ocai* ha sido evaluado utilizando características fenotípicas del plumaje y la estructuración genética. Los análisis genéticos de este complejo de hibridación indicaron que los híbridos abarcan gran parte de la distribución en el Eje Neovolcánico Transversal, teniendo una zona de contacto híbrida desde la zona de Mazamitla hasta la Sierra de las Cruces (DeRaad, *et al.* 2023). DeRaad, *et al.* (2023) proponen que con los ocho sitios que muestrearon se pueden formar grupos genéticos basados en dos Criterios de agrupación, para las poblaciones que se presentan a lo largo del Eje Neovolcánico Transversal. Los Criterios de agrupación fueron son dos, tres grupos genéticos, y una variación clinal. El Criterio genético de dos agrupaciones divide la distribución del complejo *Pipilo* a la mitad en dos. Por un lado, está el grupo del Oeste, organismos con mayor similitud a *P. ocai*. Por otro lado, está el grupo del Este, organismos con mayor similitud a *P. maculatus*. El grupo del Oeste incluye los sitios Tapalpa, Mazamitla, Uruapan y Ario de Rosales. El grupo del Este incluye los sitios de Puerto Morillos, Morelia, Zitácuaro, Lerma, México y Rio Frio, Puebla.

Por su lado, el Criterio genético de tres grupos muestra una subestructura en la que se divide al grupo del Oeste en dos subgrupos, el subgrupo ocai y el subgrupo hermano ocai, resultado potencialmente de eventos de glaciación durante la historia evolutiva del complejo de hibridación. Por otra parte, el grupo del Este queda nombrado como grupo maculatus. En este Criterio de tres grupos, el grupo ocai está formado por los sitios de Tapalpa y Mazamitla, el grupo hermano ocai está formado por los sitios de Uruapan y Ario de Rosales y el grupo maculatus conserva los sitios del grupo Este (DeRaad, *et al.* 2023). Una variación clinal en este complejo de hibridación se observó porque los individuos híbridos muestran un patrón en el fenotipo y genotipo que mientras nos movemos a lo largo de esta distribución podemos observar mayor parentesco tanto genético como fenotípico hacia uno de los dos parentales, *P. ocai* o *P. maculatus*. Se puede observar que entre más se alejan del oeste hacia el centro del Eje Neovolcánico Transversal, la similitud fenotípica del plumaje y genética de los organismos va disminuyendo con *P. ocai* y va aumentando con *P. maculatus*. Mientras que los individuos de las poblaciones que se alejan del extremo este, hacia el centro del Eje Neovolcánico Transversal, van disminuyendo su similitud con *P. maculatus* y va aumentando con *P. ocai* (DeRaad, *et al.* 2023). Una agrupación sosteniendo la división por sitio no fue evaluada por DeRaad, *et al.* (2023); sin embargo, existe evidencia que esto puede suceder en otras especies con aprendizaje vocal (Salinas-Melgoza y Renton 2021) y podría estar presente en este complejo de hibridación.

En este complejo de hibridación se han estudiado los patrones de coloración del plumaje y su estructura genética, de tal forma que la información que existe sobre el canto de la especie es prácticamente nula (DeRaad, *et al.* 2023; Kingston, *et al.* 2017; Kingston, *et al.* 2012; Sibley y West, 1958). Aunque ambas especies pueden presentar varias vocalizaciones, el canto más representativo de ellas está compuesto por dos partes. La primera parte del canto, está compuesta por una o dos frases y, cada frase está compuesta por distintas sílabas que varían en cantidad de elementos. La segunda parte está compuesta por un *Trino*. *P. ocai*, se caracteriza por presentar comúnmente una frase de una sílaba con una nota inicial y un *Trino* (Fig. 2a), mientras que el canto de *P. maculatus* típicamente presenta una frase de dos sílabas y el *Trino* (Fig. 2b). No se ha determinado si el canto también coincide con el patrón de diferenciación genética del complejo de hibridación identificado por DeRaad, *et al.* (2023).

Debido a que la especie presenta aprendizaje vocal, el canto también podría presentar un patrón de diferenciación clinal, similar al patrón clinal genético, y que pudiera por lo tanto influir en fomentar la hibridación. Una congruencia acústica con los dos Criterios genéticos revelaría una separación de grupos acústicos en la parte central del rango de distribución, destacando similitudes mayores con cada especie parental o la historia evolutiva del complejo de hibridación.

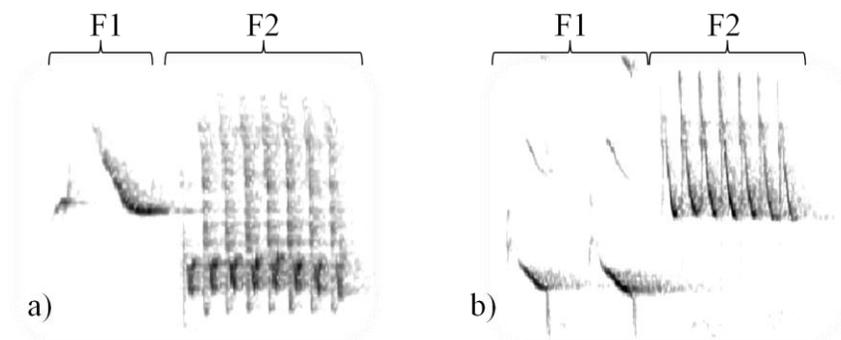


Figura 2: Espectrogramas representativos del canto típico de: a) *P. ocai*, presentando una frase conformada por una sílaba de dos notas y un *Trino*; b) *P. maculatus*, presentando una frase de dos sílabas, cada una con una nota y un *Trino*. F1) primera parte y F2) segunda parte.

En cuanto al plumaje, el complejo de hibridación *P. ocai* x *P. maculatus* se ha mantenido con el tiempo lo largo del Eje Neovolcánico Transversal en las mismas proporciones (DeRaad, *et al.* 2023; Kingston, *et al.* 2017; Kingston, *et al.* 2012; Sibley y West, 1958). Esta consistencia temporal de la proporción de los híbridos sugiere que el grado de similitud en el canto entre individuos del mismo sitio podría ser clave para propiciar el emparejamiento entre fenotipos similares y por lo tanto ejercer cierta presión para mantener esta continuidad de la proporción, potencialmente seleccionando en contra de aquellos con las características de los cantos diferentes. Así, una congruencia acústica con la agrupación de ocho sitios podría revelar una alta interacción de los individuos del mismo sitio entre ellos, incrementando su similitud, convirtiéndose así esto en un tercer Criterios de agrupación.

El presente estudio pretende hacer una caracterización y evaluación del patrón de variación acústica en el complejo de hibridación de *Pipilo maculatus* x *P. ocai* a través del Eje Neovolcánico Transversal. Con base en el patrón de agrupación genética del complejo de

hibridación, se hipotetiza que, el patrón de estructuración del canto concordará con los Criterios de agrupación genético a lo largo del Eje Neovolcánico Transversal. Alternativamente, debido al aprendizaje vocal que presenta las especies parentales se hipotetiza que una diferenciación acústica por sitio podría ser posible.

## **5 HIPÓTESIS**

Los límites geográficos de los elementos del canto del complejo de hibridación *Pipilo* (*P. ocai* x *P. maculatus*) coincidirán con los límites de agrupación genética propuesto por DeRaad, *et al.* (2023) a lo largo del Eje Neovolcánico Transversal

## **6 OBJETIVOS**

### **6.1 OBJETIVOS GENERAL**

Evaluar la concordancia de los límites geográficos de variación vocal y los grupos genéticos del complejo de hibridación *P. ocai* x *P. maculatus* a través del Eje Neovolcánico Transversal.

### **6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Evaluar la estructura espectral del canto del complejo de hibridación de *P. ocai* x *P. maculatus* presente en el Eje Neovolcánico Transversal.
- Determinar la congruencia de una variación clinal en las vocalizaciones con la genética del complejo de hibridación de *P. ocai* x *P. maculatus*.
- Determinar la asociación entre la variación acústica del canto con respecto a los Criterios de agrupación de ocho, dos y tres grupos en el complejo de hibridación de *P. ocai* x *P. maculatus*.

## 7 MÉTODOS

### 7.1 ÁREA DE ESTUDIO

Este estudio se realizó en ocho localidades a lo largo del Eje Neovolcánico Transversal, el cual se extiende desde el Océano Pacífico hasta el Golfo de México. Los ocho sitios que se muestrearon, fueron lo más cercano posible a los sitios que corresponden a los descritos en DeRaad *et al.* (2023), de tal forma que permita hacer comparaciones con los patrones genéticos de los grupos descritos en ese estudio. Esta área geográfica abarca una extensión de 130 kilómetros, con un rango altitudinal que va desde 300 msnm y hasta los 5600 msnm de altitud (Rzedowski, 2006). La zona de estudio presenta una amplia composición vegetativa, siendo los principales tipos de vegetación los bosques templados de pino, oyamel y encino, selva mediana, selva baja caducifolia, matorral xerófilo, pastizal, pastizal alpino, bosque mesófilo de montaña, vegetación acuática y mal país (Yarza de, 2003).

### 7.2 OBTENCIÓN DE VOCALIZACIONES

Se visitaron los ocho sitios a lo largo del Eje Neovolcánico Transversal (Tabla 1). En esos sitios se realizaron búsquedas intensivas de individuos machos del complejo de hibridación *P. ocai* x *P. maculatus* para obtener grabaciones de sus vocalizaciones. Las grabaciones de las vocalizaciones se realizaron en dos periodos: de marzo a mayo del 2023 y de marzo a mayo del 2024. Para obtener las grabaciones se utilizaron grabadoras tipo Tascam DR-05 con un micrófono omnidireccional con el que cuenta el dispositivo.

En total se grabaron 379 cantos, correspondientes a 128 individuos, teniendo en promedio  $18 \pm 2$  individuos por sitio. Para el estudio, se consideraron 15 individuos por sitio y tres cantos por individuo; sin embargo, para los sitios de Colima, Mazamitla y Paramuen, obtuvimos catorce individuos con tres y un individuo con dos cantos. En el caso de Paracho, se registraron trece individuos con tres cantos, un individuo con dos cantos y un individuo con un solo canto.

Tabla 1: Ubicación geográfica de los sitios muestreados.

<b>Sitio</b>	<b>msnm</b>	<b>Latitud</b>	<b>Longitud</b>	<b># individuos grabados</b>
Nevado de Colima, Colima	3,417	19.5914	103.5975	16
Mazamitla, Jalisco	2,500	19.9101	102.9994	20
Paracho de Verduzco, Michoacán	2,500	19.9073	102.9908	16
Paramuen, Santa Clara del cobre, Michoacán	2,200	19.3236	101.6913	20
Parque nacional Cerro de Garnica, Queréndaro, Michoacán	2,700	19.6874	100.9115	16
Centro Ecoturístico Llano de las Papas, Angangueo, Michoacán	3,300	19.6680	100.2780	16
Desierto de los Leones, Cuajimalpa de Morelos, Ciudad de México	3,200	19.2975	99.3588	20
Nanacamilpa, Tlaxcala	2,900	19.4799	98.5770	20

### **7.3 CARACTERIZACIÓN ACÚSTICA DE INDIVIDUOS DEL COMPLEJO *PIPILO*.**

Cada grabación se revisó visual y acústicamente usando el programa Raven-Pro 1.6. Se utilizó el canto más frecuente vocalizado por los machos en los diferentes sitios, el cual coincide con el canto modelo descrito previamente, que consiste de una a dos frases iniciales y un *Trino* (Fig. 3 y 4). A lo largo de toda la distribución, el canto más representativo está formado por tres sílabas distintas, estas sílabas forman las frases de la primera parte del canto. Esto corresponde a una frase para cada sílaba. Los cantos únicamente presentan una o dos de las tres frases, nunca presentando las tres frases juntas.

Para poder medir de manera confiable las distintas variables acústicas, se seleccionaron tres cantos por individuo que tuvieran una buena relación señal/ruido, de los cuales se definieron los siguientes elementos del canto que fueron analizados de forma independiente. Los elementos del canto se denominaron sílaba *a*, *b*, *c* y el *Trino* (Fig. 3). Primero se consideraron las tres distintas sílabas de los cantos revisados: i) Sílaba *a*: conformada por una o en ocasiones dos notas que se encuentran en frecuencias por debajo de los 6 KHz, ii) sílaba *b*: compuesta por solo una sílaba modulada en frecuencias por arriba de los 6 KHz y debajo de los 10 KHz, iii) sílaba *c*: dos notas diferentes moduladas con frecuencias que varían desde por encima de los 7KHz y descienden hasta los 2 KHz. En la sílaba *c*, la primera nota siempre es la más aguda y la segunda es la más grave; y iv) *Trino*, que son notas emitidas de forma consecutiva que pueden variar en número (Fig. 4). No todos los cantos de todos los sitios presentan necesariamente las sílabas *a*, *b* y *c* a la vez; sin embargo, el *Trino* invariablemente está presente en todos los cantos.

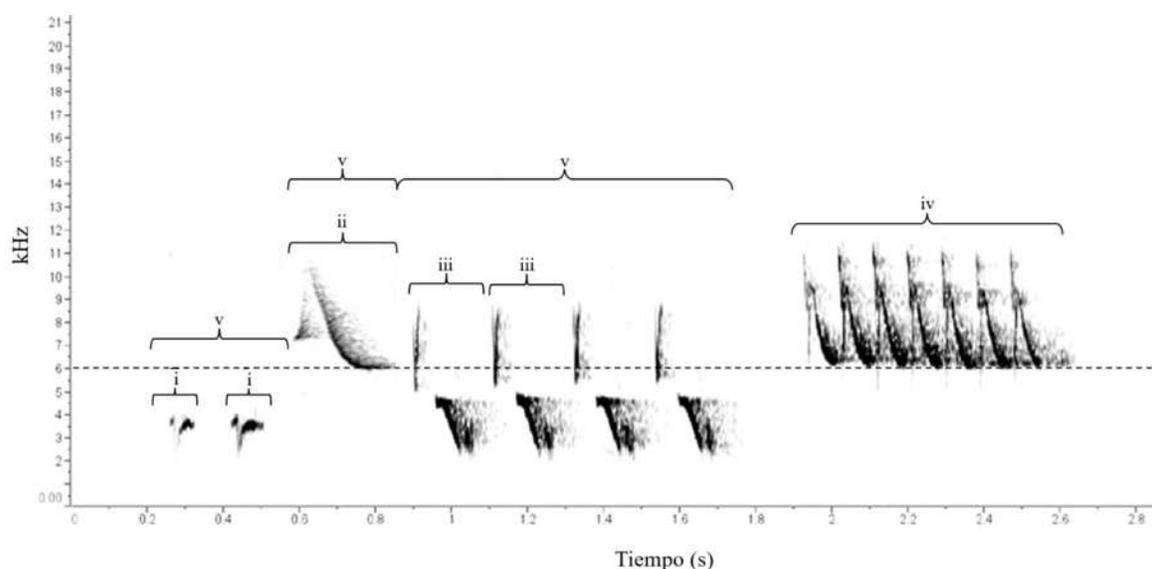


Figura 3. Ejemplo de un canto hipotético característico del complejo de hibridación *P. ocai* x *P. maculatus* que incluye todos los elementos descritos, indicando los elementos del canto evaluados en este estudio. Con letras se indican los elementos del canto que lo conforman: i) sílaba *a*, ii) sílaba *b*, iii) sílaba *c*, iv) *Trino*, v) frases. Los 6 kHz que divide la sílaba *a* y la *b*, se encuentra señalada con una línea punteada.

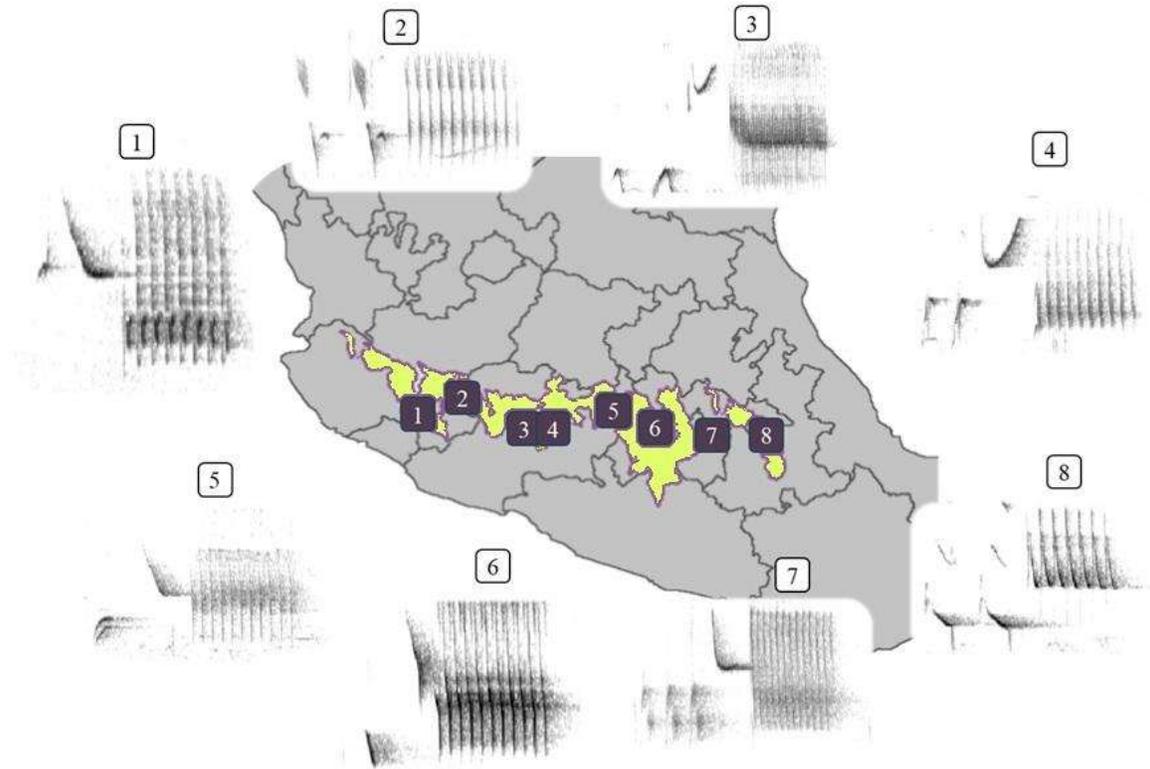


Figura 4: Representación de los espectrogramas de un canto de cada sitio estudiado del complejo de hibridación *P. ocai* x *P. maculatus* a lo largo del Eje Neovolcánico Transversal. En color verde se encuentra el área donde se distribuyen los organismos de este complejo de hibridación. El número encima del espectrograma representa la localidad: 1) El Nevado de Colima, Colima; 2) Mazamitla, Jalisco; 3) Paracho de Verduzco, Michoacán; 4) Paramuen, Santa Clara del cobre, Michoacán; 5) Parque Nacional Cerro de Garnica, Queréndaro, Michoacán; 6) Centro Ecoturístico Llano de las Papas, Anganguo, Michoacán; 7) Desierto de los Leones, Cuajimalpa de Morelos, Ciudad de México y 8) Nanacamilpa, Tlaxcala. Mapa de distribución en el Eje Neovolcánico Transversal hecho por Ángel Ramón Orozco Ortega.

Se obtuvieron las siguientes variables acústicas que describen los elementos del canto usando el paquete WarbleR para R 4.4.2 (Araya-Salas y Smith-Vidaurre, 2017) y el Programa Raven-Pro 1.6: a) Frecuencia pico de la sílaba (Pico Hz), b) Frecuencia pico del inicio de la sílaba (Inicio Hz), c) Frecuencia pico del final de la sílaba (Final Hz), d) duración de la frase, e) Ancho de banda de la sílaba, f) Promedio de la frecuencia dominante (Prom HZ Dom), g) Mínimo de la frecuencia dominante (minDom) y h) Máximo de la frecuencia dominante

(maxDom), y para el *Trino* se agregó, i) Tasa de trino, definido como cantidad de sílabas por segundo (Roach y Phillmore, 2017; Petruskova, *et al.* 2014).

Para evaluar la variación acústica que presenta este complejo de hibridación se consideraron los tres Criterios de agrupación de variación genética propuestas por DeRaad, *et al.* (2023). Criterio I: Cada uno de los ocho sitios se diferencia, en este Criterio los sitios pueden indicar activamente su membresía de sitio. Criterio II: Indica la presencia de dos grupos genéticos. El grupo del Oeste incluye los sitios Colima, Mazamitla, Paracho y Paramuen. El grupo del Este incluye los sitios de Cerro de Garnica, Anganguero, Desierto de los Leones y Nanacamilpa. Criterio III: Tres grupos genéticos, está conformado los siguientes sitios: el grupo ocai está formado por Colima y Mazamitla, el grupo hermano ocai está formado por Paracho y Paramuen y el grupo maculatus conserva los sitios del grupo Este. Criterio IV: indica la presencia de un patrón clinal a lo largo del área de estudio.

#### **7.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Se realizó un análisis de correlación de las variables acústicas para cada uno de los elementos del canto por separado, para determinar que variables estaban relacionadas y evitar colinealidad (Apéndice Tabla 1, 2, 3 y 4). Las variables que se mantuvieron y fueron utilizadas en análisis subsecuentes incluyeron: a) Sílabas *a*: Hz, duración de la frase, Ancho de banda y minDom. b) Sílabas *b*: Pico Hz y duración de la frase. c) Sílabas *c*: Pico Hz, Inicio Hz, Final Hz, duración de la frase y Ancho de banda. d) *Trino*: Pico Hz, Inicio Hz, Final Hz, duración de la frase, Tasa de trino y Ancho de banda.

Para probar la coincidencia de los grupos genéticos con los grupos acústicos, se realizaron tres tipos de pruebas estadísticas. Para evaluar los cuatro Criterios de agrupación de variación genética primero se realizó un Escalamiento Multidimensional no Métrico (NMDS) en cada uno de los elementos del canto. Con este análisis se evaluó la variación de las diferentes vocalizaciones por Criterio de agrupamiento, y se consideró cómo se distribuían los grupos en el espacio acústico, de tal forma que vocalizaciones más similares se encuentran más cercanas. El NMDS utilizó los valores de las variables no redundantes que caracterizan acústicamente

cada uno de los elementos del canto. También se obtuvo el valor de estrés, donde valores iguales o inferiores a 0.05 indican un buen ajuste. Para este análisis se usó el Paquete Vegan del Programa R (vers. 4.4.2).

Después, para determinar si existía un efecto del tipo de agrupación al considerar ocho, dos y tres grupos acústicos, se hizo un Análisis de Funciones Discriminantes permutado (AFDp) (Mundry y Sommer 2007), con el cuál se evaluó cada elemento del canto en cada Criterio de agrupación. Este análisis considera la falta de independencia de los datos para determinar la diferenciación entre grupos de datos. También, se realizó un análisis de árbol de regresión, el cual nos permite determinar si se podían recuperar los grupos geográficos asignados a los individuos usando las variables no redundantes que caracterizan mejor cada elemento del canto del complejo *Pipilo*. En este análisis se obtuvo el porcentaje de correcta clasificación del grupo geográfico origen de las vocalizaciones con aquellos grupos propuestos por el análisis en una matriz de confusión, basado en las características acústicas de los elementos del canto. Además, con este análisis es posible obtener los atributos explicativos de cada árbol de regresión, los cuales indican la contribución de cada variable al recuperar los grupos geográficos para cada elemento del canto.

Para evaluar el Criterio IV, un patrón clinal en las vocalizaciones, se realizó una prueba de Mantel Simple y una prueba de Mantel Parcial. Para hacer las pruebas de Mantel, primero se obtuvo una matriz de similitud al realizar una correlación cruzada de los espectrogramas de las vocalizaciones de los elementos del canto de los 15 organismos de cada sitio, usando el programa Signal (versión 5.0, Engineering Design, Inc). Este análisis provee valores de correlación de las comparaciones pareadas de las grabaciones que van de cero a uno; lo cual fue considerado como un valor de similitud entre las vocalizaciones comparadas. Valores más cercanos a uno indican un mayor grado de similitud entre las vocalizaciones comparadas. Además, se construyó un matriz de distancias geográficas de separación entre sitios en Km; esta matriz fue considerada en cada uno de los elementos del canto. Por último, se realizó una matriz binaria, en la que se indicó con el número uno cuales eran las comparaciones de cantos del mismo individuo y con un cero se indicó la comparación de cantos distintos. La prueba de Mantel Simple se realizó utilizando tanto la matriz de similitud como la matriz de distancia, y la prueba de Mantel Parcial se utilizaron las tres matrices, Similitud, distancia y binaria. Con la

prueba parcial de Mantel se controló el efecto de tener varios cantos por individuo y evitar problemas de pseudoreplicación. Ambas pruebas se realizaron en el programa ZT (Bonnet y de Peer, 2002). La asociación de la matriz de distancias geográficas entre sitios y la matriz similitud de los elementos del canto indicaría la presencia de un patrón geográfico clinal en las vocalizaciones basado en la distancia.

También se realizaron pruebas de t usando los valores de similitud y las variables acústicas de diferentes formas. Se agruparon los valores de similitud de las comparaciones de vocalizaciones de individuos con la distancia en dos grupos, a) comparaciones dentro del sitio y b) comparaciones entre sitios. La comparación dentro del sitio corresponde a la distancia cero, mientras que el segundo grupo corresponderían a comparaciones entre sitios. a) primero se comparó dentro y entre grupos para los Criterios I, II y III de agrupación. Para determinar si los individuos de cada agrupación presentaban mayor similitud dentro del mismo sitio que entre los sitios externos. b) Se realizó una segunda prueba de t para comparar los valores de las variables acústicas que caracterizaba cada elemento del canto de los sitios parentales extremos geográficos de la distribución, Colima con Nanacamilpa y así determinar si las especies parentales se diferencian acústicamente. c) Finalmente, se realizó una tercera prueba de t en la que se compararon los valores de las variables acústicas que caracterizaba cada elemento del canto de los sitios parentales extremos geográficos de la distribución, por un lado, el sitio Colima con los sitios donde hay híbridos de Mazamitla, Paracho, Paramuen, Cerro de Garnica, Anganguero y Desierto de los Leones. Por otro lado, se compararon los sitios donde hay híbridos con el sitio de distribución extrema de Nanacamilpa. Esto serviría para determinar si los sitios de las especies parentales son diferentes de los sitios con híbridos.

## 8 RESULTADOS

### 8.1 ESCALAMIENTO MULTIDIMENSIONAL NO MÉTRICO

De acuerdo a los resultados obtenidos del Escalamiento Multidimensional no Métrico (NMDS), en todos los Criterios de agrupación se tuvo un alto nivel de superposición en el espacio acústico en cada uno de los elementos del canto. Sin embargo, dentro de este traslape, se logra observar una separación entre algunos sitios en la sílaba *a* para cada una de las tres Criterios revisadas a lo largo del eje 2 del NMDS (Fig. 5, 6 y 7, y Apéndice Fig. 1, 2 y 3). Al evaluar el Criterio I, en la sílaba *a* se logra apreciar una separación entre Colima, Mazamitla y Paracho, que, aunque muestran cierto sobrelape, se agrupan, quedando en la parte superior del espacio acústico. Por su lado, los sitios de Nanacamilpa, Desierto de los Leones y Anganguero quedan en la parte inferior del espacio acústico (Fig. 5b). En la sílaba *a*, en el NMDS tanto para el Criterio II (Fig. 6b) como el Criterio III (Fig. 7b) puede verse una separación de los grupos más clara con un ligero traslape. Además, para el NMDS del Criterio III (Fig. 7b), los grupos *ocai*, *hermano ocai* y *maculatus* se distribuyen en espacio acústico a lo largo de un gradiente en el eje 2, y que coincide con un acomodo que va del Oeste al Este en el Eje Neovolcánico Transversal. Por otra parte, en los demás elementos del canto se puede apreciar un traslape total, como es el caso del *Trino* en los tres Criterios de agrupamiento (Fig. 5a, 6a y 7a, Apéndice Fig. 1, 2 y 3).

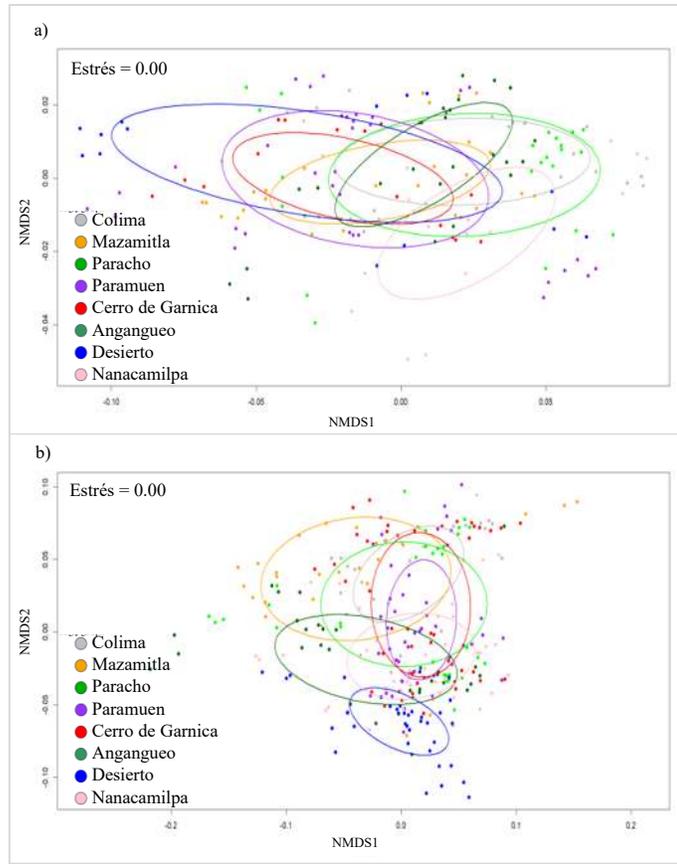


Figura 5: Resultados del análisis de Escalamiento Multidimensional no Métrico (NMDS) considerado para el Criterio I para las diferentes unidades acústicas del repertorio vocal del complejo *Pipilo* y sus híbridos a lo largo del Eje Neovolcánico Transversal usando las variables no redundantes que caracteriza a cada elemento del canto. a) *Trino*, b) sílabo *a*.

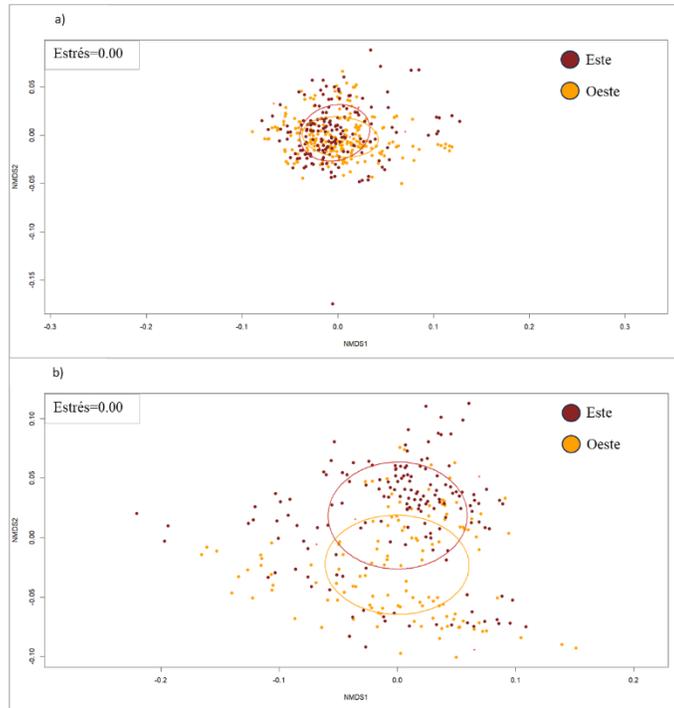


Figura 6: Resultados del análisis de Escalamiento Multidimensional no Métrico (NMDS) considerado para el Criterio II para las diferentes unidades acústicas del repertorio vocal del complejo *Pipilo* y sus híbridos a lo largo del Eje Neovolcánico Transversal usando las variables no redundantes que caracteriza a cada elemento del canto. a) *Trino*, b) sílaba *a*.

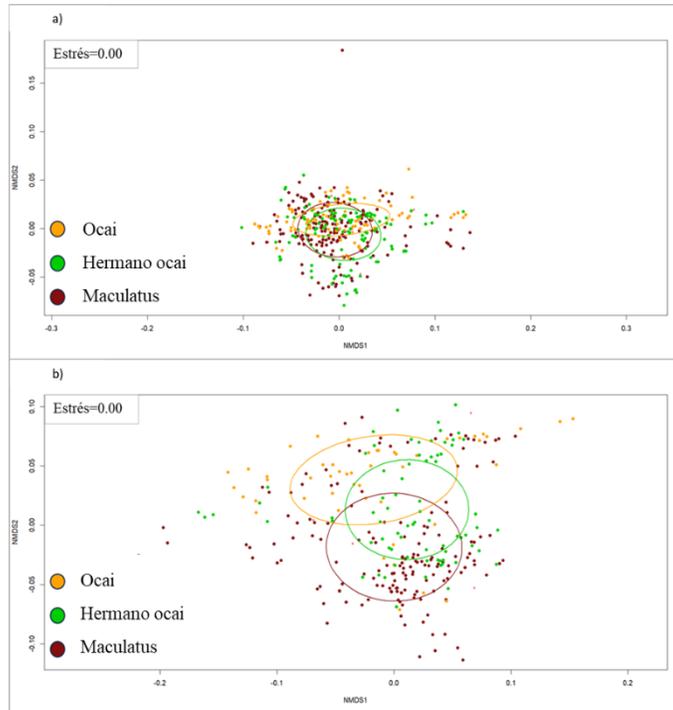


Figura 7: Resultados del análisis de Escalamiento Multidimensional no Métrico (NMDS) considerado para el Criterio III para las diferentes unidades acústicas del repertorio vocal del complejo *Pipilo* y sus híbridos a lo largo del Eje Neovolcánico Transversal usando las variables no redundantes que caracteriza a cada elemento del canto. a) *Trino*, b) sílab a.

## 8.2 ANÁLISIS DE FUNCIONES DISCRIMINANTES PERMUTADO

El Análisis de Funciones Discriminantes permutado (pDFA) indicó que, aunque la correcta clasificación de los elementos para los tres Criterios disminuyó después de la permutación, fue posible observar significativamente un efecto del tipo de agrupación para el Criterio I, solo con la sílab a, c y el *Trino*. Esto indica que es más probable encontrar ocho grupos acústicos, que dos o tres, si la especie utiliza estos tres elementos del canto. Además, en la sílab a también se tuvo un efecto para el Criterio II y III. El análisis también indicó que la sílab b no podría ser utilizada como una estrategia para diferenciar grupos acústicos, ya que no fue posible detectar un efecto significativo por tipo de agrupación en este elemento del canto (Tabla 1).

Tabla 1: Resultados del Análisis de Funciones Discriminantes permutado (AFDp) de acuerdo a los tres Criterios de agrupación para cada elemento del canto. Elementos del canto, \* y letras en negrillas muestra los valores de P con valores significativos.

Elementos del canto	Tipo de agrupación	% correcta clasificación permutación	% correcta pre-clasificación permutación	P post-post-permutación
<i>Trino</i>	8 grupos	33.03	24.47	<b>0.03*</b>
	2 grupos	60.97	58.27	0.17
	3 grupos	48.38	38.53	0.35
Sílabas <i>a</i>	8 grupos	38.27	29.25	<b>0.01*</b>
	2 grupos	72.34	71.09	<b>0.00*</b>
	3 grupos	57.20	57.09	<b>0.00*</b>
Sílabas <i>b</i>	8 grupos	29.22	22.90	0.22
	2 grupos	57.79	57.87	0.33
	3 grupos	40.18	39.32	0.49
Sílabas <i>c</i>	8 grupos	90.68	39.47	<b>0.02*</b>
	2 grupos	76.69	67.37	0.16
	3 grupos	62.66	54.58	0.15

### 8.3 ANÁLISIS PARA RECUPERAR LA IDENTIDAD DE LOS SITIOS BASADO EN LAS CARACTERÍSTICAS ACÚSTICAS DE LOS CANTOS

Los resultados del árbol de regresión indican que fue posible recuperar el origen geográfico de las vocalizaciones de manera correcta con un alto nivel para todos los elementos del canto, y los diferentes Criterios de agrupación para el complejo *Pipilo*. En general, al considerar todos los elementos del canto y en conjunto los tres Criterios revisados, el elemento del canto mejor clasificado fue la sílaba *a* en todos los Criterios. El peor elemento del canto clasificado para el Criterio I fue el *Trino*, mientras que para el Criterio II y III fue la sílaba *b* (Tabla 2 y 3, Apéndice Tabla 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 y 14). El promedio general de correcta clasificación combinado para sílaba *a*, *b*, *c* y *Trino* para el Criterio I (ocho grupos) fue el más

alto (87.6%). La clasificación promedio de correcta clasificación combinado para sílaba *a*, *b*, *c* y *Trino* para el Criterio II (grupo Oeste y Este) fue el peor Criterio clasificado (78.8%). Por último, el Criterio III (ocai, hermano ocai y maculatus) obtuvo una correcta clasificación promedio de 80.4% combinado para sílaba *a*, *b*, *c* y *Trino*. Los atributos explicativos en cada uno de los elementos del canto sirvieron para indicar la contribución de cada variable de los elementos del canto que mejor ayudan a recuperar el origen geográfico. Para el caso de la sílaba *a* y la sílaba *c*, la variable que mejor ayuda a la agrupación fue el ancho de banda. Mientras que para la sílaba *b* y el *Trino*, la variable acústica que mejor ayuda en la agrupación fue la Duración de la frase (Tabla 4). De los sitios centrales, Paracho y Paramuen fueron los que tuvieron el nivel más bajo de correcta clasificación para la sílaba *a* y el *Trino*, respectivamente. Mientras que Mazamitla fue el peor clasificado para la sílaba *b* y Colima fue para la sílaba *c*.

Tabla 2: Matriz de confusión mostrando el porcentaje de correcta clasificación en la prueba del Criterio I para la Sílaba *a*. Se muestra el número de casos en cada elemento del canto que fue asignado correctamente a cada sitio para cada comparación.

Correcta clasificación 91.02%								clasificado como	% de correcta clasificación por sitio
a	b	c	d	e	f	j	h		
21			1		1			a - Colima	91.30
	22					1	1	b - Mazamitla	91.67
	1	24		1	1		1	c - Paracho	85.71
1			33		1	2	2	d - Paramuen	84.62
1	1		1	32			1	e - Cerro de Garnica	88.89
1					25			f - Anganguero	96.15
				1		34		g - Desierto de los Leones	97.14
1			1			1	38	h - Nanacamilpa	92.68

Tabla 3: Matriz de confusión mostrando el porcentaje de correcta clasificación en la prueba del Criterio I para el *Trino*. Se muestra el número de casos en cada elemento del canto que fue asignado correctamente a cada sitio para cada comparación.

Correcta clasificación 87.50 %								clasificado como:	% de correcta clasificación por sitio
a	b	c	d	e	f	j	h		
34	1	3	1					a - Colima	87.18
	39	1					1	b - Mazamitla	95.12
	1	35	1	2	1	1	1	c - Paracho	83.33
2	1	4	48		1	1		d - Paramuen	84.21
1	1		1	28	1		1	e - Cerro de Garnica	84.85
1	1	1	2		38			f - Anganguero	88.37
1		1		2			34	g - Desierto de los Leones	89.47
	3		1		1		35	h - Nanacamilpa	87.50

Tabla 4: Atributos explicativos en porcentaje utilizado en cada elemento del canto para indicar la contribución de cada variable característica de los elementos del canto que mejor ayudan a recuperar el origen geográfico.

Sílaba <i>a</i>	Sílaba <i>b</i>	Sílaba <i>c</i>	<i>Trino</i>
Ancho de banda 100.00%	Duración de la frase 100.00%	Ancho de banda 100.00%	Duración de la frase 100.00%
Pico Hz 71.65%		Pico Hz 79.79%	Ancho de banda 85.29%
Duración de la frase 59.45%		Inicio Hz 57.45%	Tasa de <i>Trino</i> 77.78%
		Duración de la frase 40.43%	Pico Hz 66.37%
			Inicio Hz 65.77%

## 8.4 EVALUACIÓN DEL PATRÓN DE VARIACIÓN CLINAL POR CORRELACIONES CRUZADAS DE ESPECTROGRAMA

Las pruebas de Mantel para evaluar el Criterio IV mostraron que para tres elementos del canto la distancia geográfica entre los ocho sitios estuvo negativamente correlacionada con la matriz de similitud, inclusive después de controlar por medidas repetidas. Además, todos los valores de  $r$  fueron muy bajos, lo que muestra que se explica muy poco la relación. Esta relación entre matrices no se mostró en la sílaba  $c$  (Tabla 5).

Tabla 5. Resultados de las pruebas de Mantel Simple y Parcial de la matriz de distancia entre sitios con la matriz de similitud calculada con las correlaciones cruzadas de cada elemento del canto. \* indica las matrices que estuvieron asociadas significativamente.

Elementos del canto	r		p	
	Simple	Parcial	Simple	Parcial
Sílaba $a$	-0.06851	-0.06661	>0.01*	>0.01*
Sílaba $b$	-0.07237	-0.07058	>0.01*	>0.01*
Sílaba $c$	0.03856	0.04526	0.140	0.091
<i>Trino</i>	-0.03840	-0.03996	>0.01*	>0.01*

## 8.5 ANÁLISIS DE COMPARACIÓN DENTRO Y ENTRE GRUPOS

Para la sílaba  $a$ ,  $b$  y el *Trino* se tuvo una similitud entre grupos significativamente más baja en comparación que dentro del grupo para los tres Criterios de agrupación (Tabla 6). La similitud mostró una tendencia a tener valores mayores en las vocalizaciones dentro del sitio que las comparaciones de las vocalizaciones de individuos entre sitios (Fig. 8 y Apéndice Fig. 4). Además, los valores de similitud entre sitios se mantuvieron consistentes independientemente de la distancia. Esto sugiere que, aunque los valores promedio de similitud son similares dentro o fuera del sitio, una vez que se sale de cada sitio los valores de similitud mayores desaparecen.

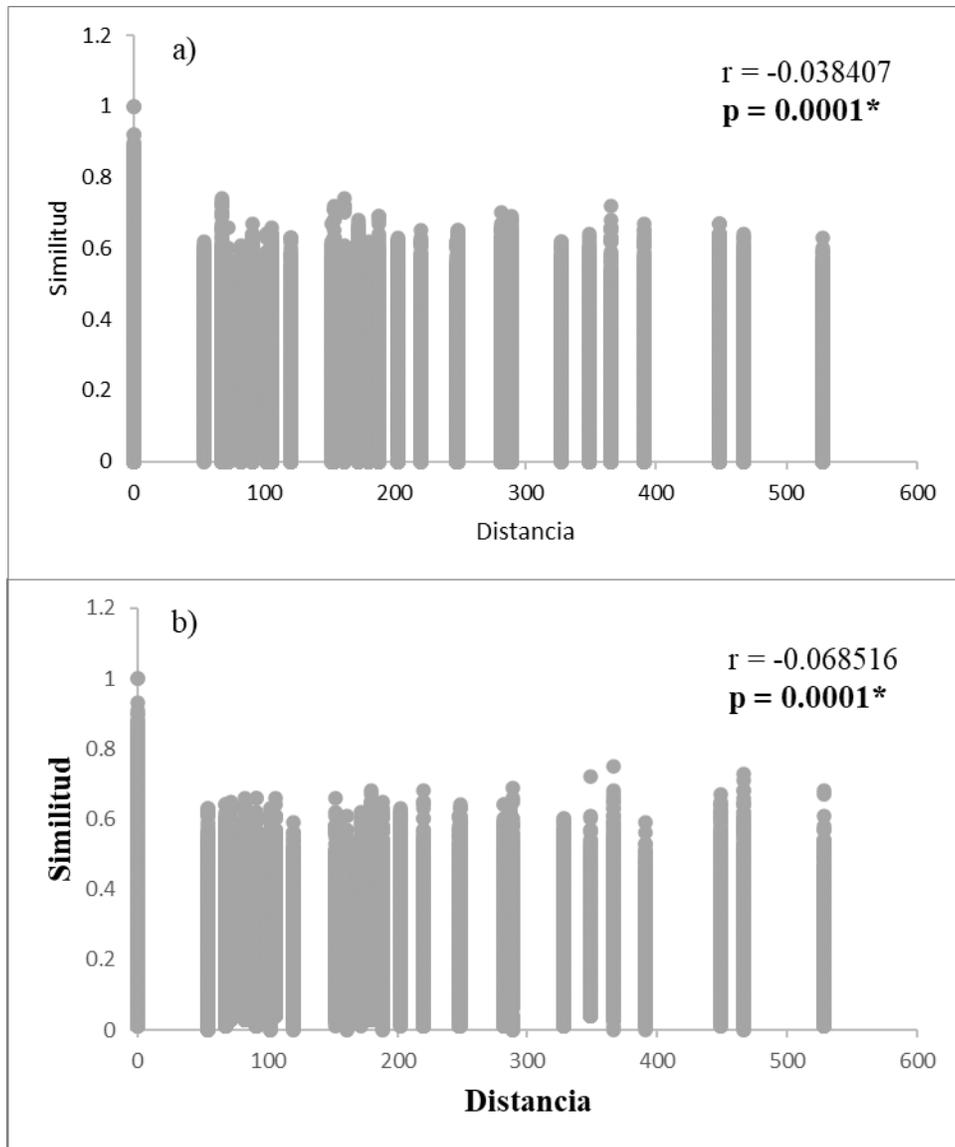


Figura 8: Gráfica de los valores de similitud resultantes de las correlaciones cruzadas de espectrogramas para las comparaciones por distancia. También se muestran los valores de  $r$  y de significancia de las pruebas de Mantel. a) *Trino* y b) sílaba *a*.

Tabla 6: Resultados de la prueba de t para los Criterios de agrupación entre los valores de similitud dentro de los grupos y los valores similitud entre los grupos. Promedio dentro de las poblaciones con su desviación estándar (PromD  $\pm$  DE), Promedio entre de las poblaciones con su desviación estándar (PromE  $\pm$  DE). \* indica diferencias significativas.

<b>Criterio de agrupación</b>	<b>Elementos del canto</b>	<b>t</b>	<b>PromD <math>\pm</math> DE</b>	<b>PromE <math>\pm</math> DE</b>	<b>p</b>
Ocho	<i>a</i>	-14.25	0.29 $\pm$ 0.16	0.26 $\pm$ 0.12	> <b>0.001</b> *
	<i>b</i>	-13.16	0.22 $\pm$ 0.19	0.17 $\pm$ 0.13	> <b>0.001</b> *
	<i>c</i>	-10.69	0.28 $\pm$ 0.18	0.21 $\pm$ 0.09	> <b>0.001</b> *
	<i>Trino</i>	-13.61	0.31 $\pm$ 0.16	0.29 $\pm$ 0.12	> <b>0.001</b> *
Dos	<i>a</i>	-10.24	0.27 $\pm$ 0.27	0.26 $\pm$ 0.12	> <b>0.001</b> *
	<i>b</i>	-5.09	0.18 $\pm$ 0.15	0.17 $\pm$ 0.13	> <b>0.001</b> *
	<i>c</i>	-3.33	0.23 $\pm$ 0.12	0.22 $\pm$ 0.09	> <b>0.001</b> *
	<i>Trino</i>	-5.1	0.29 $\pm$ 0.14	0.29 $\pm$ 0.13	> <b>0.001</b> *
Tres	<i>a</i>	-9.62	0.27 $\pm$ 0.13	0.26 $\pm$ 0.12	> <b>0.001</b> *
	<i>b</i>	-6.66	0.19 $\pm$ 0.16	0.17 $\pm$ 0.13	> <b>0.001</b> *
	<i>c</i>	-6.8	0.24 $\pm$ 0.14	0.21 $\pm$ 0.09	> <b>0.001</b> *
	<i>Trino</i>	-2.54	0.29 $\pm$ 0.15	0.29 $\pm$ 0.13	<b>0.01</b> *

Si bien los valores promedio para las comparaciones entre grupos de cada Criterio de agrupación fueron muy cercanas a las comparaciones dentro de los grupos para todos los Criterios agrupación, la distribución de los valores para las comparaciones dentro del grupo mostraron más frecuentemente valores más alto de similitud (Fig. 9, 10 y 11, Apéndice, Fig. 5, 6 y 7). Además, se tuvo una amplia dispersión de estos valores de similitud, con valores tanto bajos como altos inclusive dentro del mismo sitio.

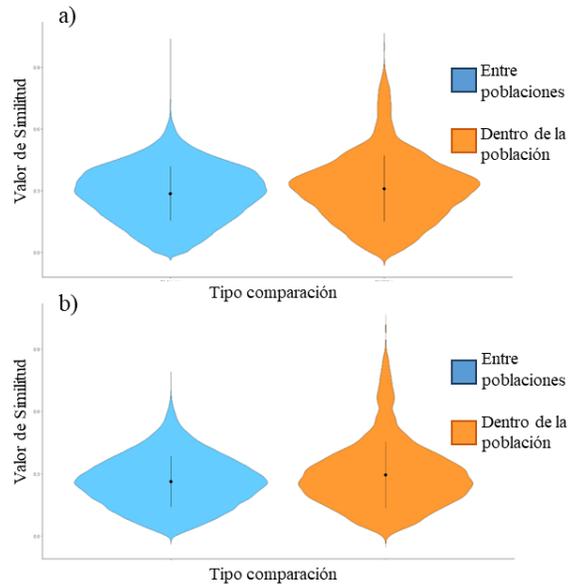


Figura 9: Grafica de violín de los valores de similitud dentro y fuera de los sitios para el Criterio I. a) *Trino* y b) sílabo *a*.

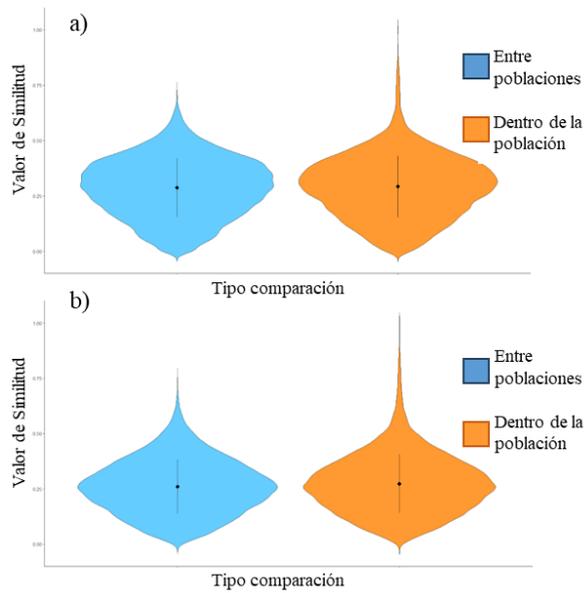


Figura 11: Grafica de violín de los valores de similitud dentro y fuera de los sitios para el Criterio II. a) *Trino* y b) sílabo *a*.

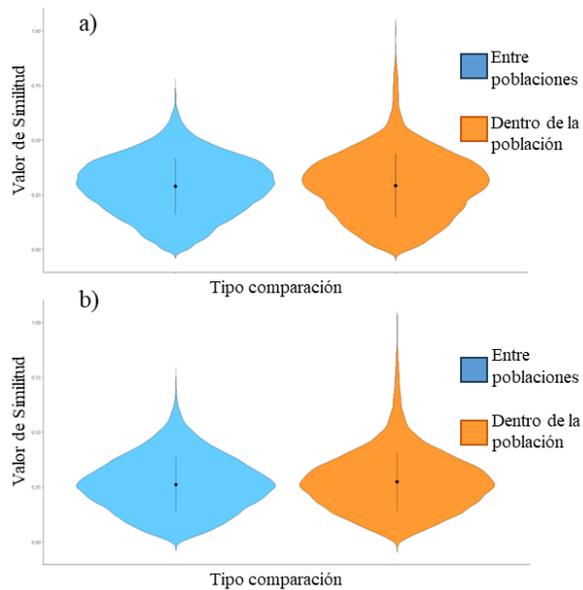


Figura 10: Grafica de violín de los valores de similitud dentro y fuera de los sitios para el Criterio III. a) *Trino* y b) sílaba *a*.

## 8.6 ANÁLISIS DE COMPARACIÓN ENTRE LOS SITIOS EXTREMOS

Los resultados de la prueba de t mostraron que la mayoría de las comparaciones entre los sitios extremos, Colima y Nanacamilpa, no fueron diferentes en la mayoría de los elementos del canto y sus variables, a excepción de la sílaba *a*. En la sílaba *a* la única variable que no fue diferente entre sitios fue duración. La variable que mostró diferencia en la sílaba *b* fue Pico Hz y para la sílaba *c* Inicio Hz. El *Trino* no mostró diferenciación para ninguna variable (Tabla 6). Esto indica que solo la sílaba *a* puede ayudar a diferenciar entre sitios extremos.

Tabla 6: Resultados de la prueba de t de las variables del canto para las comparaciones entre los sitios extremos del rango de distribución del complejo *Pipilo*, mostrando el promedio y la desviación estándar de Colima (Prom  $\pm$  DE C), mostrando el promedio y la desviación estándar de Nanacamilpa (Prom  $\pm$  DE N).

Elemento del canto	VARIABLES del canto	Estadístico	Prom $\pm$ DE N	Prom $\pm$ DE C
<i>a</i>	Pico Hz	t = -2.51, 59, <b>p = 0.01*</b>	3,664.75 $\pm$ 840.32	3,200.08 $\pm$ 644.86
	Duración de la frase	t = -1.48, 50, p = 0.14	0.36 $\pm$ 0.14	0.31 $\pm$ 0.13
	Ancho de banda	t = 3.30, 30 <b>p = 0.00*</b>	0.13 $\pm$ 0.07	0.23 $\pm$ 0.13
	minDom	t = 3.14, 62, <b>p = 0.00*</b>	1.98 $\pm$ 0.64	2.40 $\pm$ 0.44
<i>b</i>	Pico Hz	t = 2.30, 26, <b>p = 0.02*</b>	5,943.16 $\pm$ 1,319.19	6,880.21 $\pm$ 1,048.50
	Duración de la frase	t = 1.88, 34, p = 0.06	0.36 $\pm$ 0.08	0.42 $\pm$ 0.13
<i>c</i>	Pico Hz	t = 0.52, 12, p = 0.61	4,694.24 $\pm$ 388.08	4,859.44 $\pm$ 820.65
	Inicio Hz	t = -9.17, 13, <b>p = 0.00*</b>	8,168.26 $\pm$ 379.05	5,614.19 $\pm$ 693.90
	Final Hz	t = -0.18, 13, p = 0.85	3,875.98 $\pm$ 425.46	3,829.49 $\pm$ 550.87
	Duración de la frase	t = -0.72, 9, p = 0.48	0.55 $\pm$ 0.03	0.52 $\pm$ 0.12
	Ancho de banda	t = 0.34, 8, p = 0.73	0.20 $\pm$ 0.01	0.21 $\pm$ 0.08
<i>Trino</i>	Pico Hz	t = 0.31, 71, p = 0.75	5,099.06 $\pm$ 920.49	5,184.00 $\pm$ 1515.94

Inicio Hz	t = 1.32, 86, p = 0.18	6178.59 ± 1813.48	6651.33 ± 1552.50
Final Hz	t = 0.75, 87, p = 0.45	4,042.64 ± 1,365.97	4,258.58 ± 1,323.33
Duración de la frase	t = 0.89, 65, p = 0.37	0.78 ± 0.09	0.80 ± 0.18
Tasa de trino	t = 1.61, 56, p = 0.11	12.44 ± 3.98	15.11 ± 10.18
Ancho de banda	t = 0.11, 83, p = 0.90	0.09 ± 0.03	0.09 ± 0.04

### 8.7 ANÁLISIS DE COMPARACIÓN DE LOS SITIOS EXTREMOS CONTRA LA ZONA HÍBRIDA

Los resultados de la prueba de t de cada uno de los sitios parentales con los sitios donde estaban los híbridos mostraron que las comparaciones que fueron más destacables son las de la sílaba *a* en la comparación de Colima con híbridos, ya que fue diferente en tres variables. Mientras que el *Trino* fue el que presentó más diferencias en la comparación Nanacamilpa contra híbridos, con tres variables siendo significativamente diferentes. En los otros elementos del canto pocas variables tuvieron diferencias significativas (Tabla 7).

Tabla 7: Resultados de la prueba de t de las variables del canto para las comparaciones entre los sitios extremos y la zona híbrida del rango de distribución del complejo *Pipilo*, mostrando el promedio y la desviación estándar de Híbridos (Prom  $\pm$  DE H), estadístico de las diferencias de Nanacamilpa contra los Híbridos (Estadístico N/H) y estadístico de las diferencias de Colima contra los Híbridos (Estadístico C/H)

Elementos del canto	VARIABLES del canto	Estadístico N/H	Estadístico C/H	Prom $\pm$ DE H
<i>a</i>	Pico Hz	t = 0.27, 53 p = 0.78	t = -3.04, 29 <b>p = 0.00</b>	3,627.26 $\pm$ 698.75
	Duración de la frase	t = 0.93, 62 p = 0.35	t = -1.00, 30 p = 0.32	0.34 $\pm$ 0.16
	Ancho de banda	t = -2.01, 92 <b>p = 0.04</b>	t = 2.4727 <b>p = 0.02</b>	0.16 $\pm$ 0.11
	minDom	t = -1.65, 58 p = 0.10	t = 2.40, 35 <b>p = 0.02</b>	2.16 $\pm$ 0.66
<i>b</i>	Pico Hz	t = -2.7, 16 <b>p = 0.01</b>	t = -0.16, 27 p = 0.86	6,920.37 $\pm$ 999.59
	Duración de la frase	t = 0.87, 24 p = 0.39	t = 2.77, 28 <b>p = 0.00</b>	0.34 $\pm$ 0.13
<i>c</i>	Pico Hz	t = 0.27, 15 p = 0.78	t = 0.72, 13 p = 0.47	4,636.28 $\pm$ 1,241.16
	Inicio Hz	t = 6.46, 16 <b>p = 0.00</b>	t = -4.43, 15 <b>p = 0.00</b>	6,815.13 $\pm$ 1,268.92
	Final Hz	t = -0.16, 15 p = 0.87	t = -0.35, 21 p = 0.72	3,913.19 $\pm$ 1,337.83
	Duración de la frase	t = -2.30, 39 <b>p = 0.02</b>	t = -1.76, 11 p = 0.10	0.60 $\pm$ 0.15
	Ancho de banda	t = -4.88, 85 <b>p = 0.00</b>	t = -2.53, 17 <b>p = 0.02</b>	0.29 $\pm$ 0.16
<i>Trino</i>	Pico Hz	t = 0.48, 70 p = 0.62	t = 0.67, 52 p = 0.50	5,023.60 $\pm$ 1188.52
	Inicio Hz	t = -0.13, 57 p = 0.89	t = 1.70, 60 p = 0.09	6217.48 $\pm$ 1700.87
	Final Hz	t = -2.3, 64 <b>p = 0.02</b>	t = -1.42, 64 p = 0.15	4,573.23 $\pm$ 1,603.28
	Duración de la frase	t = 4.19, 79 <b>p = 0.00*</b>	t = 3.39, 51 <b>p = 0.00</b>	0.71 $\pm$ 0.14

Tasa de trino		t = -3.96, 150 <b>p = 0.00*</b>	t = -0.39, 57 p = 0.69	15.76 ± 9.52
Ancho de banda	de	t = -0.93, 66 p = 0.35	t = -0.64, 57 p = 0.51	0.09 ± 0.04

## 9 DISCUSIÓN

### 9.1 EVALUACIÓN DE UN PATRÓN CLINAL DE VARIACIÓN PRESENTE DEL OESTE AL ESTE

Los resultados de este estudio indican que la similitud de los elementos del canto va disminuyendo de forma clinal conforme aumenta la distancia. Este patrón estuvo presente en la mayoría de los elementos del canto entre los sitios y estos análisis sugerirían que hay concordancia con la clina genética que presenta este complejo (Sibley y West, 1958; Kingston, *et al.* 2012; Kingston, *et al.* 2017; DeRaad, *et al.* 2023). La clina vocal es uno de los cambios de vocalizaciones que se ha encontrado en aves como el Mosquerito verdoso (*Phylloscopus trochiloides*), Ojos de fuego (*Pyriglena sp.*), Verderón corso (*Carduelis corsicana*), el batará variable (*Thamnophilus caerulescens*), Chipe negrogris (*Setophaga nigrescens*), Colirrojo dáurico (*Phoenicurus aureus*) y regularmente se explica por un proceso de difusión cultural. La difusión cultural es uno de los procesos asociados al aprendizaje vocal que pueden presentar las aves oscinas o con aprendizaje vocal en caracteres transmitidos culturalmente, donde aspectos culturales son transmitidos por movimiento de los organismos (Payne, *et al.* 1981; Ford, 1991; Irwin, 2000; Forschler y Kalko, 2007; Janes y Ryker, 2011; Lee, *et al.* 2019; Maldonado-Coelho, *et al.* 2023). Sin embargo, al comparar los valores de similitud dentro y entre sitios se pudo observar que el patrón de cambio clinal con la distancia en este sistema parece más bien ser el resultado de una similitud mayor entre los individuos dentro de un mismo sitio y un abrupto cambio a una menor similitud entre sitios, y no al cambio gradual de las vocalizaciones con la distancia que supone una clina. Estos altos valores de similitud dentro del sitio podrían estar sugiriendo que los individuos tienen una alta membresía de sitio, ya que una vez que las comparaciones se hacen fuera del sitio, la similitud se mantiene prácticamente similar independientemente de la distancia entre los sitios. La constancia en la similitud de las vocalizaciones con la distancia en el área muestreada sugiere que, aunque los organismos del complejo de hibridación *Pipilo* presentan una fuerte filopatría, ellos pueden estar desplazándose entre los sitios cercanos muestreados a lo largo del Eje Neovolcánico Transversal.

Los resultados del árbol de regresión con una mejor clasificación para el Criterio I y del análisis de funciones discriminantes, apoyan la idea de que la agrupación del Criterio I, de ocho sitios, es un mejor Criterio de agrupación acústica que los otros tres Criterios. Que los individuos

puedan mejor agruparse para cada uno de los ocho sitios podría estar indicando que los individuos están señalizando preferentemente su membresía de sitio (Lee, *et al.* 2019; Sosa-López y Mennill, 2014; Soha, *et al.*, 2004; Baker, M. C. 1991; Marler y Tamura, 1962). Que un individuo indique que pertenece a un sitio puede por un lado indicar una baja movilidad de los organismos, y por lo tanto estar interactuando constantemente con otros individuos. Esta especie, al ser un oscino passerino presenta aprendizaje vocal, y entonces una constante interacción con miembros del mismo sitio potencialmente puede ocasionar un incremento en la similitud de los cantos con otros individuos del mismo sitio. La formación de los ocho grupos vocales por parte de los individuos de cada uno de sus sitios puede también ser evidente en la estabilidad temporal genética de las poblaciones en por lo menos 70 años (DeRaad, *et al.* 2023). Sin embargo, no existe información sobre la magnitud del movimiento de los individuos de alguna de las dos especies parentales, o de los híbridos, que pudiera sugerir que los individuos presentan permanencia en sitios o que presenten la capacidad de moverse entre sitios.

## **9.2 DIFERENTES PARTES DEL CANTO INDICAN SEÑALES DIFERENTES**

Por otra parte, los resultados también indicaron que usando la sílaba *a* fue posible recuperar los grupos acústicos usando los Criterios I II y III para la mayoría de las vocalizaciones, y que se pueden formar grupos a diferentes escalas geográficas con la sílaba *a*. En el presente estudio el análisis no se hizo en todo el canto, pero si en los elementos identificados como las sílabas. Que todos los Criterios de agrupación hayan sido identificados en la sílaba *a* y no en las otras sílabas podría sugerir que diferentes partes del canto pueden estar pasando por diferentes rutas evolutivas, y que solo la sílaba *a* podría servir como una señal para indicar la identidad ya sea de sitio, o de grupo. Es posible encontrar que no solo diferentes tipos de las vocalizaciones del repertorio varíen en su patrón geográfico (Lee *et al.* 2019), o también pueden variar en las características finas de las vocalizaciones (Bolus 2014). Se ha encontrado que las diferencias acústicas pueden ayudar a diferenciar las poblaciones en otras especies. Por ejemplo, en dos grupos de *Geothlypis trichas*, orientales y occidentales, se encontró que ciertas partes de sus vocalizaciones influyen en el reconocimiento y selección de pareja separando a los dos grupos (Bolus, 2014).

Para determinar si los organismos de cada sitio o de cada grupo evaluado en el Eje Neovolcánico Transversal están enfocándose en una parte del canto para indicar su membresía sitio o de grupo, sería necesario hacer evaluaciones de discriminación considerando las partes del canto en las que cada sitio se destaca. A lo largo de la distribución de este complejo de hibridación en el Eje Neovolcánico Transversal se ha identificado un gradiente de hibridación genético, con individuos de poblaciones al Este del Eje Neovolcánico Transversal; sin embargo, esto no concordaría como tal con la presencia de un cambio clinal, pero sí con una membresía de grupo a un nivel regional, grupo Este y grupo Oeste.

Los resultados de este análisis también proveyeron apoyo para los Criterios II y III. Sin embargo, estos Criterios no son una mejor explicación para la agrupación acústica por sitio. Usando la similitud genética los sitios pudieron agruparse en los Criterios II y III, los cuales correspondieron con los grupos acústicamente formados en este estudio. Esto podría sugerir que los mismos factores que propician la formación de los grupos genéticos están influyendo en la formación de los grupos acústicos identificados, pero únicamente en un elemento del canto y con una menor fuerza que indicar la membresía de sitio. DeRaad, *et al.* (2023) indican que la presencia de tres grupos genéticos podrían ser el resultado del aislamiento del grupo ocai, hermano ocai y maculatus debido a evento de glaciación durante la historia evolutiva de las especies. Por lo que el presente análisis podría haber detectado esta diferenciación de tres grupos acústicos en el centro de la franja de hibridación. Así, al momento del aislamiento por la glaciación los individuos del grupo ocai y hermano ocai podrían haber estado interactuando más entre ellos, fomentando así la formación de los tres grupos detectados en el presente estudio y que expresan el patrón acústico actual.

### **9.3 LAS VOCALIZACIONES COMO UN FACTOR QUE FOMENTA LA HIBRIDACIÓN.**

También se encontró que las especies parentales fueron diferentes entre sí y con los híbridos solo para la sílaba *a*. Esto podría estar sugiriendo que la sílaba *a* podría ser un elemento del canto que fuertemente influye en no fomentar la hibridación; sin embargo, varias partes del canto no pueden ser utilizadas para indicar algún Criterio de agrupamiento y por lo tanto varias

partes del canto podrían estar fomentando la hibridación de este complejo *Pipilo*. También se observó que algunos de los elementos del canto no se agruparon correctamente en su sitio de origen, y fueron asignadas a otros sitios en el análisis de agrupación, debido a que no fue posible separar correctamente todos los sitios en el espacio acústico en la mayoría de los elementos del canto. Esta falta de diferenciación en el espacio acústico se presentó por ejemplo en el *Trino* y la sílaba *b*, donde prácticamente todos los sitios ocupan el mismo espacio acústico. Entonces, tomando en conjunto el patrón acústico del complejo podría significar que las vocalizaciones presentan un alto grado de similitud en sus propiedades acústicas finas hace que los individuos de los diferentes sitios o grupos no puedan diferenciarse completamente entre ellos. Así, los sitios son acústicamente discriminables solo con la sílaba *a*, pero no con los demás elementos del canto, facilitando la hibridación.

La hibridación podría suceder cuando los organismos se mueven entre sitios colindantes y a pesar de tener pequeñas diferencias acumuladas en las vocalizaciones conforme se mueven entre sitios, los organismos podrían aún reconocerse como conespecíficos y eventualmente hibridar. La baja diferenciación acústica que presenta este complejo puede deberse a que es una especie de ave oscina passerina, que presenta aprendizaje vocal, y por lo tanto sus vocalizaciones podrían presentar cambios inclusive dentro de la misma generación o a través del tiempo (Wright y Wilkinson, 2001). No se tiene información histórica que pudiera darnos alguna información sobre el patrón de variación acústica previo, pero el patrón genético y del plumaje apoyaría la idea que la especie también ha presentado históricamente la permanencia del sitio (Sibley y West, 1958; Kingston, *et al.* 2012; Kingston, *et al.* 2017; DeRaad, *et al.* 2023). Aunque demostramos que en una parte del canto del complejo *Pipilo* se presentan las agrupaciones propuestas en los tres Criterios, es posible observar que en la mayor parte del canto presentan mucha similitud en las características acústicas. Esta similitud en las vocalizaciones podría ser uno de los factores que aún fomentan una falta de discriminación entre los individuos de los diferentes sitios, y por lo tanto la presencia de híbridos.

#### 9.4 ZONAS DE CONTACTO AMPLIAS

Los resultados de este estudio en las unidades acústicas revisadas indican que existe una variación en la estructura espectral de las vocalizaciones de individuos de ocho localidades distribuidas a lo largo del rango de distribución del complejo *Pipilo* en el Eje Neovolcánico Transversal, desde Colima hasta Puebla. Esto representa un área extensa en la que se pueden presentar las especies parentales en los extremos Este (Puebla) y Oeste (Colima), y también es posible encontrar individuos híbridos en el centro del rango de distribución de estas especies (DeRaad, *et al.* 2023). Esto significa que los híbridos ocupan una zona de contacto amplia, de alrededor de 391 km a lo largo del Eje Neovolcánico Transversal, que es diferente a lo reportado en otros complejos de hibridación. La zona de contacto que regularmente se reportan en otros complejos de hibridación en especies de ave como *Malurus melanocephalus cruentatus* y *M. m. melanocephalus*, *Calocitta formosa* y *C. colliei*, *Setophaga virens* y *S. townsendi*, suele ser restringida o delimitada a un rango pequeño (Pizarro, *et al.* 2023; Kenyon, *et al.* 2016; Baldassarre, *et al.* 2014).

Se ha indicado que las implicaciones de una zona de contacto amplia es que los organismos muestren poco cambio tanto genotípico como fenotípico en el plumaje (Sibley y West, 1958; Kingston, *et al.* 2012; Kingston, *et al.* 2017; DeRaad, *et al.* 2023). El presente trabajo apoyaría la idea de que las vocalizaciones de una especie con un área de contacto grande no presentan cambios marcados. A esto hay que agregar el hecho de que las vocalizaciones de las especies parentales en los sitios extremos revisados, Colima y Nanacamilpa, están separadas por alrededor de 530 km y solo tuvieron una diferenciación acústica en la sílaba *a*. Entonces, el patrón observado en este estudio, donde los híbridos presentan un alto nivel de semejanza con el canto de las especies parentales, es distinto a lo que se observa regularmente en las especies y subespecies que presentan hibridación en una zona de contacto pequeña. Así, especies con zonas de contacto pequeña muestran que el híbrido tiene una similitud mayor y marcada con algunos de los dos parentales en la estructura espectral del canto (Shipilina, *et al.* 2017; Halfwerk, *et al.* 2016; Kleindorfer, *et al.* 2013; Vabishchevich y Formozov, 2010; Dingle, *et al.* 2008; Gelter, 1987), a comparación de un cambio mínimo paulatino, pero sin mostrar una tendencia a que especies parental se está pareciendo más.

## 9.5 PERSPECTIVAS A FUTURO

Basado en los datos encontrados, se podría decir que una parte limitada del canto es utilizada para diferenciarse entre sitios o grupos, y que sería necesario generar nuevos estudios para identificar la parte del canto que utilizan las aves de este complejo de hibridación para reconocerse. Esto podría dar pie a futuros estudios, en donde se hagan comparaciones a lo largo del tiempo y determinar si los cantos se mantienen geográficamente. Además, sería recomendable analizar la sintaxis de los cantos en los ocho sitios muestreados y determinar si la diferencia de los sitios por el canto sucede por medio de la sintaxis y no en su parte espectral. Esto podría realizarse haciendo pruebas mediante un análisis de la estructura de las sílabas de cada elemento del canto, debido a que acústicamente pueden ser muy similares en sus estructuras finas, pero no estructuralmente en el tipo de sílabas que presenta cada elemento del canto.

También encontramos que la similitud de las vocalizaciones entre especies parentales y los híbridos fueron diferentes, pero solo con la sílaba *a*. Es necesario evaluar si estas diferencias significativas en un solo elemento del canto tienen un significado biológico. Para esto sería necesario realizar estudios simulando invasiones de territorios mediante el uso de playback para evaluar el impacto real de la variación vocal en la hibridación de este complejo. Además, considerando la variación que también fue observado en el plumaje (DeRaad, *et al.* 2023), es necesario determinar el impacto de este carácter fenotípico en la hibridación, así como evaluar conjuntamente la variación del plumaje con el canto.

## 10 APÉNDICE

Tabla 1: Resultados de Análisis de correlación de las variables acústicas para la sílaba *a*.

	Pico Hz	Duración de la frase	Ancho Banda	min Dom	Inicio Hz	Final Hz	Prom HZ Dom	max Dom
Pico Hz	1	0.32	0.11	0.39	0.52	0.54	0.8	0.71
Duración de la frase	0.32	1	0.3	-0.13	0.21	0.11	0.23	0.47
AnchoBanda	0.11	0.3	1	0.03	0.06	0.04	0.12	0.14
minDom	0.39	-0.13	0.03	1	0.4	0.66	0.69	0.34
Inicio Hz	0.52	0.21	0.06	0.4	1	0.24	0.63	0.7
Final Hz	0.54	0.11	0.04	0.66	0.24	1	0.71	0.49
Prom HZ Dom	0.8	0.23	0.12	0.69	0.63	0.71	1	0.76
maxDom	0.71	0.47	0.14	0.34	0.7	0.49	0.76	1

Tabla 2: Resultados de Análisis de correlación de las variables acústicas para la sílaba *b*.

Sílaba *b*

	Pico Hz	Inicio Hz	Final Hz	Duración de la frase	Ancho de Banda de la sílaba	Prom HZ Dom	min Dom	max Dom
Pico Hz	1	0.58	0.86	-0.26	-0.19	0.91	0.91	0.58
Inicio Hz	0.58	1	0.42	0.09	0.1	0.69	0.55	0.81
Final Hz	0.86	0.42	1	-0.37	-0.26	0.84	0.87	0.47
Duración de la frase	-0.26	0.09	-0.37	1	0.91	-0.17	-0.33	0.11
Ancho de banda de la sílaba	-0.19	0.1	-0.26	0.91	1	-0.08	-0.21	0.14
Prom HZ Dom	0.91	0.69	0.84	-0.17	-0.08	1	0.9	0.76

minDom	0.91	0.55	0.87	-0.33	-0.21	0.9	1	0.54
maxDom	0.58	0.81	0.47	0.11	0.14	0.76	0.54	1

Tabla 3: Resultados de Análisis de correlación de las variables acústicas para la sílaba *c*.

Sílaba <i>c</i>								
	Pico Hz	Inicio Hz	Final Hz	Duración de la frase	Ancho de Banda de la sílaba	Prom HZ Dom	min Dom	max Dom
Pico Hz	1	0.28	0.05	0.13	-0.1	0.58	0.1	0.46
Inicio Hz	0.28	1	-0.29	0.21	-0.09	0.46	0	0.68
Final Hz	0.05	-0.29	1	-0.05	0.41	0.37	0.71	-0.12
Duración de la frase	0.13	0.21	-0.05	1	0.08	0.2	-0.02	0.26
Ancho de banda de la sílaba	-0.1	-0.09	0.41	0.08	1	0.18	0.48	-0.1
Prom HZ Dom	0.58	0.46	0.37	0.2	0.18	1	0.5	0.63
minDom	0.1	0	0.71	-0.02	0.48	0.5	1	0.03
maxDom	0.46	0.68	-0.12	0.26	-0.1	0.63	0.03	1

Tabla 4: Resultados de Análisis de correlación de las variables acústicas para la *Trino*.

<i>Trino</i>									
	Pico Hz	Inicio Hz	Final Hz	Duración de la frase	Tasa de trino	Ancho de banda de la sílaba	Prom HZ Dom	min Dom	max Dom
Pico Hz	1	0.31	0.49	0.07	0.42	-0.16	0.85	0.7	0.56
Inicio Hz	0.31	1	0.11	0.18	0.09	0.08	0.37	0.27	0.5
Final Hz	0.49	0.11	1	-0.03	0.31	-0.16	0.56	0.56	0.29

Duración de la frase	0.07	0.18	-0.03	1	-0.38	0.2	0.06	-0.14	0.21
Tasa de trino	0.42	0.09	0.31	-0.38	1	-0.41	0.43	0.56	0.12
Ancho de banda de la sílaba	-0.16	0.08	-0.16	0.2	-0.41	1	-0.12	-0.22	0.11
Prom HZ Dom	0.85	0.37	0.56	0.06	0.43	-0.12	1	0.8	0.73
minDom	0.7	0.27	0.56	-0.14	0.56	-0.22	0.8	1	0.43
maxDom	0.56	0.5	0.29	0.21	0.12	0.11	0.73	0.43	1

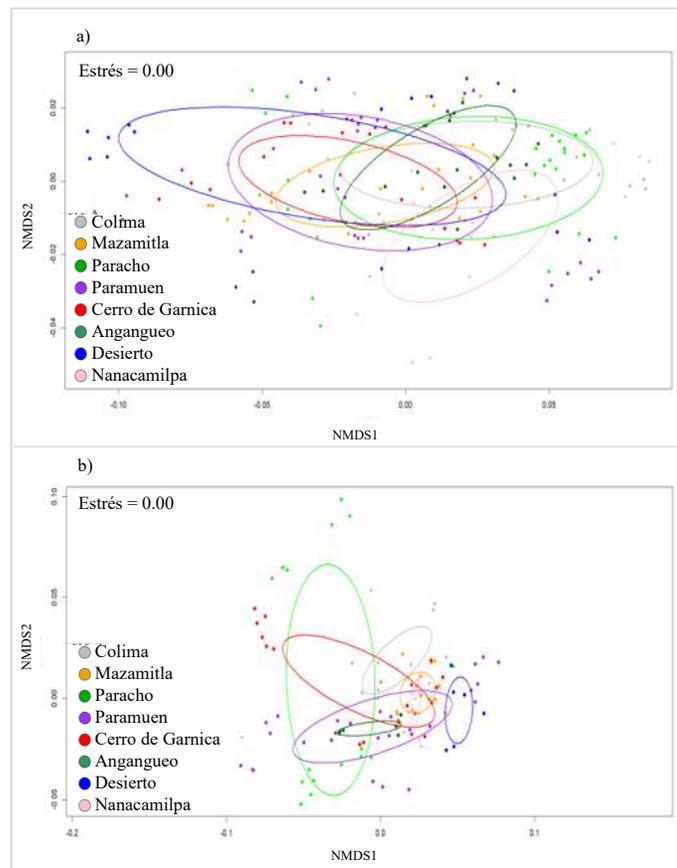


Figura 1: Resultados del análisis de Escalamiento Multidimensional no Métrico (NMDS) considerado para el Criterio I para las diferentes unidades acústicas del repertorio vocal del complejo *Pipilo* y sus híbridos a lo largo del Eje Neovolcánico Transversal usando las variables no redundantes que caracteriza a cada elemento del canto. a) Sílaba *b*, b) sílaba *c*.

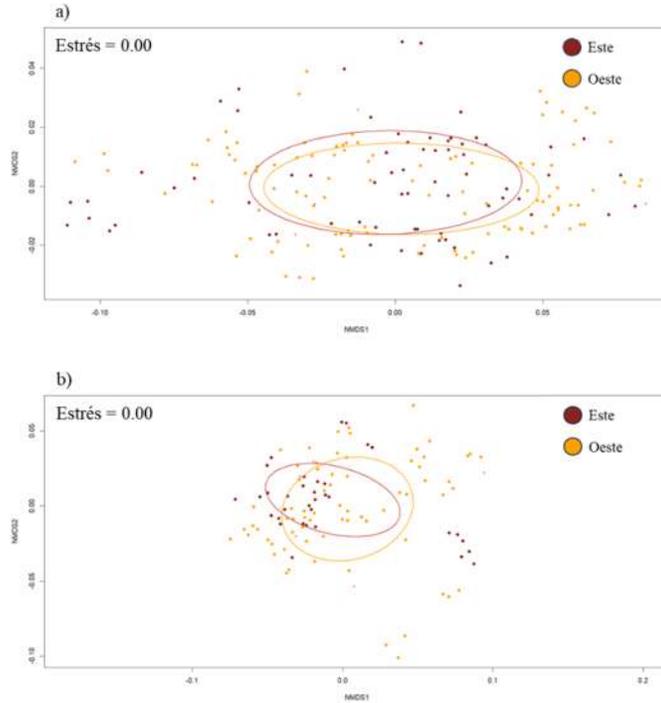


Figura 2: Resultados del análisis de Escalamiento Multidimensional no Métrico (NMDS) considerado para el Criterio II para las diferentes unidades acústicas del repertorio vocal del complejo *Pipilo* y sus híbridos a lo largo del Eje Neovolcánico Transversal usando las variables no redundantes que caracteriza a cada elemento del canto. a) Sílabas *b*, b) sílabas *c*.

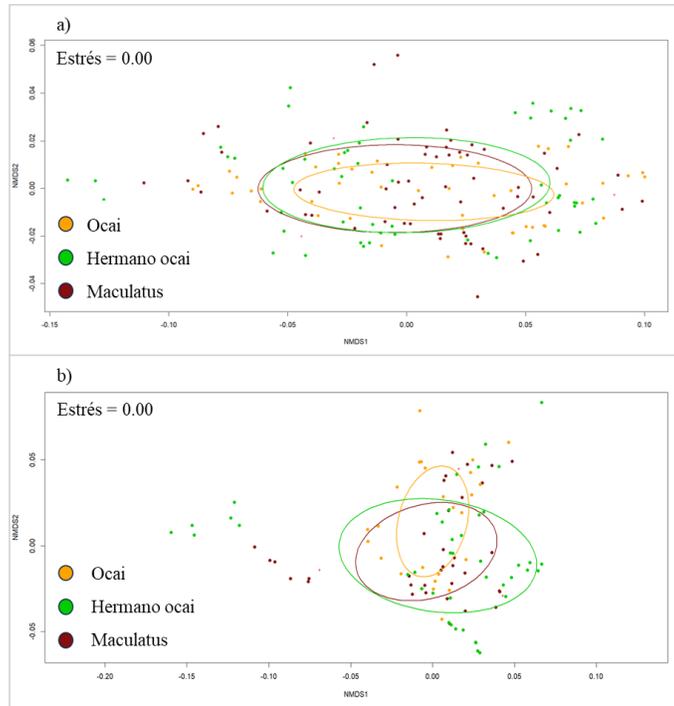


Figura 3: Resultados del análisis de Escalamiento Multidimensional no Métrico (NMDS) considerado para el Criterio III para las diferentes unidades acústicas del repertorio vocal del complejo *Pipilo* y sus híbridos a lo largo del Eje Neovolcánico Transversal usando las variables no redundantes que caracteriza a cada elemento del canto. a) Sílabas *b*, b) sílabas *c*.

Tabla 5: Matriz de confusión mostrando el porcentaje de correcta clasificación en la prueba del Criterio I que tuvo la Sílabla *b*. Se muestra además el número de casos en cada elemento del canto que fue asignado correctamente a cada sitio para cada comparación.

Correcta clasificación 88.66%								clasificado como	% de correcta clasificación por sitio
a	b	c	d	e	f	g	h		
20				1	1			a - Colima	90.91
	21			1	3		1	b - Mazamitla	80.77
	1	18						c - Paracho	94.74
	1		27		4			d - Paramuen	84.38
				14				e - Cerro de Garnica	100.00
1		1			17	1		f - Angangueo	85.00
	1					11		g - Desierto de los Leones	91.67
		1		1			9	h - Nanacamilpa	81.82

Tabla 6: Matriz de confusión mostrando el porcentaje de correcta clasificación en la prueba para el Criterio I que tuvo la Sílabla *c*. Se muestra además el número de casos en cada elemento del canto que fue asignado correctamente a cada sitio para cada comparación.

Correcta clasificación 90.88%								clasificado como	% de correcta clasificación por sitio
a	b	c	d	e	f	g	h		
7	1			1				a - Colima	77.78
1	13				1	1		b - Mazamitla	81.25
	2	11			1			c - Paracho	78.57
			22			1		d - Paramuen	95.65
				15		1		e - Cerro de Garnica	93.75
					5			f - Angangueo	100.00
						6		g - Desierto de los Leones	100.00
							6	h - Nanacamilpa	100.00



Tabla 7: Matriz de confusión mostrando el porcentaje de correcta clasificación en la prueba para el Criterio II que tuvo la Sílabla *a*. Se muestra además el número de casos en cada elemento del canto que fue asignado correctamente a cada sitio para cada comparación.

Correcta clasificación 81.61%		clasificado como	% de correcta clasificación por sitio
Oeste	Este		
100	15	Oeste	86.96
33	106	Este	76.26

Tabla 8: Matriz de confusión mostrando el porcentaje de correcta clasificación en la prueba para el Criterio II que tuvo la Sílabla *b*. Se muestra además el número de casos en cada elemento del canto que fue asignado correctamente a cada sitio para cada comparación.

Correcta clasificación 68.22%		clasificado como	% de correcta clasificación por sitio
Oeste	Este		
39	68	Oeste	36.45
	69	Este	100.00

Tabla 9: Matriz de confusión mostrando el porcentaje de correcta clasificación en la prueba para el Criterio II que tuvo la Sílabla *c*. Se muestra además el número de casos en cada elemento del canto que fue asignado correctamente a cada sitio para cada comparación.

Correcta clasificación 77.77%		clasificado como	% de correcta clasificación por sitio
Oeste	Este		
48	14	Oeste	77.42
7	25	Este	78.13

Tabla 10: Matriz de confusión mostrando el porcentaje de correcta clasificación en la prueba para el Criterio II que tuvo la Sílabla *Trino*. Se muestra además el número de casos en cada elemento del canto que fue asignado correctamente a cada sitio para cada comparación.

Correcta clasificación 71.59%		clasificado como	% de correcta clasificación por sitio
Oeste	Este		
172	7	Oeste	96.09
82	73	Este	47.10

Tabla 11: Matriz de confusión mostrando el porcentaje de correcta clasificación en la prueba para el Criterio III que tuvo la Sílabla *a*. Se muestra además el número de casos en cada elemento del canto que fue asignado correctamente a cada sitio para cada comparación.

Correcta clasificación 84.74%			clasificado como	% de correcta clasificación por sitio
Ocai	Híbrido	Maculatus		
31	3	10	Ocai	70.45
	63	6	Híbrido	91.30
2	9	135	Maculatus	92.47

Tabla 12: Matriz de confusión mostrando el porcentaje de correcta clasificación en la prueba para el Criterio III que tuvo la Sílabla *b*. Se muestra además el número de casos en cada elemento del canto que fue asignado correctamente a cada sitio para cada comparación.

Correcta clasificación %			clasificado como	% de correcta clasificación por sitio
Ocai	Híbrido	Maculatus		
18	11	18	Ocai	38.30
8	34	9	Híbrido	66.67
8	5	43	Maculatus	76.79

Tabla 13: Matriz de confusión mostrando el porcentaje de correcta clasificación en la prueba para el Criterio III que tuvo la Sílabla *c*. Se muestra además el número de casos en cada elemento del canto que fue asignado correctamente a cada sitio para cada comparación.

Correcta clasificación 83.88%			clasificado como	% de correcta clasificación por sitio
Ocai	Híbrido	Maculatus		
19		10	Ocai	65.52
	37		Híbrido	100.00
5		31	Maculatus	86.11

Tabla 14: Matriz de confusión mostrando el porcentaje de correcta clasificación en la prueba para el Criterio III que tuvo la Sílabla *Trino*. Se muestra además el número de casos en cada elemento del canto que fue asignado correctamente a cada sitio para cada comparación.

Correcta clasificación 84.32%			clasificado como	% de correcta clasificación por sitio
Ocai	Híbrido	Maculatus		
63	15	1	Ocai	79.75
	89	7	Híbrido	92.71
3	27	124	Maculatus	80.52

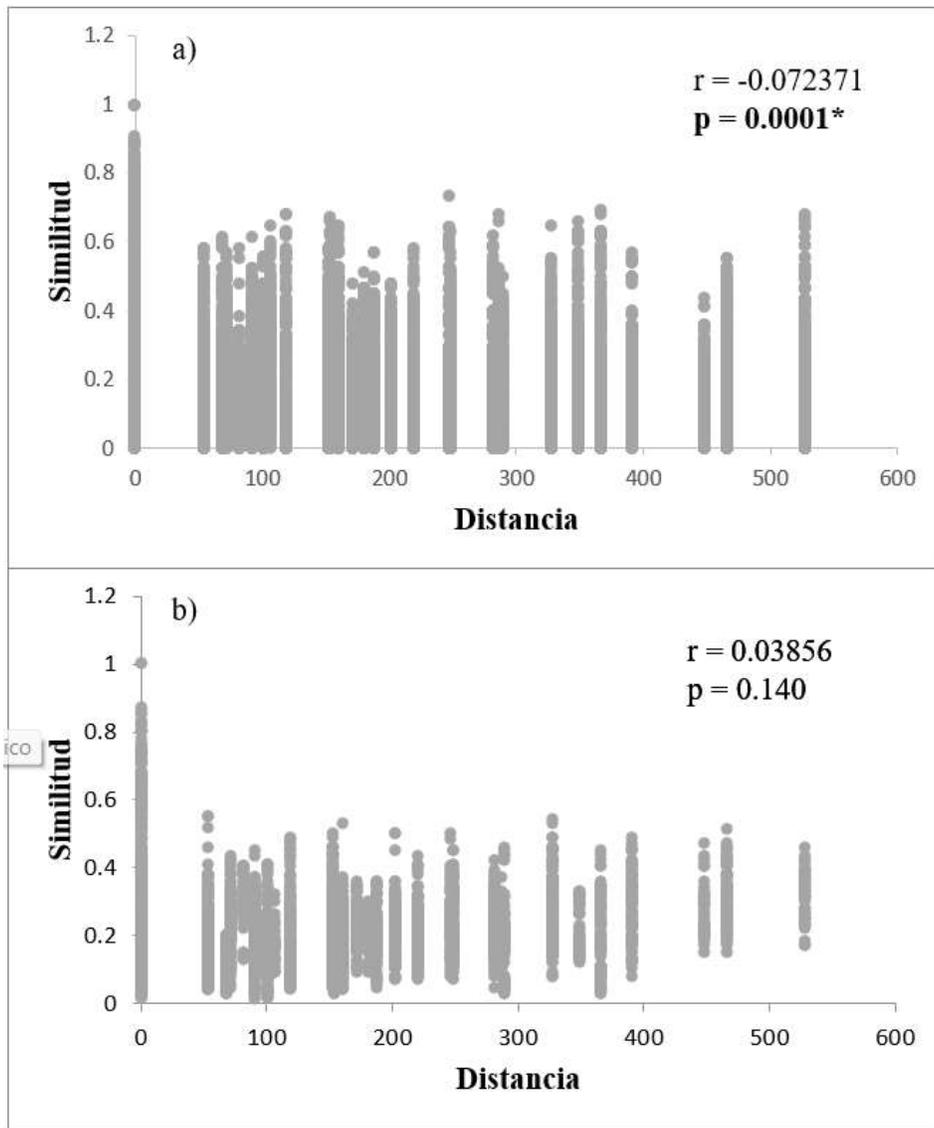


Figura 4: Gráfica de los valores de similitud resultantes de las correlaciones cruzadas de espectrogramas para las comparaciones por distancia. También se muestran los valores de  $r$  y de significancia de las pruebas de Mantel. a) sílaba  $b$  y b) sílaba  $c$ .

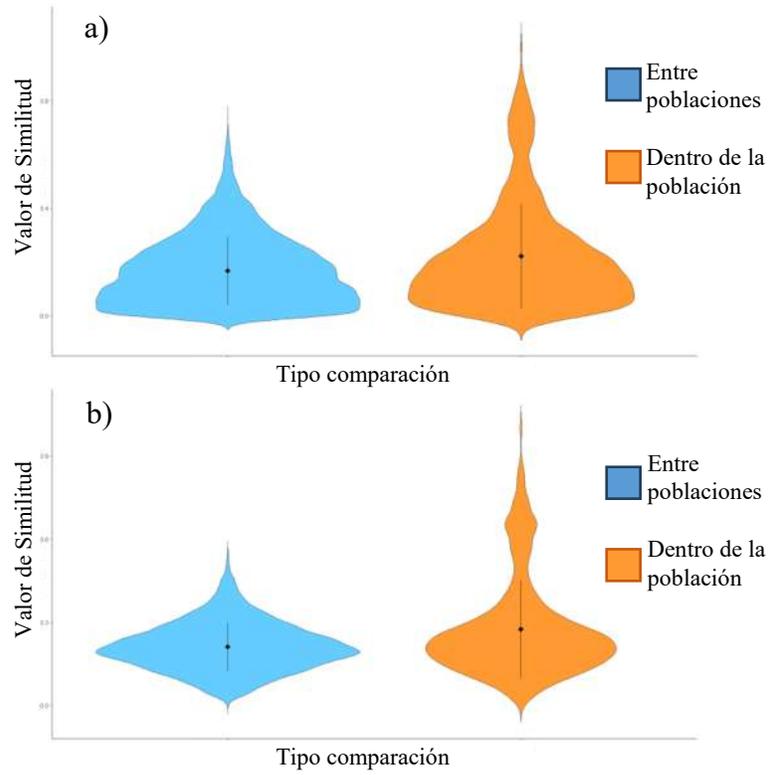


Figura 5: Grafica de violín de los valores de similitud dentro y fuera de los sitios para el Criterio II. a) sílaba *b* y b) sílaba *c*.

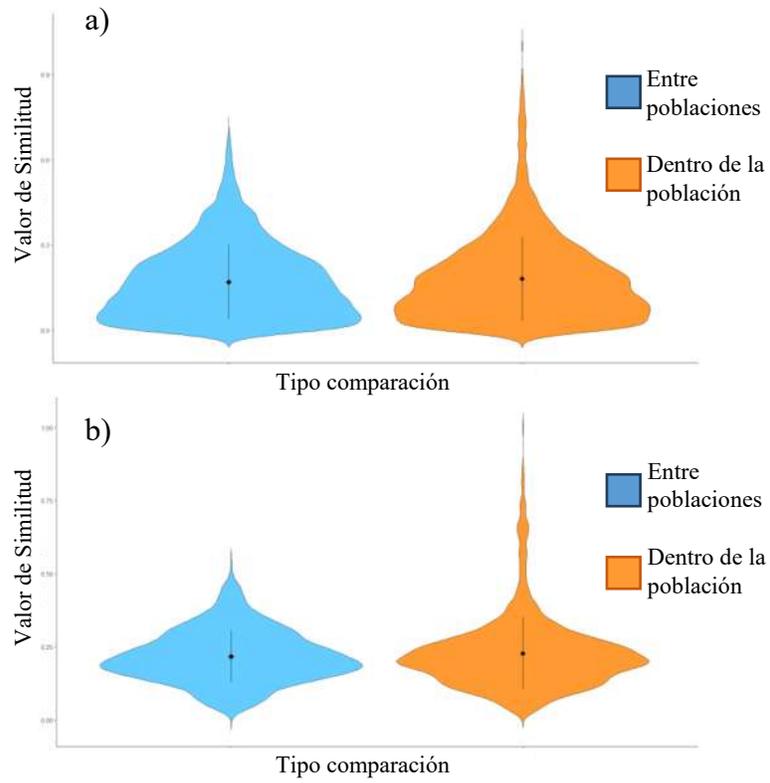


Figura 6: Grafica de violín de los valores de similitud dentro y fuera de los sitios para el Criterio II. a) sílaba *b* y b) sílaba *c*.

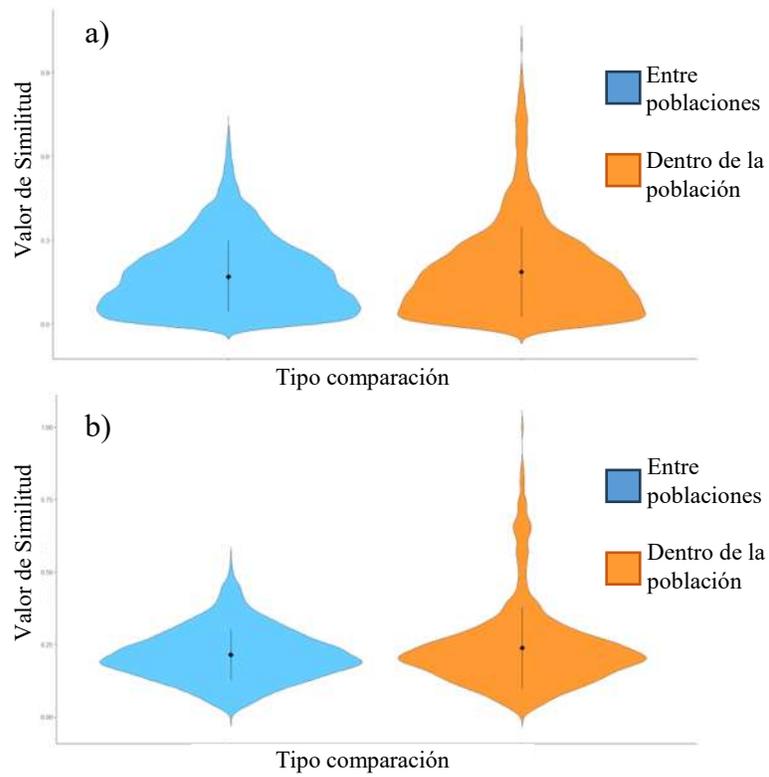


Figura 7: Gráfica de violín de los valores de similitud dentro y fuera de los sitios para el Criterio II. a) muestra la gráfica de la sílaba *b* y b) muestra la gráfica de la sílaba *c*.

## 11 LITERATURA CITADA

- Acasuso-Rivero C, Murren CJ, Schlichting CD, Steiner UK. 2019. Adaptive phenotypic plasticity for life-history and les fitness-related traits. *Proc. R. Soc. B* 286: 20190653. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2019.0653>
- Andrade-González, V. M., Vázquez-Miranda, H., Ornelas-García, C.P. y Sosa-López, J. R. 2023 Ecological factors drive the divergence of morphological, colour and behavioural traits in cactus wrens (Aves, Troglodytidae). *Proc. R. Soc. B* 290: 20230215. <https://doi.org/10.1098/rspb.2023.0215>
- Animalia. 2024. Rascador moteado. <https://animalia.bio/es/eastern-towhee>. Consultado 18 de enero del 2024
- Araya-Salas M y Smith-Vidaurre G. 2017. WarbleR: an r package to streamline analysis of animal acoustic signals. *Methods in Ecology y Evolution*. <https://dx.doi.org/10.1111/2041-210X.12624>.
- Araya-Salas M, Smith-Vidaurre G, Mennill DJ, González-Gómez PL, Cahill J, Wright TF. 2019. Social group signatures in hummingbird displays provide evidence of co-occurrence of vocal and visual learning. *Proc. R. Soc. B* 286: 20190666. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2019.0666>
- Baldassarre, D. T., White, T. A., Karubian, J., y Webster, M. S. 2014. Genomic and morphological analysis of a semipermeable avian hybrid zone suggests asymmetrical introgression of a sexual signal. *Evolution*, 68(9), 2644–2657. doi:10.1111/evo.12457
- Benjamin, G. F., y Graham A. M. 2002. Using song playback experiments to measure species recognition between geographically isolated populations: A comparison with acoustic trait analyses. *American Ornithological Society. The Auk*, 134(4): 857-870.
- Bolus, R. T. 2014. Geographic variation in songs of the Common Yellowthroat. *The Auk*, 131(2), 175–185. doi:10.1642/auk-12-187.1
- Bonnet, E., y de Peer, Y. V. 2002. zt: A Software Tool for Simple and Partial Mantel Tests. *Journal of Statistical Software*, 7(10), 1–12. <https://doi.org/10.18637/jss.v007.i10>

- Bradbury, J. W. y Vehrencamp, S. L. 1998. Principles of Animal Communication. Signals y Communication. Cap. 13. 1st Edition. Sinauer Associates Inc. Pp. 882(1-18).
- Christopher E. Hill, S. Elizabeth Campbell, J. Cully Nordby, John M. Burt y Michael D. Beecher. 1999. Song sharing in two populations of song sparrows (*Melospiza melodia*). Behav Ecol Sociobiol 46, 341–349. <https://doi.org/10.1007/s002650050628>
- Cody, M. L., y Brown, J. H. 1970. Character convergence in mexican finches. Evolution, 24(2), 304–310.
- DaCosta, J. M., Spellman, G. M., Escalante, P., y Klicka, J. 2009. A molecular systematic revision of two historically problematic songbird clades: *Aimophila* y *Pipilo*. Journal of Avian Biology, 40(2), 206–216
- Delhey, K. 2019. A review of Gloger’s rule, an ecogeographical rule of colour: definitions, interpretations and evidence. Biological Reviews. doi:10.1111/brv.12503
- Demko, A. D., Sosa-López, J. R., Simpson, R. K., Doucet, S. M., y Mennill, D. J. 2020. Divergence in plumage, voice, and morphology indicates speciation in Rufous-capped Warblers (*Basileuterus rufifrons*). The Auk. doi:10.1093/auk/ukaa029
- DeRaad, D. A., Applewhite, E. E., Tsai, W. L. E., Terrill, R. S., Kingston, S. E., Braun, M. J. y McCormack J. E. 2023. Hybrid zone or hybrid lineage: a genomic reevaluation of Sibley’s classic species conundrum in *Pipilo* towhees, Evolution, 77(3), 852–869. <https://doi.org/10.1093/evolut/qpac068>
- Dingle, C., Halfwerk, W., y Slabbekoorn, H. 2008. Habitat-dependent song divergence at subspecies level in the grey-breasted wood-wren. Journal of Evolutionary Biology, 21(4), 1079–1089. doi:10.1111/j.1420-9101.2008.01536.x
- Dingle, C., Poelstra, J. W., Halfwerk, W., Brinkhuizen, D. M., y Slabbekoorn, H. 2010. Asymmetric response patterns to subspecies-specific song differences in allopatry y parapatry in the gray-breasted wood-wren. The Society for the Study of Evolution. Evolution 64-12: 3537–3548.

- Ford, J. K. B. 1991. Vocal traditions among resident killer whales (*Orcinus orca*) in coastal waters of British Columbia. *Canadian Journal of Zoology*, 69(6), 1454–1483. doi:10.1139/z91-206
- Forschler, M. I y Kalko, E. K. V. 2007. Geographical differentiation, acoustic adaptation and species boundaries in mainland citril finches and insular Corsican finches, superspecies *Carduelis [citrinella]*. *Journal of Biogeography*, 34, (9) 1591–1600. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2007.01722.x>.
- García de Leaniz, C., Fleming, I. A., Einum, S., Verspoor, E., Jordan, W. C., Consuegra, S., Aubin-Horth, N., Lajus, D., Letcher, B. H., Youngson, A. F., Webb, J. H., Vøllestad, L. A., Villanueva, B., Ferguson A. y Quinn, T. P. 2007. A critical review of adaptive genetic variation in Atlantic salmon: implications for conservation. *Biological Reviews*, 82(2), 173–211. doi:10.1111/j.1469-185x.2006.00004.x
- García, N. C., Naka, L. N., y Cabanne, G. S. 2017. Vocal variation in relation to genetic structure in an Atlantic forest woodcreeper (*Xiphorhynchus fuscus*): evolutionary and taxonomic implications. *Journal of Ornithology*, 159(2), 379–388. doi:10.1007/s10336-017-1509-9
- Gelter, H. P. 1987. Song Differences between the Pied Flycatcher *Ficedula hypoleuca*, the Collared Flycatcher *F. albicollis*, and Their Hybrids. *Ornis Scandinavica*, 18(3), 205. doi:10.2307/3676768
- Grant, P. R., y Grant, B. R. 1997. Hybridization, Sexual Imprinting, y Mate Choice. *The American Naturalist*, 149(1), 1–28. doi:10.1086/285976
- Greig, E. I., y Webster, M. S. 2013. Spatial decoupling of song y plumage generates novel phenotypes between 2 avian subspecies. *Behavioral Ecology*, 24(4), 1004–1013. doi:10.1093/beheco/art005
- Haavie, J., T. Borge, S. Bures, L. Z. Garamszegi, H. M. Lampe, J. Moreno, A. Qvarnström, J. Török, y G. P. Saetre. 2004. Flycatcher song in allopatry y sympatry - convergence, divergence y reinforcement. *Journal of Evolutionary Biology*, 17(2), 227–237.
- Halfwerk, W., Dingle, C., Brinkhuizen, D. M., Poelstra, J. W., Komdeur, J., y Slabbekoorn, H. 2016. Sharp acoustic boundaries across an altitudinal avian hybrid

- zone despite asymmetric introgression. *Journal of Evolutionary Biology*, 29(7), 1356–1367. doi:10.1111/jeb.12876
- Howell, S. N. G. y S. Webb. 1995. *A guide to the birds of Mexico y northern Central America*. Oxford University Press. Oxford.
  - Irwin, D. E. 2000. Song variation in an avian ring species. *Evolution*, 54(3), 998. doi:10.1554/0014-3820(2000)054[0998:sviaar]2.3.co;2
  - Isler, M. L., P. R. Isler, y B. M. Whitney. 1998. Use of vocalizations to establish species limits in antbirds (Passeriformes: Thamnophilidae). *Auk* 115:577–590.
  - Janes, S. W., y Ryker, L. 2011. Geographic Variation in Type I Songs of Black-throated Gray Warblers. *The Wilson Journal of Ornithology*, 123(2), 339–346. doi:10.1676/09-194.1
  - Kenyon, H. L., Alcaide, M., Toews, D. P. L., y Irwin, D. E. 2016. Cultural isolation is greater than genetic isolation across an avian hybrid zone. *Journal of Evolutionary Biology*, 30(1), 81–95. doi:10.1111/jeb.12989
  - Kingston, S. E., Jernigan, R. W., Fagan, W. F., Braun, D., y Braun, M. J. 2012. Genomic variation in cline shape across a hybrid zone. *Ecology y Evolution*, 2(11), 2737–2748.
  - Kingston, S. E., Parchman, T. L., Gompert, Z., Buerkle, C. A., y Braun, M. J. 2017. Heterogeneity y concordance in locus-specific differentiation y introgression between species of towhees. *Journal of Evolutionary Biology*, 30(3), 474–485.
  - Kleindorfer, S., Evans, C., Mihailova, M., Colombelli-Négrel, D., Hoi, H., Griggio, M., Robertson, J. 2013. When subspecies matter: resident Superb Fairy-wrens (*Malurus cyaneus*) distinguish the sex y subspecies of intruding birds. *Emu-Austral Ornithology*, 113(3), 259–269.
  - Konishi, M. 1985. Birdsong: From Behavior to Neuron. *Annual Review of Neuroscience*, 8(1), 125–170.
  - Kroodsma, R. L. 1975. Hybridization in Buntings (*Passerina*) in North Dakota y Eastern Montana. *The Auk*, 92(1), 66–80.
  - Lee, J. H., Podos, J., y Sung, H. C. 2019. Distinct patterns of geographic variation for different song components in Daurian Redstarts *Phoenicurus aureus*. *Bird Study*, 66(1), 73–82. <https://doi.org/10.1080/00063657.2019.1614144>

- Lefranc, A., y Bundgaard, J. 2004. Influencia del tamaño corporal de machos y hembras en la duración de la cópula y la fecundidad en *Drosophila melanogaster*. *Hereditas*, 132(3), 243–247. doi:10.1111/j.1601-5223.2000.00243.x
- Loera-Casillas, *et al.* 2022
- Loera-Casillas, J., Contreras-Martínez, S., Favela-García, F. y Cuevas-Guzmán, R. 2022. Diversidad de aves en un gradiente altitudinal en la Reserva de la Biosfera Sierra de Manantlán, México. *Revista de Biología Tropical*, ISSN: 2215-2075, 70: 114-131.
- Maldonado-Coelho, M., dos Santos, S. S., Isler, M. L., Svensson-Coelho, M., Sotelo-Muñoz, M., Miyaki, C. Y., Ricklefs, R. E. y Blake, J. G. 2023. Evolutionary and Ecological Processes Underlying Geographic Variation in Innate Bird Songs. *The American Naturalist*. Vol 202, (2). <https://doi.org/10.1086/725016>
- Marler, P. y Tamura, M. 1962. Song ‘dialects’ in three populations of white-crowned sparrows. *Condor* 64: 368–377. doi: 10.2307/1365545
- Gordillo-Martínez, A., Ortiz, R. M. F. y Navarro-Sigüenza, A. G. 2013. Estructura y evolución de las vocalizaciones de las aves. *Ciencias*. Vol 109-110:32-40.
- Matessi, G., Dabelsteen, T., y A. Pilastro. 2000. Responses to playback of different subspecies songs in the Reed Bunting *Emberiza schoeniclus*. *JOURNAL OF AVIAN BIOLOGY* 31: 96–101.
- McNaught, M. K., y Owens, I. P. F. 2002. Interspecific variation in plumage colour among birds: species recognition or light environment? *Journal of Evolutionary Biology*, 15(4), 505–514.
- Mundry, R., y Sommer, C. 2007. Discriminant function analysis with nonindependent data: consequences and an alternative. *Animal Behaviour*, 74(4), 965–976. doi:10.1016/j.anbehav.2006.12.028
- Nicholls, J. A., Austin, J. J., Moritz, C., y Goldizen, A. W. 2006. Genetic population structure and call variation in a passerine bird, the satin bowerbird, *Ptilonorhynchus violaceus*. *Evolution*, 60(6), 1279–1290. doi:10.1111/j.0014-3820.2006.tb01205.x
- Payne, R. B., Thompson, W. L., Fiala, K. L., y Laura L. Sweany. 1981. Local Song Traditions in Indigo Buntings: Cultural Transmission of Behavior Patterns across Generations. *Behaviour*, 77(4), 199–221. <http://www.jstor.org/stable/4534120>

- Peterson, R. T. y E. L. Chalif. 1973. Aves de México: guía de campo. Identificación de todas las especies encontradas en México, Guatemala, Belice y El Salvador. Editorial Diana.
- Petrusková, T., Kinštová, A., Pišvejcová, I., Mula Laguna, J., Cortezón, A., Brinke, T., y Petrušek, A. 2014. Variation in Trill Characteristics in Tree Pipit Songs: Different Trills for Different Use? *Ethology*, 120(6), 586–597. doi:10.1111/eth.12231
- Pizarro, A. K., DeRaad, D. A., y McCormack, J. E. 2023. Temporal stability of the hybrid zone between *Calocitta magpie-jays* revealed through comparison of museum specimens and iNaturalist photos. *Ecology and Evolution*, 13, e9863. <https://doi.org/10.1002/ece3.9863>
- Podos, J., y Warren, P. S. 2007. The Evolution of Geographic Variation in Birdsong. *Advances in the Study of Behavior*, 403–458. doi:10.1016/s0065-3454(07)37009-5
- Ricchetti, I., Taucher, T., Loebick, R., Sin, S. Y. W., Palacios, C. y Lamichhaney, S. 2024. gene expression variation in geographically diverse populations of two North American songbird species. *Front. Bird Sci.* 3:1382657. doi: 10.3389/fbirs.2024.1382657
- Roach, S. P. y Phillmore, L. S. 2017. Geographic variation in song structure in the Hermit Thrush (*Catharus guttatus*), *The Auk*, Volume 134, Issue 3, Pages 612–626, <https://doi.org/10.1642/AUK-16-222.1>
- Rzedowski, J. 2006. Bases Fisiográficas en Vegetación de México. 1ra. Edición digital, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México. Pp 20-30.
- Saetre, G.-P., Kral, K., Bures, S., y Ims, R. A. 1999. Dynamics of a clinal hybrid zone and a comparison with island hybrid zones of flycatchers (*Ficedula hypoleuca* and *F. albicollis*). *Journal of Zoology*, 247(1), 53–64. doi:10.1111/j.1469-7998.1999.tb00192.x
- Saetre, G.-P., Moum, T., Bureš, S., Král, M., Adamjan, M., y Moreno, J. 1997. A sexually selected character displacement in flycatchers reinforces premating isolation. *Nature*, 387(6633), 589–592.

- Salinas-Melgoza, A., Wright, T. F. 2012. Evidence for Vocal Learning and Limited Dispersal as Dual Mechanisms for Dialect Maintenance in a Parrot. PLoS ONE 7(11): e48667. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048667>
- Salinas-Melgoza, A. y Renton, K. 2021. Geographic variation in vocalizations of the Military Macaw in western Mexico. Bioacoustics. 30: 197-214
- Searcy, W. A., Nowicki, S., y Hughes, M. 1997. The Response of Male and Female Song Sparrows to Geographic Variation in Song. The Condor, 99(3), 651–657. doi:10.2307/1370477
- Seddon, N. 2005. Ecological adaptation y species recognition drives vocal evolution in neotropical suboscine birds. Evolution, 59(1), 200.
- Shipilina D, Serbyn M, Ivanitskii V, Marova I, y Backström N. 2017. Patterns of genetic, phenotypic, and acoustic variation across a chiffchaff (*Phylloscopus collybita abietinus/tristis*) hybrid zone. Ecol Evol. 7:2169–2180. <https://doi.org/10.1002/ece3.2782>
- Sibley, C. G., y West, D. A. 1958. Hybridization in the Red-Eyed Towhees of Mexico: The Eastern Plateau Populations. The Condor, 60(2), 85–104.
- Soha, J. A., Nelson, D. A., y Parker, P. G. 2004. Genetic analysis of song dialect populations in Puget Sound white-crowned sparrows. Behavioral Ecology, 15(4), 636–646. doi:10.1093/beheco/arh055
- Sosa-López, J. R., y Mennill, D. J. 2014. Continent-wide patterns of divergence in acoustic and morphological traits in the House Wren species complex. The Auk, 131(1), 41–54. doi:10.1642/auk-13-161.1
- Uy, J. A. C., y Safran, R. J. 2013. Variation in the temporal and spatial use of signals and its implications for multimodal communication. Behavioral Ecology and Sociobiology, 67(9), 1499–1511. doi:10.1007/s00265-013-1492-y
- Vabishchevich, A. P., y Formozov, N. A. 2010. Song Variability in Pied Flycatchers *Ficedula hypoleuca*: Impact of the Sympatry with Collared Flycatchers *F. albicollis*. Acta Ornithologica, 45(2), 189–202. doi:10.3161/000164510x551336
- Wright, T. F., Dahlin, C. R., y Salinas-Melgoza, A. 2008. Stability and change in vocal dialects of the yellow-naped amazon. Animal Behaviour, 76(3), 1017–1027. doi:10.1016/j.anbehav.2008.03.025

- Wright, T. F. y Wilkinson, G. S. 2001. Population genetic structure y vocal dialects in an amazon parrot. *Proceedings of the Royal Society of London B*. 268:609-616
- Wu, L., Dang, J., Tang, L., Cheng, Y., Song, G., Sun, Y., Martens, J., Päckert, M., Alström, P., Zhang, D., Jia, C., y Lei, F., 2023. Limited Song Mixing Without Genomic Gene Flow in a Contact Zone Between Two Songbird Species, *Molecular Biology and Evolution*, Vol. 40, <https://doi.org/10.1093/molbev/msad053>
- Yarza de, D. T., E. 2003. Los volcanes del Sistema Volcánico Transversal. *Investigaciones geográficas*, (50), 221-234.

# Irving Fernando Arciga Delgado

## Evaluación del canto del complejo de hibridación Pipilo ocai x P. maculatus en el Eje Neovolcánico T

 Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

### Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::3117:462617138

Fecha de entrega

27 may 2025, 10:50 a.m. GMT-6

Fecha de descarga

27 may 2025, 10:56 a.m. GMT-6

Nombre de archivo

Evaluación del canto del complejo de hibridación Pipilo ocai x P. maculatus en el Eje Neovolcánic....pdf

Tamaño de archivo

1.6 MB

70 Páginas

17.357 Palabras

88.656 Caracteres

# 17% Overall Similarity

The combined total of all matches, including overlapping sources, for each database.

## Top Sources

- 16%  Internet sources
- 14%  Publications
- 0%  Submitted works (Student Papers)

---

## Integrity Flags

### 0 Integrity Flags for Review

No suspicious text manipulations found.

Our system's algorithms look deeply at a document for any inconsistencies that would set it apart from a normal submission. If we notice something strange, we flag it for you to review.

A Flag is not necessarily an indicator of a problem. However, we'd recommend you focus your attention there for further review.

# Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado  
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



A quien corresponda,

Por este medio, quien abajo firma, bajo protesta de decir verdad, declara lo siguiente:

- Que presenta para revisión de originalidad el manuscrito cuyos detalles se especifican abajo.
- Que todas las fuentes consultadas para la elaboración del manuscrito están debidamente identificadas dentro del cuerpo del texto, e incluidas en la lista de referencias.
- Que, en caso de haber usado un sistema de inteligencia artificial, en cualquier etapa del desarrollo de su trabajo, lo ha especificado en la tabla que se encuentra en este documento.
- Que conoce la normativa de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, en particular los Incisos IX y XII del artículo 85, y los artículos 88 y 101 del Estatuto Universitario de la UMSNH, además del transitorio tercero del Reglamento General para los Estudios de Posgrado de la UMSNH.

Datos del manuscrito que se presenta a revisión		
<b>Programa educativo</b>	Programa institucional de Maestría en Ciencias Biológicas	
<b>Título del trabajo</b>	Evaluación del canto del complejo <i>Pipilo ocai</i> x <i>P. maculatus</i> en el Eje Neovolcánico Transversal	
	<b>Nombre</b>	<b>Correo electrónico</b>
<b>Autor/es</b>	Irving Fernando Arciga Delgado	<a href="mailto:1436697j@umich.mx">1436697j@umich.mx</a>
<b>Director</b>	Dr. Alejandro Salinas Melgoza	<a href="mailto:Alejandro.salinas@umich.mx">Alejandro.salinas@umich.mx</a>
<b>Codirector</b>		
<b>Coordinador del programa</b>	Dra. Martha Elena Pedraza Santos	<a href="mailto:mae.ciencias.biologicas@umich.mx">mae.ciencias.biologicas@umich.mx</a>

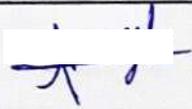
Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
Asistencia en la redacción	no	

# Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado  
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
Traducción al español	no	
Traducción a otra lengua	no	
Revisión y corrección de estilo	no	
Análisis de datos	no	
Búsqueda y organización de información	no	
Formateo de las referencias bibliográficas	no	
Generación de contenido multimedia	no	
Otro	no	

Datos del solicitante	
Nombre y firma	Irving Fernando Arciga Delgado 
Lugar y fecha	Morelia, Mich., a 12 de febrero de 2025