



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
FACULTAD DE CIENCIAS  
BIOLOGÍA EVOLUTIVA

**DIFERENCIACIÓN GENÉTICA Y VOCAL DE *CATHARUS FRANTZII* (AVES:  
TURDIDAE)**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**(SISTEMÁTICA)**

PRESENTA:

**BIÓL. MARCO FABIO ORTIZ RAMÍREZ**

**TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO**  
**SIGÜENZA (FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM).**

**COMITÉ TUTOR: DR. ALEJANDRO ZALDÍVAR RIVERÓN**  
**(INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM).**

**DR. JUAN FRANCISCO ORNELAS RODRÍGUEZ**  
**(INSTITUTO DE ECOLOGÍA, A. C.)**

**MÉXICO, D.F.**

**ABRIL, 2013**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
FACULTAD DE CIENCIAS  
BIOLOGÍA EVOLUTIVA

**DIFERENCIACIÓN GENÉTICA Y VOCAL DE *CATHARUS FRANTZII* (AVES:  
TURDIDAE)**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**(SISTEMÁTICA)**

PRESENTA:

**BIÓL. MARCO FABIO ORTIZ RAMÍREZ**

**TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO**  
**SIGÜENZA (FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM).**

**COMITÉ TUTOR: DR. ALEJANDRO ZALDÍVAR RIVERÓN**  
**(INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM).**

**DR. JUAN FRANCISCO ORNELAS RODRÍGUEZ**  
**(INSTITUTO DE ECOLOGÍA, A. C.)**

**MÉXICO, D.F.**

**ABRIL, 2013**



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
FACULTAD DE CIENCIAS  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

OFICIO FCIE/DEP/072/13

ASUNTO: Oficio de Jurado

Dr. Isidro Ávila Martínez  
Director General de Administración Escolar, UNAM  
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **3 de diciembre de 2012** se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS (SISTEMÁTICA)** del (la) alumno (a) **ORTIZ RAMÍREZ MARCO FABIO** con número de cuenta **300001161** con la tesis titulada **"Diferenciación genética y vocal de *Catharus frantzii* (Aves: Turdidae)"**, realizada bajo la dirección del (la) **DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA**:

Presidente: DRA. BLANCA ESTELA HERNÁNDEZ BAÑOS  
Vocal: DR. LUIS ANTONIO SÁNCHEZ GONZÁLEZ  
Secretario: DR. JUAN FRANCISCO ORNELAS RODRÍGUEZ  
Suplente: DR. ALEJANDRO ARIEL RÍOS CHELÉN  
Suplente: DR. ALEJANDRO ZALDÍVAR RIVERÓN

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

Atentamente  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"  
Cd. Universitaria, D.F., a 1º. de marzo de 2013

*M. del Coro Arizmendi Arriaga*

Dra. Maria del Coro Arizmendi Arriaga  
Coordinadora del Programa



DIVISION DE ESTUDIOS  
DE POSGRADO

## **Agradecimientos**

Este trabajo se realizó gracias al Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM y a la beca otorgada por CONACyT (CVU: 34741, 2398889) y beca mixta para la estancia en Kansas. Gracias al proyecto CONACyT 152060 y PAPIIT UNAM IN-217212 y al apoyo de PAEP. Gracias también al Biodiversity Institute de la Universidad de Kansas y al Laboratorio del Museo de Zoología “Alfonso L. Herrera” de la Facultad de Ciencias, UNAM.

Agradezco a los miembros del Comité Tutor: Dr. Adolfo G. Navarro Sigüenza, Dr. Juan Francisco Ornelas Rodríguez y Dr. Alejandro Zaldívar Riverón.

## **Agradecimientos a título personal**

*Agradezco mucho a mis padres y hermanos y a toda mi familia por todo su amor y cariño y por todo el apoyo que siempre me han brindado.*

*Gracias a mi comité tutorial: Dr. Adolfo G. Navarro Sigüenza, Dr. Juan Francisco Ornelas Rodríguez y Dr. Alejandro Zaldívar Riverón quienes estuvieron guiándome durante la realización de mi proyecto y que lo enriquecieron enormemente con sus comentarios y sugerencias, así como con su ayuda en el manejo de los programas y análisis. De igual modo quiero agradecer a los miembros del jurado: Dra. Blanca Estela Hernández Baños, Dr. Alejandro Ariel Ríos Chelén y Dr. Luis Antonio Sánchez González, que han aportado nuevas ideas y contribuyeron a mejorar el proyecto.*

*Hago una mención especial a Laila Yunes Jiménez y a Iván Anuar López López por su gran ayuda y apoyo en campo pero sobre todo por la gran amistad y cariño que les tengo.*

*Gracias a Gala, Daniela Tovilla, César, Enrique, Claudita y Daniela, Erick, El Loco, Lau, Anahí, Nanda, Alfredo, Sussette, Mampo, Tania, Déborah, Luz, Diego (G.I.P.), Alma, Itzue, Patula, Belén, Isra, Güicho, Giré, Stephanie, Alfonsina, Arturo y Marisol, Marisol, Aura, Fanny, Melisa, Héctor Cayetano, Chuy, Jaime, Daniel. Uri, Marysol, Chrisater, Rubens, los Chiviscoyos, Andrés Lira, Elisa Merchi, Mariela, a toda la manada de la “Señora” y al café Camaco’s.*

*Muchas gracias a Michael Andersen, Carl Oliveros, Enrique Arbeláez Cortés, Pete Hosner y Fabiola Ramírez Corona por su ayuda en el laboratorio. Al Dr. A. Townsend Peterson, Mark Robbins y Robert Moyle por toda su ayuda..*

*Muchas gracias a mis compañeros bioacústicos que estimo mucho y me han ayudado muchísimo: Jatziri, Sahid, Laura y Esaú.*

*A todos ustedes con quienes he vivido tantos buenos momentos les dedico este trabajo del cual forman parte.*

*Gracias.*

## ÍNDICE

<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
Filogeografía.....	3
Métodos de reconstrucción de filogenias con datos moleculares.....	4
Redes de haplotipos y estructura genética.....	4
Tiempos de divergencia.....	5
El valor evolutivo de las vocalizaciones.....	6
<b>OBJETIVOS</b> .....	9
<b>HIPÓTESIS</b> .....	9
<b>METODOLOGÍA</b> .....	10
Taxón a estudiar.....	10
Estatus taxonómico.....	11
Cantos de <i>Catharus frantzii</i> .....	12
Datos genéticos (Laboratorio).....	13
Datos vocales (Grabaciones).....	14
Análisis de datos moleculares.....	17
Red de haplotipos.....	18
Estructura génica.....	18
Tiempos de divergencia.....	19
Análisis de datos vocales.....	20
Relación del ambiente y variación vocal.....	20
Relación entre la distancia geográfica, la variación vocal y la genética.....	21
<b>RESULTADOS</b> .....	22
Filogenia.....	23
Haplotipos.....	25
Estructura genética.....	26
Tiempos de divergencia.....	30
Variación vocal.....	33
Descripción de las vocalizaciones.....	33
Análisis de componentes principales de las vocalizaciones.....	36
Análisis de discriminantes de las vocalizaciones.....	37
Análisis de varianza de las vocalizaciones de <i>C. frantzii</i> .....	42
Efecto del ambiente sobre los cantos.....	42
Efecto de la distancia geográfica.....	42
<b>DISCUSIÓN</b> .....	45
Patrón filogeográfico.....	45
Red de haplotipos.....	46
Estructura génica.....	47
Tiempos de divergencia.....	48
Variación vocal de <i>C. frantzii</i> .....	49
Relación de los cantos y el ambiente.....	50
Efecto de la distancia geográfica.....	51
<b>CONCLUSIONES</b> .....	53
Concordancia genética y vocal.....	53
<b>LITERATURA CITADA</b> .....	54

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.....	10
Figura 2.....	22
Figura 3.....	24
Figura 4.....	25
Figura 5.....	28
Figura 6.....	29
Figura 7.....	31
Figura8.....	32
Figura 9.....	34
Figura 10.....	35
Figura 11.....	36
Figura 12.....	38
Figura 13.....	39
Figura 14.....	40
Figura 15.....	41
Figura 16.....	43
Figura 17.....	43
Figura 18.....	44

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.....	21
Tabla 2.....	23
Tabla 3.....	26
Tabla 4.....	26
Tabla 5.....	27
Tabla 6.....	27
Tabla 7.....	36
Tabla A.....	75
Tabla B.....	76
Tabla C.....	77

## ANEXOS

Anexo I.....	67
Anexo II.....	69
Anexo III.....	70
Anexo IV.....	72
Anexo V.....	74

## Resumen

Estudiamos la variación genética de *C. frantzii*, que habita en las zonas montañosas del centro de México y hasta Panamá, mediante dos marcadores mitocondriales (Cyt b y ND2). Obtuvimos el árbol filogenético, calculamos la red de haplotipos y estimamos parámetros poblacionales para averiguar la diferenciación de las poblaciones, así como declives y expansiones demográficas. Además, estimamos los tiempos de divergencia de los clados. Posteriormente, analizamos la variación de sus vocalizaciones y su relación con el aislamiento geográfico, el ambiente y la diferencia genética. Finalmente, analizamos la concordancia de la variación genética y vocal.

Se observaron cuatro linajes diferenciados genéticamente (Centroamérica sur, Centroamérica norte, Sierra Madre del Sur y Sierra Madre Oriental), los cuales, presentaron declives poblacionales excepto el de Centroamérica norte. Los datos sugieren que la divergencia ocurrió a finales del Plioceno y principios del Pleistoceno, muy probablemente a causa de los cambios climáticos durante las glaciaciones.

Vocalmente también se observan los mismos cuatro grupos. Sin embargo, las diferencias encontradas no parecen deberse ni al aislamiento geográfico, ni al ambiente, ni la diferencia genética. Lo cual sugiere que las diferencias se deben a la selección sexual o la deriva cultural. Por otro lado, si fue posible observar los mismos cuatro grupos tanto genética como vocalmente.

## Abstract

We analyze the genetic variation of *C. frantzii* that inhabit the mountains from central Mexico to Panama. We estimate the phylogenetic tree using two mitochondrial markers (Cyt B, ND2). We calculate the haplotype network and demographic parameters in order to see if the populations are genetically differentiated and if there were population bottle necks or expansions. We also estimate the divergence times of the lineages. Then we analyze the variation in calls and songs of *C. frantzii* and evaluated the relation among the geographic isolation, environment and genetic difference. At the end, we analyze the concordance between genetic and vocal variation.

We observed four lineages genetically differentiated (north Central America, south Central America, Sierra Madre del Sur and Sierra Madre Oriental), Most of them shown a population decline except north Central America. Our data suggest that the divergence time took place in the late Pliocene and early Pleistocene, probably due to climatic changes during the glaciations.

Vocally there are the same four groups, although neither the geographic isolation, nor environment nor genetic difference, could explain the vocal variation. This suggests that sexual selection and cultural drift may be modeling the vocal variation. But it is possible to see the same four groups found vocally and genetically.

## INTRODUCCIÓN

El conjunto de procesos que llevan a la aparición de nuevos linajes evolutivos (especies) a partir de especies ancestrales se conoce como especiación (Wiley 1981). En aves, se cree que la mayoría de las nuevas especies surgieron por la división de una especie en dos o más especies nuevas (Newton 2003). Existen distintos procesos de especiación que pueden generar cladogénesis, entre los cuales se encuentran, entre otros: a) la especiación alopátrica o por vicarianza, que se produce por la disyunción de una población ancestral continua en dos subpoblaciones mediante la formación de barreras que evitan el intercambio de genes y generan divergencia al favorecer que las subpoblaciones evolucionen independientemente (Wiley 1981, Futuyma 2005, Newton 2003, Price 2008); y b) la especiación simpátrica, que ocurre en ausencia de disyunción geográfica y se pueden producir por el surgimiento de factores como selección sexual, hibridación, macromutaciones o cambios en la fisiología (Newton 2003, Futuyma 2005) que pueden evitar el intercambio de genes entre las poblaciones. En general, las diferencias morfológicas y genéticas que presentan las distintas especies de aves cercanamente relacionadas tienen una gran correspondencia con barreras físicas (Newton 2003). La importancia del aislamiento geográfico en la especiación de las aves es muy evidente, sobre todo, en las especies cercanamente relacionadas que divergieron recientemente de la misma especie ancestral pero que habitan áreas distintas (Newton 2003). Esto sugiere que en aves uno de los principales procesos de especiación es el de alopatría y en algunos casos existen etapas de contacto secundario debidas a cambios en la distribución posteriores a la especiación (Barraclough y Vogler 2000).

En los últimos años, gracias al avance en las técnicas moleculares se han realizados diversos estudios sobre la biología evolutiva de aves, enfocados a su distribución geográfica y especiación (*i. e.* Edwards *et al.* 2005, Nyári 2007, Puebla-Olivares *et al.* 2008 y García-Trejo *et al.* 2009).

Además de la divergencia genética, la selección sexual y la conducta también son factores importantes que pueden favorecer la especiación (Edwards *et al.* 2005, Futuyma 2005). Sin embargo, la migración (intercambio) de individuos entre las poblaciones, permite que las mutaciones generadas en las mismas sean intercambiadas entre las poblaciones y por lo tanto, puede evitar o retardar la especiación (Vandamme 2009).

Si las especies cambian a lo largo del tiempo, uno de los principales problemas es definir qué es una especie y el punto en el que dos poblaciones estrechamente relacionadas pueden ser reconocidas como diferentes especies. Actualmente, existen muchos conceptos de especie aplicables a diferentes campos de la Biología. Quizás el más utilizado es el concepto biológico de especie propuesto por Mayr (1942), que se basa en el aislamiento reproductivo. Por otro lado, los sistématas en general están a favor de métodos filogenéticos para delimitar especies (Sites y Marshall 2004) y emplean el concepto filogenético de especie, el cual, las definen como un grupo de organismos que comparten por lo menos un carácter único derivado (Nixon y Wheeler 1990) y deben representar poblaciones con una trayectoria histórica autónoma (Agapow *et al.* 2004). Este concepto ha sido criticado puesto que muchos estudios se basan principalmente en el uso del ADN mitocondrial para la delimitación de especies dejando de lado las posibles incongruencias con otras partes del genoma. Además, el ADN mitocondrial no siempre reúne suficiente información sobre la historia de la especie como para delimitarla por sí misma (Edwards *et al.* 2005), razón por la cual es importante utilizar caracteres independientes entre sí, como caracteres vocales y genéticos (Price y Lanyon 2004) y un concepto unificador que maneja a las especies como linajes que evolucionan de manera independiente (De Queiroz 2007).

Existen diversos factores que pueden estar operando de distinta manera en cada una de las diferentes poblaciones de una especie. Entre ellos, el aislamiento geográfico entre las poblaciones puede generar divergencias entre las mismas (Chaverri-Polini 1998). Por ejemplo, la Tucaneta esmeralda (*Aulacorhynchus prasinus*) presenta diferencias entre algunas de sus poblaciones que se encuentran aisladas entre sí en diferentes zonas montañosas y algunas de estas poblaciones podrían ser consideradas como diferentes especies (Puebla-Olivares *et al.* 2008). Actualmente, las zonas de montaña del centro de México y Centroamérica son reconocidas como centros de endemismo de aves (Hernández-Baños *et al.* 1995, Sánchez-González *et al.* 2008), lo cual, se debe en gran medida al traslape de fauna norteamericana y sudamericana, así como a la especiación que ha ocurrido *in situ* (Hernández-Baños *et al.* 1995).

Uno de los principales factores que han afectado la biogeografía de las aves de las zonas montañosas de México y Centroamérica son los cambios climáticos que ocurrieron durante el Pleistoceno y Holoceno, los cuales, reconectaron y aislaron temporalmente a las distintas poblaciones tanto de plantas como de animales (Hooghiemstra *et al.* 2006, Honey-Escandón *et al.* 2008, Waltari y Guralnick 2009).

Además, existen evidencias de que los cambios climáticos durante el Pleistoceno y Plioceno tardío afectaron las avifaunas de las montañas de México y Centroamérica en al menos dos ocasiones (Barber y Klicka 2010). Dichos cambios provocaron numerosas oportunidades de divergencia durante las etapas de aislamiento y posteriormente recombinación genética durante las etapas en las que las poblaciones se reconectaron (Avice y Walker 1998, Barber y Klicka 2010). Sin embargo, es importante tener en cuenta que la distribución actual de las especies no necesariamente refleja el contexto geográfico del momento de especiación, debido a que las aves poseen un gran potencial de dispersión y expansión geográfica (Chesser y Zink 1994). Una manera de esclarecer los procesos que moldearon la distribución actual de los taxones es mediante la filogeografía. Además, los diferentes tipos de caracteres, como los genéticos, los vocales y los morfológicos, podrían aportar información valiosa a la comprensión de la evolución de un taxón (Isler *et al.* 1998, Price y Lanyon 2004).

En los últimos años, el uso de la bioacústica en la sistemática ha aportado nueva información sobre las relaciones filogenéticas de las especies (Tubaro 1999). En las aves, los cantos poseen caracteres útiles para estudiar relaciones filogenéticas entre especies (Payne 1986). Por ejemplo, en las aves que aprenden sus cantos los errores acumulados debidos al aprendizaje junto con el aislamiento geográfico de las poblaciones pueden generar divergencias entre las poblaciones y formar barreras reproductivas (Tubaro 1999). Estas diferencias en los cantos frecuentemente tienen una base genética (Price 2008). Por lo tanto, especies con genotipos similares tienen cantos similares (Baptista y Kroodsma 2001) e incluso la variación geográfica de los cantos puede arrojar información sobre los patrones de expansión y colonización de las poblaciones (Mundiger 1975), debido a que los cantos evolucionan tanto genéticamente como culturalmente, haciendo posible encontrar concordancias genéticas y vocales entre las poblaciones (Price 2008).

### **Filogeografía**

La filogeografía se enfoca en estudiar los principios y procesos que gobiernan la distribución geográfica de los linajes genealógicos, especialmente aquellos dentro y entre especies cercanamente relacionadas (Avice 2000). Además, la filogeografía permite comprender mejor los movimientos en el pasado de las especies y la historia por la cual se explican sus distribuciones actuales (Futuyma 2005), así como conocer las relaciones genealógicas a nivel intraespecífico puesto que integra conceptos y técnicas

de genética molecular, genética de poblaciones, demografía, sistemática filogenética, etología y paleontología (Avice 1987, Avice 2000). También, compara las relaciones evolutivas de los linajes genéticos con su distribución geográfica, abarcando aspectos espaciales y temporales (Freeland 2005).

Los caracteres más utilizados actualmente en la inferencia de filogenias son los marcadores moleculares, ya sea en forma de proteínas o de secuencias de ADN (Vázquez-Domínguez 2007) y principalmente de ADN mitocondrial (Lanteri y Confalonieri 2003), ya que su recombinación es prácticamente nula, presenta una tasa de mutación elevada y se hereda casi exclusivamente por vía materna (Vázquez-Domínguez 2007). Estas características hacen que el DNA mitocondrial sea ideal para análisis filogenéticos (Avice *et al.* 1987).

### **Métodos de reconstrucción de filogenias con datos moleculares**

Las relaciones evolutivas entre genes y organismos se pueden ilustrar mediante filogenias, las cuales muestran a los genes u organismos cercanamente relacionados a través de árboles filogenéticos (Zink y Barrowclough 2008, Vandamme 2009). Existen tres principales métodos de estimar relaciones filogenéticas: métodos de distancia, métodos de parsimonia y métodos probabilísticos. Independientemente del método empleado para generar las filogenias, en los árboles filogenéticos se pueden apreciar las relaciones genealógicas ligadas a eventos de especiación (Wiley 1981), que a su vez, pueden relacionarse con eventos geográficos. Los linajes observados en una filogenia se pueden ver influenciados por la estructura de la población, la historia de la misma y por la combinación de ambos factores (Templeton *et al.* 1995). Cuando la variación genética es organizada dentro de una genealogía, el análisis resultante de cómo la geografía se acopla sobre la genealogía se llama filogeografía intraespecífica (Avice 1989). En estos análisis frecuentemente se encuentra una fuerte asociación entre la distribución geográfica de los haplotipos y su posición evolutiva dentro de un árbol de genes (Templeton *et al.* 1995, Zink y Barrowclough 2008).

### **Redes de haplotipos y estructura genética**

Una manera práctica de visualizar los linajes de un taxón es mediante redes de haplotipos, las cuales muestran de manera gráfica las relaciones entre los haplotipos (no entre individuos) utilizando una distancia genética, por ejemplo, usando el número de mutaciones que separan a dos haplotipos (Posada y Crandall 2001, Beerli 2005). Estas

redes pueden informar efectivamente los procesos que actúan al nivel de poblaciones y permiten incorporar predicciones de la teoría de genética de poblaciones (Posada y Crandall 2001). Las redes de haplotipos también, incorporan la información de la genealogía no estrictamente dicotómica y que está asociada a divergencia al nivel de poblaciones (Clement *et al.* 2000). Aunado a ello, el estudio de la estructura genética de las poblaciones es muy útil para conocer su estado a nivel genético, es decir, si se encuentra en expansión o declive poblacional y permite estimar el grado de fijación de los alelos en las poblaciones. Por ejemplo, el estadístico  $F_{ST}$  mide el grado de diferenciación genética entre las subpoblaciones (Nei y Kumar 2000). Las estructuras genéticas de las subpoblaciones están estrechamente relacionadas con el tiempo en que ocurrió la diversificación a partir de una población ancestral y pueden ser atribuidas a eventos geológicos, climáticos, conductuales o una combinación de ellos.

### **Tiempos de divergencia**

Un punto natural de partida para investigar las causas y mecanismos que refuerzan las distribuciones disyuntas de taxones cercanamente relacionados es obtener información precisa del tiempo en el que un linaje ancestral se dividió formando nuevos linajes (Magallón 2004). Actualmente, una forma de estimar esto es mediante los relojes moleculares, los cuales postulan que las diferencias moleculares acumuladas entre un par de secuencias es proporcional al tiempo transcurrido desde la divergencia a partir de un ancestro común (Felsenstein 2004, Magallón 2004). Sin embargo, existen muchos factores que afectan la correlación entre la distancia molecular y el tiempo transcurrido. Por ejemplo, el muestreo taxonómico puede influir determinadamente en la estimación de las edades de los clados (Felsenstein 1978, Sanderson y Doyle 2001), las tasas de sustitución de diferentes genes o porciones de los mismos, así como hipótesis filogenéticas erróneas o calibraciones temporales de filogenias incorrectas (Nei y Kumar 2000, Felsenstein 2004, Magallón 2004).

La calibración consiste en asignar una edad absoluta a un nodo en un árbol filogenético para transformar los tiempos de divergencia relativa en unidades de tiempo absolutas, por ejemplo, millones de años (Magallón 2004). Uno de los métodos más utilizados para calibrar los nodos es mediante el registro fósil (Magallón 2004, Wertheim y Sanderson 2011), para ello se debe tener certeza sobre la identificación del fósil y debe estar datado de manera precisa ya sea por radiometría o por estratigrafía (Magallón 2004). Además de los fósiles, se han propuesto otros métodos para calibrar

los relojes moleculares, como son, información geológica y estimaciones moleculares. Sin embargo, debido a que es muy difícil que las tasas de mutación sean constantes, resulta incorrecto asumir una tasa de mutación constante entre linajes para inferir las edades de los clados (Sanderson 1998) y por ello, la estimación de las edades mediante datos moleculares es muy criticada (Nei y Kumar 2000).

Diversos estudios filogeográficos han revelado distintos grados de variación geográfica, especialmente en especies en que los caracteres morfológicos hacen problemática sus diagnosis y delimitación (Nyári 2007). A pesar de que actualmente existen varios trabajos que analizan los patrones filogeográficos en aves (*e.g.*, Zink *et al.* 2001, Hearing *et al.* 2007, Nyári 2007, Arbeláez-Cortés *et al.* 2012), son pocos los que comparan los patrones de variación genética con los de vocalizaciones (*e. g.*, Price y Lanyon 2002, Nyári 2007, González *et al.* 2011).

### **El valor evolutivo de las vocalizaciones**

Las vocalizaciones tienen un papel fundamental en la vida de las aves, ya que cumplen distintas funciones. Por ejemplo, defensa del territorio, reconocimiento individual, alarma, petición de alimento y atracción de pareja (Collins 2004, Marler 2004, Catchpole y Slater 2008). En general, los machos utilizan los cantos para defender sus territorios y atraer pareja durante la temporada reproductiva (Levin 1996, Lynch, 1996), donde la selección sexual por parte de la hembra, entre otros factores, podría generar variación en los cantos de los machos (Collins 2004). Dado el papel que juegan los cantos en la atracción de pareja (Catchpole y Slater 2008), las diferencias en ellos puede implicar o conllevar a un aislamiento reproductivo por selección sexual, el cual, podría generar especiación (MacDougall-Shackleton y MacDougall-Shackleton 2001, Newton 2003, Collins 2004, Price 2008).

Las vocalizaciones de las aves pueden dividirse en dos: *Cantos* que generalmente son vocalizaciones largas y complejas compuestas por una variedad de notas y sílabas producidas principalmente por los machos durante la temporada reproductiva (Baptista 1993, Baptista y Kroodsma 2001, Marler 2004, Catchpole y Slater 2008). Sin embargo, en estudios realizados en los trópicos tanto los machos como las hembras tienden a cantar durante todo el año (Langmore, 1998, Catchpole y Slater 2008) y *llamados* que son vocalizaciones generalmente simples y cortas, compuestas por una sílaba y son producidos por ambos sexos a lo largo del año, ocurren principalmente bajo un contexto que puede ser relacionado a funciones como alarma,

amenaza o durante el vuelo (Baptista 1993, Langmore 1998, Marler 2004, Catchpole y Slater 2008).

La divergencia de caracteres involucrados en la elección de pareja, tales como los cantos, el plumaje o los despliegues conductuales, tienen un papel central en la especiación de las aves (Newton 2003, Edwards *et al.* 2005, Price 2008). Esto hace que los cantos sean de gran interés debido a los múltiples factores que influyen en su evolución y su rápido cambio mediante el aprendizaje o la evolución cultural (Edwards *et al.* 2005, Price 2008). Estas características los convierten en una herramienta útil y adecuada para descubrir y confirmar la diferenciación evolutiva entre poblaciones (Tubaro 1999, Alström 2001). Por ejemplo, Price y Lanyon (2002) y Sosa-López *et al.* (2013), encontraron que aún en aves que aprenden sus cantos, existe una concordancia entre la variación de las vocalizaciones y la filogenia, demostrando que los cantos de especies cercanamente relacionadas pueden ser comparados con los patrones encontrados en caracteres genéticos (Payne 1986).

El cambio gradual en los cantos a lo largo de las poblaciones es análogo a los cambios genéticos que podrían estar ocurriendo en las poblaciones aisladas (Price 2008). Sin embargo, la divergencia en los cantos puede ser también resultado directo de la estructura del hábitat sobre los cantos (Slabbekoorn y Smith 2002a). En general, la selección de características del canto que dependen del ambiente podría generar similitudes entre las poblaciones de hábitats semejantes o divergencias entre las poblaciones de hábitats diferentes (Slabbekoorn y Smith 2002a).

Existen evidencias de que algunas características del canto, tales como la duración, la estructura de las sílabas, la frecuencia y el aprendizaje están determinadas, en parte, por la genética (Marler y Pikert 1984, Mundiger 1995, Lachlan y Servedio 2004). Sin embargo, otros estudios muestran que las frecuencias del canto de una especie puede variar entre hábitats con diferente vegetación o estructura de la misma sin que presenten diferencias genéticas (Slabbekoorn y Smith 2002b). Por otra parte, dichas diferencias pueden ser consecuencia de adaptaciones morfológicas en las distintas poblaciones (Podos 2001, Edwards *et al.* 2005). Por ejemplo, Podos (2001) describió que la morfología de los picos del género *Geospiza* está correlacionada con las características de sus vocalizaciones y probablemente esto contribuyó a su diversificación.

Las vocalizaciones son útiles para distinguir entre especies como lo mostraron Isler *et al.* (1997) quienes utilizaron la morfología externa y las vocalizaciones del

complejo *Thamnophilus punctatus* y propusieron que debería dividirse en seis especies. Además, sugieren que al menos tres diferencias vocales son suficientes para delimitar entre especies del género *Thamnophilus*, sobre todo diferencias en la estructura del canto y en el número de notas por segundo (Isler *et al.* 1998). Cabe señalar, que su estudio se realizó con aves suboscines en las que se cree que el canto es innato y que no son afectados por el aprendizaje (Kroodsma 1984). Sin embargo, no está comprobado que todas las subocinas no puedan aprender sus cantos ni que carezcan de variación geográfica por cambios genéticos y/o ambientales (Raposo y Höfling 2003). Raitt y Hardy (1970) emplearon cantos para distinguir entre *Catharus frantzii* y *C. occidentalis*, dos especies morfológicamente muy similares que habitan en simpatria y que durante mucho tiempo fueron consideradas como una sola especie (Philips 1969). Uno de los trabajos que han destacado una relación entre las vocalizaciones y la genética es el de González *et al.* (2011) quienes encontraron, entre otras cosas, que en *Campylopterus curvipennis* las poblaciones que son genéticamente más parecidas, también son más similares vocalmente y que al parecer la selección está modelando la evolución de sus cantos.

Si consideramos que los cambios climáticos durante el pleistoceno afectaron a la flora de las zonas montanas (Hooghiemstra *et al.* 2006), éstos cambios pudieron haber creado diferentes condiciones ecológicas en cada población de *C. frantzii* permitiendo que desarrollaran adaptaciones acústicas a los diferentes hábitats (Slabbekoorn y Smith 2002a). Al permanecer aisladas las poblaciones durante mucho tiempo y con diferentes hábitats, se pudieron haber generado cambios genéticos y conductuales entre las mismas.

En este trabajo se analiza la concordancia entre los patrones filogeográficos y la variación vocal de *C. frantzii* considerando los posibles factores históricos, ecológicos y geográficos que podrían afectar a sus poblaciones tanto genética como vocalmente.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general**

Investigar la congruencia de los patrones filogeográficos y de variación en las vocalizaciones de la especie *C. frantzii* como elementos de la diversificación de esta especie.

### **Objetivos particulares**

- Reconstruir las relaciones evolutivas y geográficas de las poblaciones con base en los genes mitocondriales ND2 y Cyt b de *C. frantzii* a través de un análisis filogeográfico.
- Estimar la diversidad y la estructura genética de las poblaciones mediante secuencias de genes mitocondriales (ND2 y Cyt b).
- Describir la variación geográfica de las vocalizaciones con base en caracteres estructurales del canto.
- Estudiar la relación del ambiente con los cantos de las poblaciones.
- Averiguar la relación de la distancia geográfica con la variación vocal y genética.
- Analizar si existe alguna concordancia entre la variación geográfica de los cantos de *C. frantzii* y los linajes encontrados.

## **HIPÓTESIS**

### **Hipótesis principal**

Dada la discontinuidad geográfica de varias de las poblaciones de *C. frantzii* y a sus diferencias en morfología y coloración que presentan a lo largo de su distribución, se encontrarán diferencias concordantes tanto genéticas como vocales entre las poblaciones de esta especie, mismas que podrían evidenciar procesos evolutivos.

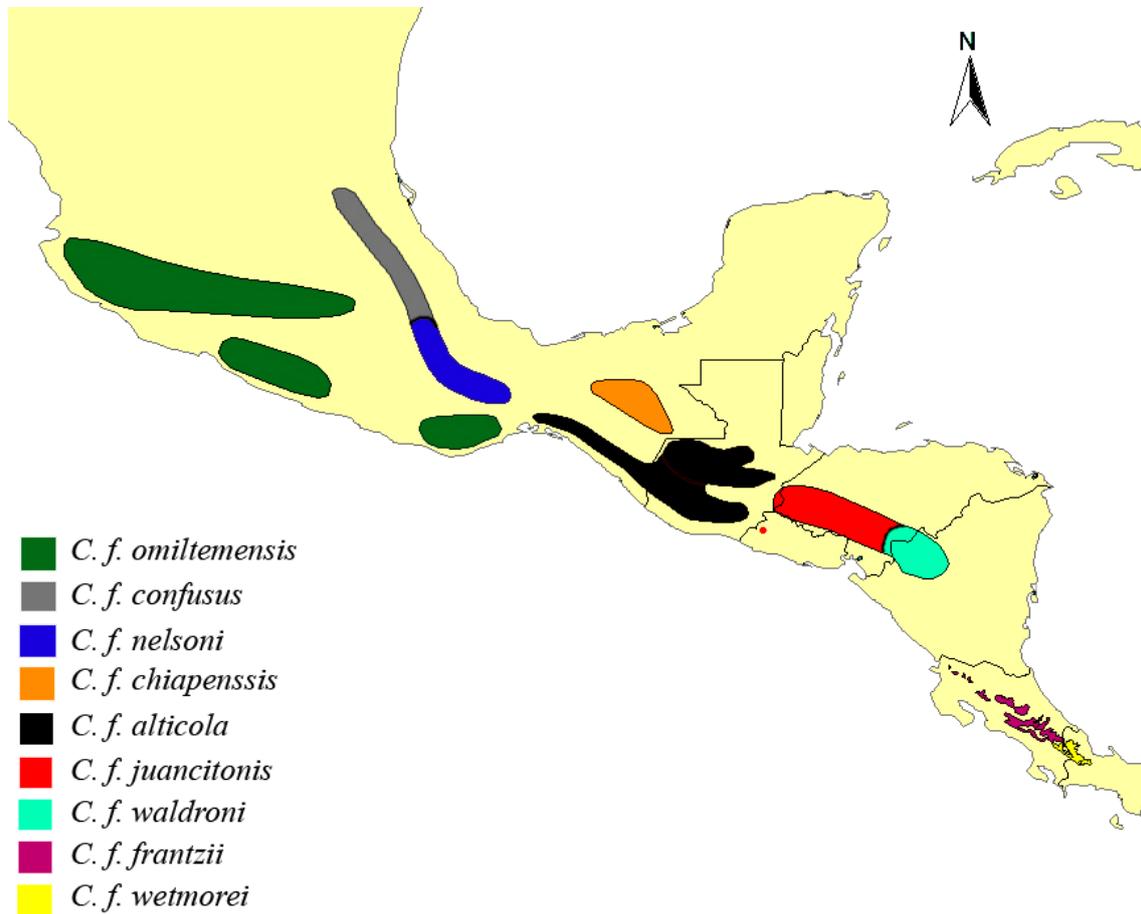
### **Hipótesis alternativas**

- Las diferencias vocales en *C. frantzii* se deben a adaptación acústica al ambiente y no a cambios genéticos.
- La variación vocal entre las poblaciones de la especie se debe al aprendizaje y selección sexual, por lo que todavía no se refleja en su variación genética.

## METODOLOGÍA

### Taxón a estudiar

*Catharus frantzii* (Passeriformes: Turdidae), tiene una distribución que consta de varias poblaciones disyuntas desde el centro de México hasta el oeste de Panamá en bosques húmedos y semihúmedos de montaña, en elevaciones de entre los 1500 a 3500 msnm (Figura 1). Se alimenta de insectos y frutos y se reproduce en los meses de junio a agosto y en algunas ocasiones en enero y febrero (AOU 1998, Howell y Webb, 1995 Collar 2005). Raitt y Hardy (1970) registraron sus cantos desde abril, y probablemente se extienden hasta agosto junto con la temporada reproductiva.



**Figura 1.** Mapa de distribución de *Catharus frantzii* y sus respectivas subespecies. Modificado de Ridgely *et al.* (2007), basado en Phillips (1969) y Dickinson (2003).

### **Estatus taxonómico**

*Catharus frantzii* presenta gran variación geográfica en el patrón de coloración entre poblaciones (Phillips 1991). Actualmente, se han reconocido ocho subespecies con base en su coloración y morfología (Dickinson 2003, Collar 2005). Sin embargo, Ridgway (1907) consideró que existen sólo tres subespecies y Phillips (1969) propuso una novena subespecie, las cuales se describen a continuación:

- A) *Catharus frantzii omiltemensis* Ridgway (1905). Tiene el dorso de color olivo o café oxido muy pálido y opaco contrastando con la cabeza, el vientre es blancuzco con el pecho gris claro. Habita en el centro y sur de Oaxaca, norte y oeste de Jalisco y Michoacán y al este de Morelos, probablemente casual en el oeste y centro de Veracruz durante el invierno (Phillips 1991).
- B) *Catharus f. confusus* Phillips (1969). Más rojizo del dorso, parecido al *C. f. nelsoni* pero más opaco, el crisum, los flancos y las partes posteriores del dorso más claros. Habita en el centro y oeste de Veracruz, norte a sureste de San Luis Potosí.
- C) *Catharus f. nelsoni* Phillips (1969). Café rojizo intenso en el dorso y el pecho en tono café. Habita en el noreste de Oaxaca.
- D) *Catharus f. chiapensis* Phillips (1969). Parecido a *C. f. omiltemensis* pero la cola y las cobertoras de la cola ligeramente más oscuras, la base del crisum también es más oscura. Habita el extremo sureste de Oaxaca, montañas del norte de Chiapas y del este a oeste de Guatemala.
- E) *Catharus f. alticola* Salvin y Godman (1879). Muy oscuro del pecho y vientre, la garganta generalmente invadida por el color gris, pecho gris sin marcas de tonos cafés, excepto los del volcán Santa María, Guatemala. El dorso es olivo más contrastante con la cabeza que en las razas del sur o *C. f. nelsoni*. Habita el sureste de Chiapas, en las montañas del sur de Guatemala y el sureste de El Salvador.
- F) *Catharus f. juancitonis* Stone (1931). La corona es ligeramente más roja que en las demás razas y por lo tanto, más contrastante con el dorso que en *C. f. frantzii*. Habita en las montañas de Honduras y probablemente durante abril a septiembre en El Salvador, quizás se traslapan con los del noreste de Guatemala (Phillips 1991).

- G) *Catharus f. waldroni* Phillips (1969). Color parecido al *C. f. juancitonis* pero el pecho es menos café, el crisum generalmente de color amarillo-olivo claro. Son la raza de menor tamaño. Habitan en el noroeste de Nicaragua.
- H) *Catharus f. frantzii* Cabanis (1860). Semejante al *C. f. nelsoni* en el dorso pero más intenso, el pecho tiene el color más intenso, los flancos y el pecho ligeramente cafés sobre una base gris oscura y el vientre es blanquizco. Habita en las montañas de Costa Rica al norte de San José.
- I) *Catharus f. wetmorei* Phillips (1969). Más claro que *C. f. frantzii*, el dorso es parecido al de *C. f. omiltemensis* pero el pecho y el crisum son de color café claro y menos grisáceo. Habita en las montañas del sur de costa Rica y el oeste de Panamá.

Algunos investigadores como Ridgway (1907) sólo consideran tres de ellas, las cuales son: *C. f. frantzii*, *C. f. alticola* y *C. f. omiltemensis*, mientras que otros como Collar (2005) consideran a todas menos a *C. f. confusus*.

### **Cantos de *Catharus frantzii***

Las especies de la familia Turdidae cantan principalmente durante la temporada reproductiva, aunque algunas especies territoriales lo hace durante todo el año (Collar 2005). En general, son de las primeras aves en cantar al amanecer y de las últimas al anochecer y se caracterizan por tener cantos con frases diversas (Collar 2005). Particularmente en la especie *C. frantzii* son los machos los que producen los cantos (Collar 2005).

En 1970 Raitt y Hardy describieron los cantos de *C. occidentalis* y *C. frantzii* como parte de sus diferencias, siendo esta última especie la que presenta un mayor repertorio de frases, las cuales son muy melodiosas y con una gran variación en duración y frecuencias. Sus cantos están compuestos por un serie de frases de duraciones entre los 0.4 y 1.6 segundos. Pueden llegar a emitir 16 frases sin ser repetidas y presentan una disminución en la invención de nuevas frases aproximadamente a partir de la frase 26 (Raitt y Hardy 1970). Las frases se caracterizan por una frecuencia media de entre 2 y 4 kHz, con una frecuencia principal que muestra cambios abruptos con efectos de intermodulación (Raitt y Hardy 1970, Collar 2005).

Durante mucho tiempo *C. frantzii* fue confundido con *C. occidentalis*, incluso por los especialistas (Phillips 1991), debido al gran parecido entre estas especies, que

además, se encuentran en simpatria en las montañas del centro de México. Actualmente, se aceptan como especies distintas (AOU 1998) con diferencias marcadas entre sus nidos y cantos (Rowley y Orr 1964, Raitt y Hardy 1970). Además, análisis filogenéticos recientes han mostrado que ni siquiera son especies hermanas, ya que *C. occidentalis* está más relacionado con *C. guttatus* y por otro lado, *C. frantzii* es la especie hermana del grupo formado por *C. bicknelli*, *C. minimus* y *C. fuscescens* (Outlaw *et al.* 2003). Si estas dos especies que antes se confundían dentro de una misma especie en realidad son dos, es probable que pueda estar ocurriendo lo mismo dentro de las poblaciones de *C. frantzii* ya que hasta ahora la descripción de las subespecies de *C. frantzii* se ha basado en caracteres morfológicos y patrones de coloración. Además, sus poblaciones se encuentran separadas en las distintas montañas a lo largo de su distribución, lo que podría estar impidiendo el flujo génico entre las poblaciones. Es necesario seguir estudiando los caracteres fenotípicos, genotípicos y las vocalizaciones de esta especie para clarificar su estatus taxonómico, puesto que el aislamiento geográfico debido a la historia geológica de las zonas donde habita, aunado a la diferenciación morfológica, sugieren que puede tratarse de más de una especie (Navarro-Sigüenza y Peterson 2004).

**Datos genéticos.** Para la obtención de las muestras de ADN se utilizaron secuencias depositadas en GenBank así como obtenidas directamente de material biológico (muestras de tejidos congelados) de la colección de aves del Museo de Zoología de la UNAM (MZFC) y a través de préstamos de colecciones de tejidos de Estados Unidos de América, los cuales fueron enviados por las colecciones de: el Biodiversity Institute de la Universidad de Kansas (KU), el Field Museum of Natural History de la Universidad de Chicago (FMNH), la Universidad de Nevada, Las Vegas (UNLV), Museum of Natural History de la Universidad de Louisiana (LSUMZ) y la colección Dickey de la Universidad de California, Los Ángeles (UCLA). Además se consiguieron muestras de plumas y sangre del Instituto de Ecología de Xalapa, Veracruz (INECOL, Anexo I y Figura 2). La obtención de ADN total se realizó mediante el protocolo fenol-cloroformo o utilizando el kit DNeasy (Qiagen) para aislamiento de ADN. Una vez obtenido el ADN total, se realizó la amplificación por PCR de dos regiones del ADN mitocondrial (gen ND2 y Cyt b).

El gen NADH subunidad 2 (ND2) tiene una longitud de 1041 pares de bases (pb) (Voelker y Spellman 2003). Dentro del grupo de las aves en términos de secuencias de aminoácidos es el tercer gen mitocondrial más variable en la tercera posición

(Sorenson 2003). El Citocromo b (Cyt b) tiene una longitud de ~1140 pb. Es un gen que ha mostrado ser eficiente resolviendo relaciones filogenéticas recientes, por ejemplo, a nivel de especie o subespecies (Moore y DeFilippis 1997). Además, se ha mostrado que el Cyt b puede ser mejor que el ND2 o el COI (citocromo oxidasa I) para la identificación de especies (Boonseub *et al.* 2009).

Los primers que se utilizaron son: L5215, L3447, H5766 y H6313 para ND2 y L14851, H745b, L15383, B20, H745bALT, y H778 para Cyt b (Sorenson 2003). La amplificación del ND2 se realizó en 10 ciclos de 94°C (15s), 55°C (30s) y 72°C (30s); seguidos por 35 ciclos de 94°C (15s), 50°C (15s) y 72°C (30s) finalizando con 72°C (3min). La amplificación del Cyt b se realizó en 27 ciclos de 95°C (1 min), 50°C (1 min) y 72°C (2min); finalizando con 72°C (7min). Los productos amplificados fueron visualizados en geles de agarosa al 1% para confirmar su presencia, determinar que el tamaño del amplificado correspondiera con el del fragmento esperado y determinar la presencia de una sola banda. En todas las amplificaciones se usaron controles negativos para descartar la ocurrencia de contaminación por ADN y posteriormente fueron purificados y amplificados para poder secuenciarlos.

Una vez que se obtuvieron las secuencias de ADN se editaron con el programa SEQUENCHER 4.9 (Gene Codes Corp. 2009) y GENEIOUS 5.5 (Drummond *et al.* 2010), tomando como referencia secuencias de *C. frantzii* de trabajos previos depositadas en GenBank, posteriormente se alinearon con CLUSTALW (Thompson *et al.* 1994) y se revisó manualmente el alineamiento.

**Datos vocales (Grabaciones).** Las vocalizaciones fueron obtenidas mediante grabaciones directas en campo y de grabaciones almacenadas en colecciones científicas como el Museo de Zoología “Alfonso L. Herrera” de la Facultad de Ciencias, UNAM (MZFC), Museo de Historia Natural de Florida (FLMNH) y la biblioteca de sonidos Macaulay del Laboratorio de Ornitología de Cornell (ML), además de contacto directo con personas dedicadas a la grabación de aves en campo y que contribuyen a la base de cantos de Xeno-Canto ([www.xeno-canto.org](http://www.xeno-canto.org), Anexo II y Figura 2).

Las grabaciones se realizaron a lo largo de transectos que no se repitieron para evitar que se grabara al mismo individuo en diferentes ocasiones y maximizar la independencia de la muestra (Price y Lanyon 2002). Las grabaciones fueron hechas de las 0700 a 1000 y 1600 a 1830 horas, con una parábola y micrófono Telinga TwinScience y una grabadora FOSTEX FR2 LE, en memorias CF (Compact flash) de 4

Gb. La tasa de grabación empleada fue de 44.1 kHz con un intervalo dinámico de 16 bits en formato WAV (wave). Las grabaciones se depositaron en la colección de cantos del MZFC.

Debido a que las grabaciones provienen de distintas fuentes y poseen distintas tasas de muestreo y número de canales, se procedió a uniformizar todas las grabaciones con el programa Adobe Audition 3 (Adobe Systems Incorporated 2007). Primero, para las grabaciones que tenían dos canales se seleccionó aquél que tuviera una mejor relación señal-ruido. Una vez que todas las grabaciones tuvieron un solo canal, se transformaron a la misma tasa de muestreo. Como algunas de las grabaciones tenían tasa de muestreo de 16 bits y otras de 24 bits, se optó por transformar todas a la tasa más baja que presentaron las grabaciones (16 bits) puesto que a la inversa se estarían generando datos ficticios. Posteriormente, todas las grabaciones se normalizaron con el programa Adobe Audition 3. Finalmente, con el programa XBAT 5 (Figueroa 2006) que corre sobre la plataforma Matlab 7.10 (The MathWorks, Inc. 2010), se juntaron todas las grabaciones obtenidas para realizar una búsqueda automatizada de los cantos y llamados

Para realizar la búsqueda automática se empleó el detector “Data template” con un umbral de detección del 0.6 el cual, fue calculado de manera empírica con las grabaciones de *C. frantzii*. Este valor se prefirió sobre el valor predeterminado del programa que es de 0.4, debido a que este último incrementaba el número de falsos positivos en las detecciones y valores superiores al 0.6 incrementaron los falsos negativos. Con ello se generó el repertorio de cantos y llamados de cada individuo y de cada población. Debido a la alta variación que presentaron los cantos de cada individuo, se decidió reducir el sesgo en los análisis eligiendo al azar dos cantos (uno agudo y uno grave) y un llamado de cada individuo. La clasificación entre agudo y grave se realizó mediante la sintaxis del canto. Una vez que se seleccionaron los cantos y llamados a utilizar se recortaron los clips con el programa XBAT agregándoles dos segundos al principio y al final.

Se generaron espectrogramas a los cantos y llamados, los cuales se realizaron en el programa Raven Pro 1.4 ([www.birds.cornell.edu/raven](http://www.birds.cornell.edu/raven)) con los parámetros preestablecidos del programa: una ventana Hanning, con resolución de 11.6ms, una DFT de 512 muestras y un traslape de 90%. Los parámetros anteriores proveen un balance razonable de calidad entre tiempo y frecuencia (Charif *et al.* 2008). Además de los cantos, el llamado se eligió para este estudio porque es una vocalización que tanto su

forma como sus frecuencias tienden a ser similares en especies cercanamente relacionadas y más divergentes en especies más lejanamente relacionadas (Alström 2001).

Una vez que se tuvieron los cantos y llamados de cada individuo se decidió medir características cualitativas y cuantitativas de las vocalizaciones mismas que en estudios previos con cantos de aves sirvieron como caracteres para distinguir entre especies o incluso entre poblaciones (Isler *et al.* 1998, Tubaro 1999, Price y Lanyon 2002, Dingle *et al.* 2008, Dingle *et al.* 2010). A continuación se nombran las medidas seleccionadas:

1. *Frecuencia de mayor poder*: La frecuencia con mayor energía durante el canto (kHz).
2. *Frecuencia central*: la frecuencia que divide al canto en dos intervalos de frecuencia de igual energía (kHz).
3. *Frecuencia mínima del canto*: el punto de menor frecuencia de una vocalización (kHz).
4. *Frecuencia máxima*: El punto de mayor frecuencia en toda la vocalización ( kHz).
5. *Intervalo en la frecuencia*: la frecuencia máxima menos la frecuencia mínima de la vocalización (kHz).
6. *90% del ancho de banda*: Mide el intervalo de frecuencias entre el 5% y el 95% de la frecuencia de la vocalización (kHz).
7. *Entropía promedio*: Mide que tan variada es la señal en fragmentos de la vocalización mediante la distribución de la energía y la promedia.
8. *Entropía agregada*: Mide que tan variada es la señal de los fragmentos de la vocalización mediante la distribución de la energía y los suma.
9. *Duración del canto*: el tiempo que dura la vocalización desde el inicio de la primera nota hasta el final de la última (s).
10. *90% de la duración del canto*: elimina el 5% inicial y final de la vocalización. (s).
11. *Tiempo central*: Es el punto que divide la selección en dos intervalos de tiempo con igual energía. Permite conocer si el ave usa más energía al principio o al final del canto.
12. *Número de notas*: es la cantidad de notas emitidas durante la vocalización.
13. *Frecuencia del primer cuartil*: La frecuencia que divide la vocalización en dos intervalos de frecuencia que contienen uno del 0-25% y otro del 25-75% de la frecuencia.

14. *Frecuencia del tercer cuartil*: La frecuencia que divide la vocalización en dos intervalos de frecuencia que contienen el primero del 0-75% y el segundo del 75-100% de la frecuencia.

Para medir las variables, se emplearon las medidas automáticas del programa Raven 1.4 Pro y así eliminar el error asociado al investigador. Adicionalmente, únicamente para los llamados de *C. frantzii* se les midió la frecuencia del primer y tercer cuartil en lugar del número de notas debido a que constan de una sola nota

### **Análisis de datos moleculares**

Se realizaron análisis para las secuencias de los genes ND2 y Cyt b. Como grupo externo se utilizó el grupo hermano formado por *C. bicknelli*, *C. fuscescens* y *C. minimus* y también *Hylocichla mustelina* (Outlaw *et al.* 2003). Los análisis se realizaron con los datos de los genes concatenados y estimando un modelo de sustitución para cada una de las posiciones de los codones, obteniendo así un total de seis modelos de sustitución (Tabla 2). Posteriormente se estimaron hipótesis filogenéticas con base en dos diferentes criterios:

*Análisis de máxima verosimilitud*: Se identificó el modelo de sustitución que mejor se ajustó a los datos empleando el programa jModelTest (Posada 2008) de acuerdo con el criterio de información de Akaike (AIC). Después, se estimó la topología y las longitudes de rama mediante búsqueda heurística con el programa Garli 2.0 (Zwickl 2006) y PAUP 4.0 (Swofford 2002), utilizando seis particiones y añadiendo los valores del mejor modelo de sustitución obtenido para cada posición del codón (Tabla 2). Finalmente, debido a que el método no garantiza encontrar el árbol óptimo, se hizo un bootstrap de 10 000 réplicas para evaluar los intervalos de confianza de las hipótesis inferidas (Felsenstein 1985, Schmidt y Von Haeseler 2009). Si el valor obtenido de bootstrap fue  $\geq 70\%$  entonces se consideró que la rama tiene buen soporte (Hills y Bull 1993).

*Análisis de Inferencia Bayesiana*: Una diferencia fundamental entre máxima verosimilitud e inferencia bayesiana es la manera en que tratan a los parámetros de los modelos de sustitución, siendo este último mucho mejor estimando hipótesis filogenéticas cuando el modelo de sustitución requiere más parámetros por ejemplo, sitios invariables o la forma de la distribución gamma (Holder y Lewis 2003).

Se utilizaron cuatro cadenas de las cuales tres fueron “frías” y una “caliente”. Los modelos de sustitución se estimaron por separado para cada posición del codón con el programa jModeltest (Posada 2008). Los mejores modelos se seleccionaron con el criterio de información Bayesiano (BIC, Tabla 2; Schwarz 1978).

Las relaciones filogenéticas se obtuvieron con el programa Mr. Bayes 3.2.0 (Ronquist y Huelsenbeck 2003), con los siguientes parámetros: 15000000 de generaciones muestreando cada 1000 generaciones con un modelo de sustitución para cada posición del codón en cada gen (Tabla 2). Posteriormente, con el programa Tracer 1.5 (Rambaut y Drummond 2009) se definió el “burn in”, el resto de los árboles fueron utilizados para calcular las probabilidades posteriores. Si la probabilidad posterior obtenida para un clado fue mayor o igual 0.95 entonces se consideró como significativamente soportado (Wilcox 2002).

### **Red de haplotipos**

La red de haplotipos se generó con el programa Network 4.6 ([www.fluxus-technology.com](http://www.fluxus-technology.com)), mediante el algoritmo de Máxima Parsimonia (MP), empleando únicamente las secuencias del gen ND2 debido a que para el gen Citocromo b no fue posible obtener la secuencia completa en varias de las muestras.

### **Estructura génica**

Se calculó la diversidad nucleotídica ( $\pi$ ) y haplotípica de los haplogrupos obtenidos en la red de haplotipos. Además, se calculó la  $F_{ST}$  para evaluar el grado de diferenciación genética entre los grupos. También se estimó el número promedio de individuos intercambiados por generación entre haplogrupos ( $N_m$ ). Estos valores fueron usados como indicativos de la magnitud relativa de flujo génico entre las poblaciones. Se realizó una prueba de neutralidad de Fu ( $F_s$ ) para inferir la historia de la población. En esta prueba, si los valores son negativos implica un exceso de mutaciones recientes que podrían deberse a una expansión de individuos o un auge histórico (Fu 1997), y si son positivos implica que una historia poblacional estable. Aunado a ello, se realizó una prueba de D de Tajima. La significancia de estas dos últimas se evaluó mediante simulaciones de coalescencia (Akey *et al.* 2004) y finalmente, se obtuvieron las distribuciones mismatch para detectar posibles expansiones poblacionales (Tajima 1989, Slatkin y Hudson 1991, Rogers y Harpending 1992, Hamilton 2009). La significancia se evaluó mediante la  $R_2$  de Ramos-Onsins y Rozas (2002), la cual es una

prueba robusta para tamaños de muestra pequeños (Ramos-Onsins y Rozas 2002). Los cálculos se realizaron con el programa Arlequin 3.5 (Excoffier y Lischer 2010) y DnaSP v.5 (Librado y Rozas 2009). Adicionalmente se estimaron cambios poblacionales en el pasado utilizando los Skyride plots, mismos que permiten identificar cuellos de botella y crecimientos poblacionales en el pasado sin la necesidad de tomar decisiones subjetivas sobre el tamaño poblacional (Minin *et al.* 2008, Ho y Shapiro 2011). Los análisis se realizaron con el programa Beast 1.7.4 (Drummond y Rambaut 2007) utilizando los mismos valores abajo descritos, eliminando el grupo externo y cambiando el prior del árbol por el Skyride plot GRMF. Posteriormente, se generaron los gráficos con el programa Tracer 1.5 (Rambaut y Drummond 2009).

### **Tiempos de divergencia**

Para estimar los tiempos de divergencia de los grupos de *C. frantzii* se utilizó el programa Beast 1.7.4 (Drummond y Rambaut 2007), empleando las edades obtenidas por Outlaw (2003) para los nodos *C. dryas-C. aurantirostris* y *C. frantzii-C. fuscescens*, *C. minimus*, *C. bicknelli* de  $4.83 \pm 0.516$  Ma y  $2.61 \pm 0.232$  Ma respectivamente. El modelo de sustitución que se usó fue el GTR estimando las frecuencias de las bases y un modelo de heterogeneidad de sitios gamma con cuatro categorías. Para este análisis no se particionaron los datos. El modelo de reloj fue el relajado de logaritmo normal y una tasa de sustitución del 1.9% (Fleischer *et al.* 1998). El prior del árbol fue el proceso Yule de especiación (Gernhard 2008). Se corrió durante 10 000 000 generaciones muestreando cada 1000 y se utilizó Tracer 1.5 (Rambaut y Drummond 2009) para definir el “burn in” y desecharlo, el cual fue del 10%. Posteriormente con el programa TreeAnnotator 1.7.4 (Drummond y Rambaut 2007) se definió un límite de probabilidad posterior de 0.5, un tipo de árbol de clado de máxima credibilidad y edades promedio de los nodos del árbol. Adicionalmente, se realizó otra estimación con el programa IMA2 que utiliza el método de aislamiento con migración para determinar los tiempos en que dos o más poblaciones divergieron. Se basa en el supuesto de que en ausencia de intercambio genético, la divergencia entre las poblaciones es proporcional al tiempo que divergieron desde que compartieron un ancestro común (Hey 2010).

### **Análisis de datos vocales**

Una vez obtenidas las medidas de todas las vocalizaciones, se generó una base de datos y se realizó una prueba de correlación múltiple para eliminar alguna de las variables cuya información fue redundante (Sokal y Rohlf 1969). Con el fin de averiguar si las poblaciones de *C. frantzii* se agrupan de acuerdo a las características de sus cantos se llevó a cabo un análisis de componentes principales (PCA) y se observó cuáles fueron las variables que aportaron más información mediante los eigenvalores, posteriormente se hizo un análisis discriminante (DFA), que es una técnica apropiada para hacer agrupaciones con base en las características de los objetos a clasificar (Hair *et al.* 2010). Se emplearon los clados encontrados genéticamente para definir los grupos y además un segundo análisis empleando como poblaciones las localidades donde se grabaron los cantos y que no tuvieran una distancia mayor a 30 Km. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y pruebas post-hoc de Tukey con la finalidad de averiguar si las diferencias encontradas entre las poblaciones es significativa.

Posteriormente se empleó la prueba de Mantel misma que es útil para analizar la correlación entre matrices de distancia (Mantel 1967), por lo que una vez definidas las poblaciones, se analizó si la distancia geográfica está relacionada con las diferencias en las vocalizaciones y con las diferencias genéticas. La prueba de Mantel se llevó a cabo empleando una matriz de distancia geográfica entre las poblaciones (medida en Km) y una matriz de distancia euclidiana (disimilitud) generada con los datos de las medidas de las vocalizaciones (Koetz *et al.* 2007). Además, se realizó una prueba de Mantel parcial, agregando una tercera matriz que contenía las distancias genéticas de las poblaciones. Dichas pruebas se realizaron con el programa XLSTAT 2009 (Addinsoft Inc. 2009).

### **Relación del ambiente y variación vocal**

Tanto el ambiente como el tipo de hábitat también afecta la estructura y frecuencia de los cantos (Slabbekoorn y Smith 2002b, Catchpole y Slater 2008). Es por ello que para averiguar la relación entre el ambiente y los cantos se obtuvieron las condiciones climáticas de cada punto en donde se grabó a *C. frantzii*, debido a que los cantos utilizados son de la temporada reproductiva (primavera-verano) se decidió no utilizar las variables son de la temporada de secas e invierno, resultando en diez de las 19 capas climáticas de WorldClim (Hijmans *et al.* 2005; Tabla 1)

**Tabla. 1.** Nombres de las coberturas climáticas de WorldClim (Hijmans *et al.* 2005) empleadas para obtener las condiciones climáticas de las poblaciones de *C. frantzi*.

<b>Variable climática</b>	<b>Nombre</b>
BIO3	Isotermalidad
BIO5	Temperatura máxima del mes más cálido
BIO6	Temperatura mínima del mes más frío
BIO9	Temperatura media del cuarto más húmedo
BIO10	Temperatura media del cuarto más seco
BIO11	Temperatura media del cuarto más cálido
BIO16	Precipitación del cuarto más húmedo
BIO17	Precipitación del cuarto más seco
BIO18	Precipitación del cuarto más cálido
BIO19	Precipitación del cuarto más frío

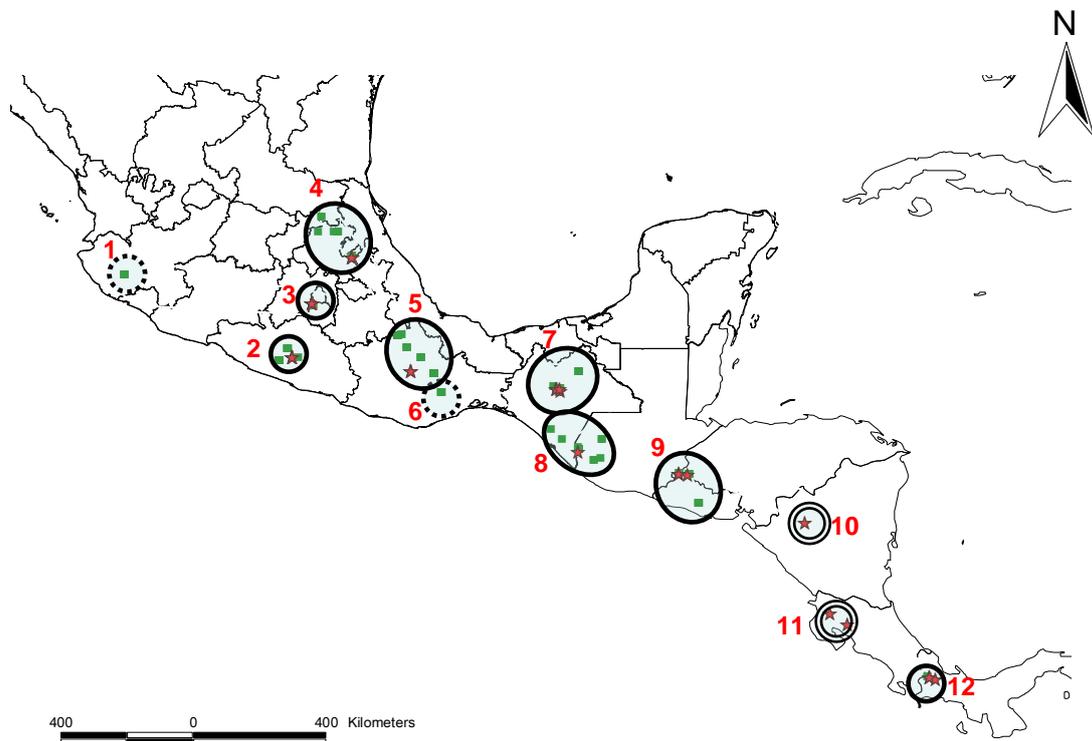
Posteriormente, se generaron matrices de distancia euclidiana con los valores de las variables climáticas y se llevó a cabo una prueba de Mantel entre la distancia vocal y la distancia climática.

### **Relación entre la distancia geográfica, la variación vocal y la genética**

Con la finalidad de averiguar si la distancia geográfica influye en la variación vocal y genética, se realizaron varias pruebas de Mantel. Primero se generó una matriz de distancia geográfica entre los puntos de grabación y colecta con el programa ArcView 3.2 (ESRI 1999) y la extensión Distance and Azimuth Matrix 2.1 (Jenness 2005) tomando en cuenta la curvatura del planeta. Una vez que se tuvieron las distancias se transformaron de metros a kilómetros. Finalmente, se realizaron pruebas de Mantel entre la distancia geográfica y la distancia vocal y otra entre la distancia geográfica y distancia genética. Adicionalmente, se realizó una prueba parcial de Mantel entre las distancias vocales y genéticas controlando por la distancia geográfica y otra entre la distancia vocal y climática también controlada por la distancia geográfica.

## RESULTADOS

Se obtuvieron muestras de tejidos y/o vocalizaciones para 13 poblaciones asignadas a *C. frantzii*, solo para dos de estas poblaciones fue posible conseguir únicamente vocalizaciones (Nicaragua y Costa Rica), mientras para otras tres poblaciones no fue posible obtener grabaciones pero sí muestras de tejidos (Jalisco, Sur de Oaxaca y Guatemala; Figura. 2), obteniéndose un total de 52 secuencias del gen Citocromo b y 64 secuencias para el gen ND2 con longitudes de 530-1060 pb y de 969 a 1041 pb respectivamente.



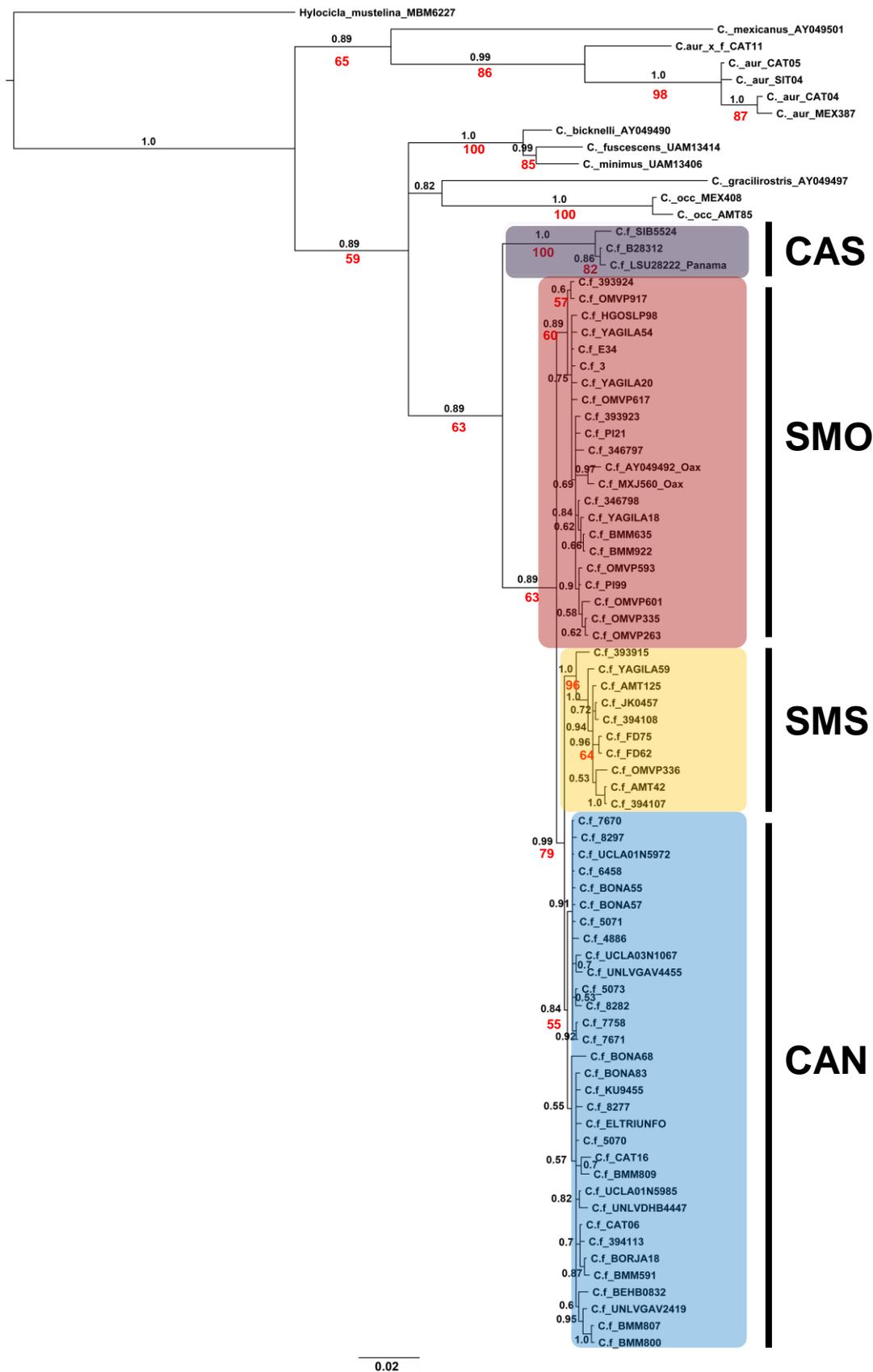
**Figura 2.** Mapa de los sitios de muestreo de *C. frantzii*. Los cuadros verdes representan las muestras de tejidos. Las estrellas rojas a las grabaciones obtenidas en campo y de colecciones de sonidos. Las áreas con línea punteada son poblaciones de las que sólo se tienen muestras de tejido. Las áreas con doble línea son aquellas que sólo se tienen grabaciones y las de línea continua son las que tienen ambas muestras. Las Poblaciones fueron delimitadas por una distancia geográfica menor a 30km y por congruencia geográfica quedando de la siguiente manera: 1) Jalisco, 2) Guerrero, 3) Morelos, 4) Hidalgo-San Luis Potosí, 5) Oaxaca Norte, 6) Oaxaca Sur, 7) Chiapas Norte, 8) Chiapas Sur, 9) Guatemala, 10) El Salvador, 11) Nicaragua, 12) Costa Rica y 13) Panamá.

**Tabla 2.** Modelos de sustitución obtenidos por jModeltest seleccionados por los valores de BIC y AIC para cada sitio de los codones de los genes Cyt b y ND2 de *C. frantzi*.

<b>Gen</b>	<b>Posición 1</b>	<b>Posición 2</b>	<b>Posición 3</b>	<b>Criterio</b>
Cyt b	TPM1+G	TPM3uf	HKY+G	BIC
ND2	TrN+G	TPM1uf+G	TIM2+G	BIC
Cyt b	TPM1+G	TPM3uf	HKY+G	AIC
ND2	TrN+G	TPM1uf+G	TIM2+G	AIC

### **Filogenia**

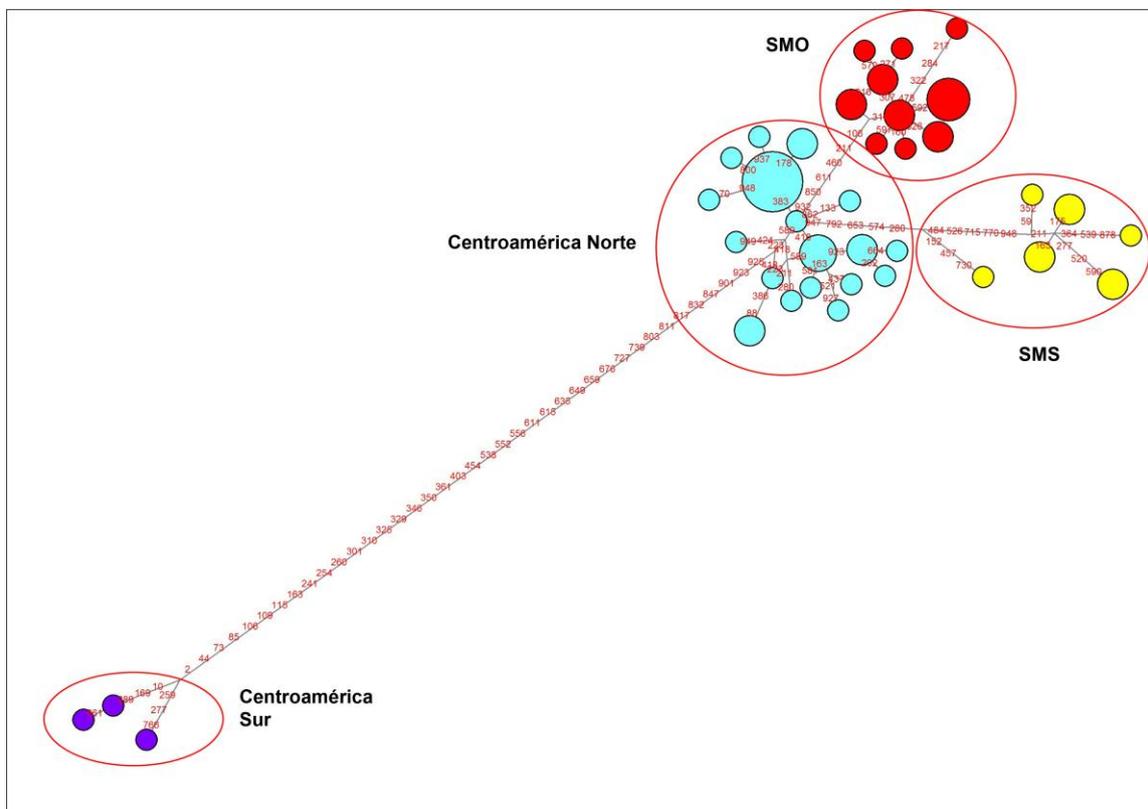
Las relaciones filogenéticas de *C. frantzi* (Fig. 3) estimadas por máxima verosimilitud e inferencia Bayesiana arrojaron prácticamente la misma topología pero con diferentes soportes de rama, siendo más altos los de la inferencia Bayesiana. Este fenómeno se ha observado empíricamente y al parecer, las probabilidades posteriores reflejan mejor la existencia del clado en una filogenia (Erixon *et al.* 2003). El cladograma mostró que la población de Panamá es el grupo basal (probabilidad posterior, PP=1, ML bootstrap=100), nombrado en este estudio como clado de Centroamérica Sur. Posteriormente, las poblaciones de San Luis Potosí, Hidalgo y Oaxaca se agrupan en el clado de la Sierra Madre Oriental (PP=0.89, ML bootstrap=63). Las poblaciones de Guerrero, Morelos y Jalisco se agrupan en el clado de la Sierra Madre del Sur (PP=1, ML bootstrap=96), y finalmente las poblaciones de Chiapas, Guatemala y El Salvador conforman el clado nombrado como Centroamérica norte (PP=0.84, ML bootstrap=55). En este último, varias de las relaciones dentro del mismo no están resueltas y tienen valores de soporte bajos (Figura 3). Los nombres de los grupos aquí empleados no corresponden a los límites propuestos para cada una de esas áreas y únicamente se emplean con el fin de ubicar a grandes rasgos los clados obtenidos.



**Figura 3.** Árbol filogenético de *C. frantzi* obtenido mediante inferencia Bayesiana. Los números representan las probabilidades posteriores de cada nodo. Los números rojos representan los valores de bootstrap de la Máxima Verosimilitud (10000 réplicas). SMS: Sierra Madre del sur (amarillo); SMO: Sierra Madre Oriental (rojo); CAN: Centroamérica norte (azul); CAS: Centroamérica sur (morado).

## Haplotipos

En la red de haplotipos se observan cuatro grupos que muestran una diferencia de cinco o más pasos mutacionales y que concuerdan con los clados obtenidos en los análisis filogenéticos. El grupo de Centroamérica Sur presentó un total de 39 pasos mutacionales con respecto al resto de los grupos. El de la Sierra Madre Oriental (SMO) tiene seis pasos mutacionales y el grupo de la Sierra Madre del Sur (SMS) tuvo cinco pasos mutacionales con respecto al grupo de Centroamérica norte. Anidado en el grupo de la Sierra Madre del Sur, se distingue un pequeño grupo formado por la población de Jalisco, el cual, también posee cinco pasos mutacionales de diferencia con respecto al de la Sierra Madre del Sur (Figura 4).



**Figura 4.** Red de haplotipos de 952 pb del gen ND2 de *C. frantzii* generada en Network 4.6. Amarillo: Sierra Madre del Sur (Jalisco, Guerrero, Morelos y Oaxaca); Rojo: Sierra Madre Oriental (Hidalgo, Oaxaca y San Luis Potosí); Azul: Centroamérica norte (Chiapas, Guatemala y El Salvador); Morado: Centroamérica sur (Panamá).

Los únicos grupos que compartieron un haplotipo fueron los de la Sierra Madre del Sur y la Sierra Madre Oriental, mientras que el resto de las poblaciones presentaron haplotipos exclusivos (Tabla 3).

**Tabla 3.** Haplotipos de los cuatro grupos de *C. frantzii*. \*= poblaciones que comparten haplotipos.

Grupo	# de muestras	Haplotipos	Haplotipos compartidos
Sierra Madre del Sur*	11	7	1
Sierra Madre Oriental*	15	10	1
Centroamérica norte	30	17	0
Centroamérica sur	3	3	0
<b>Totales</b>	<b>59</b>	<b>36</b>	<b>1</b>

### Estructura genética

Para este análisis las poblaciones se definieron con base en los resultados obtenidos por la red de haplotipos y los árboles filogenéticos, resultando en cuatro grupos: Centroamérica sur (CAS), Centroamérica norte (CAN), Sierra Madre Oriental (SMO) y Sierra Madre del Sur (SMS). Los datos sugieren un crecimiento poblacional para los grupos de Centroamérica norte y la Sierra Madre Oriental. Por el contrario, el tamaño poblacional del grupo de la Sierra Madre del Sur ha permanecido estable y el grupo de Centroamérica sur muestra una tendencia hacia el crecimiento poblacional (Tabla 4). Debido a que sólo se obtuvieron tres muestras para Centroamérica sur, no fue posible calcular los parámetros de la  $F_{Fu}$ ,  $D_{Tajima}$ , ya que como se comparan entre pares se requieren al menos cuatro muestras para hacer el análisis. En general, los tamaños de muestra de los cuatro grupos son pequeños para realizar análisis demográficos certeros, por lo tanto, los resultados observados deben ser tomados con cautela.

**Tabla 4.** Parámetros poblacionales de los grupos observados en *C. frantzii*, estimados con los genes mitocondriales citocromo b y ND2. En negritas se muestran los valores de p significativos ( $p < 0.05$ ).

Población	Diversidad nucleotídica ( $\pi$ )	Theta de Watterson ( $\theta$ )	Diversidad haplotídica (h)	$F_{Fu}$	$D_{Tajima}$	Implica
<b>CAS</b>	0.00505	0.00505	1.0	NA	NA	Expansión. Poblacional
<b>CAN</b>	0.00348	0.00663	0.922	-10.467, <b>p= 0.000</b>	-1.68863, <b>p= 0.029</b>	Expansión. Poblacional
<b>SMO</b>	0.00490	0.00937	0.943	-2.369, p= 0.101	-2.00261, <b>p= 0.007</b>	Expansión. Poblacional
<b>SMS</b>	0.01131	0.01076	0.927	1.580, p= 0.777	0.23578, p= 0.653	Población estable

Además, los resultados del índice de fijación ( $F_{st}$ ) indicaron grandes diferencias entre las poblaciones, sobre todo para la población de Centroamérica sur (Tabla 5). También, el flujo génico entre las poblaciones fue bajo, mostrando que el número de migrantes entre poblaciones es escaso (Tabla 5).

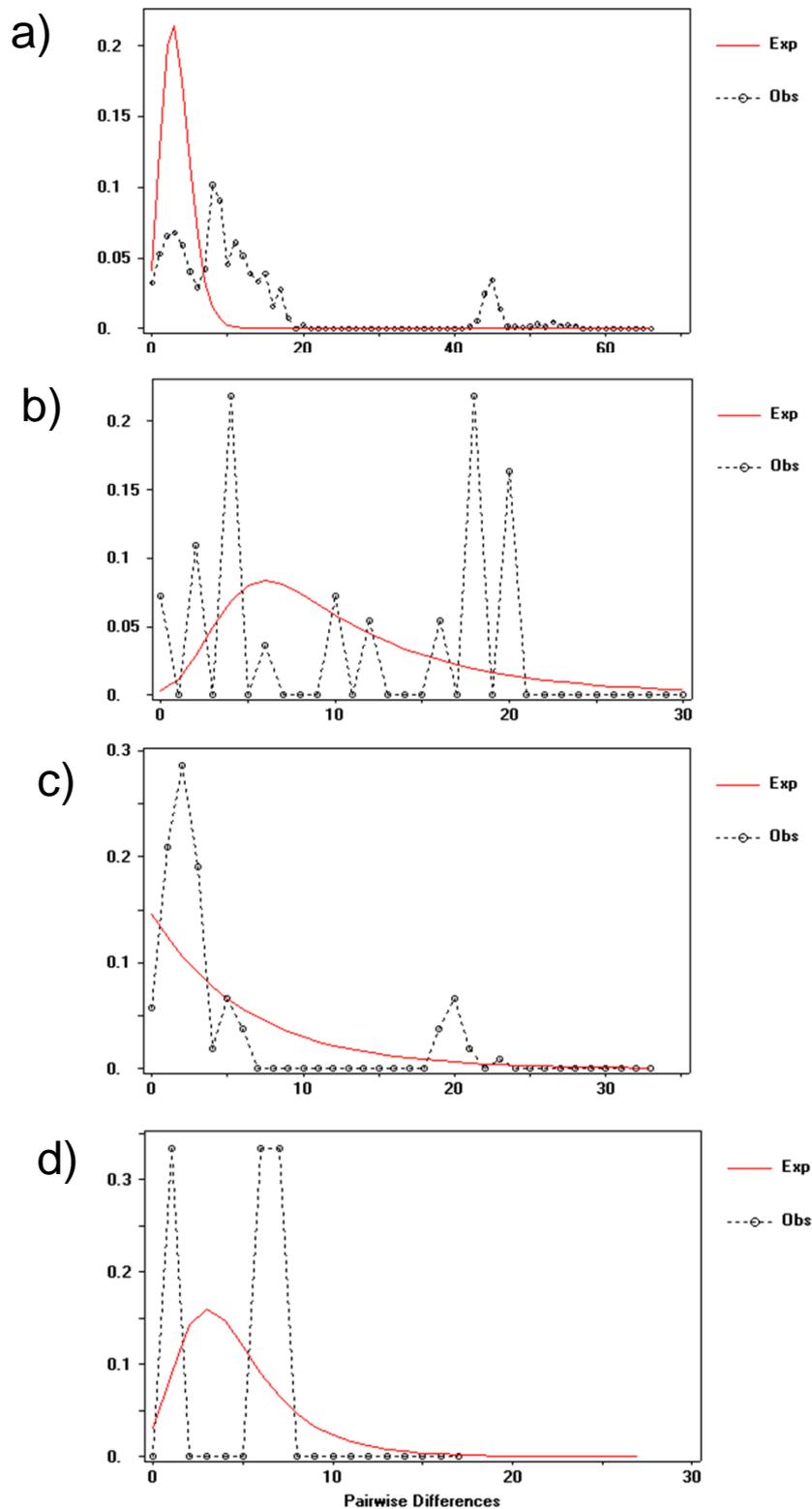
**Tabla 5.** Índices de diferenciación genética ( $F_{st}$ ) entre las poblaciones de *C. frantzii* (bajo la diagonal) y el promedio de individuos migrantes por generación ( $Nm$ ; sobre la diagonal).

Haplogrupo	CAS	CAN	SMO	SMS
CAS		0.05	0.05	0.08
CAN	0.91234		0.31	0.59
SMO	0.90304	0.61476		0.63
SMS	0.86211	0.45906	0.44093	

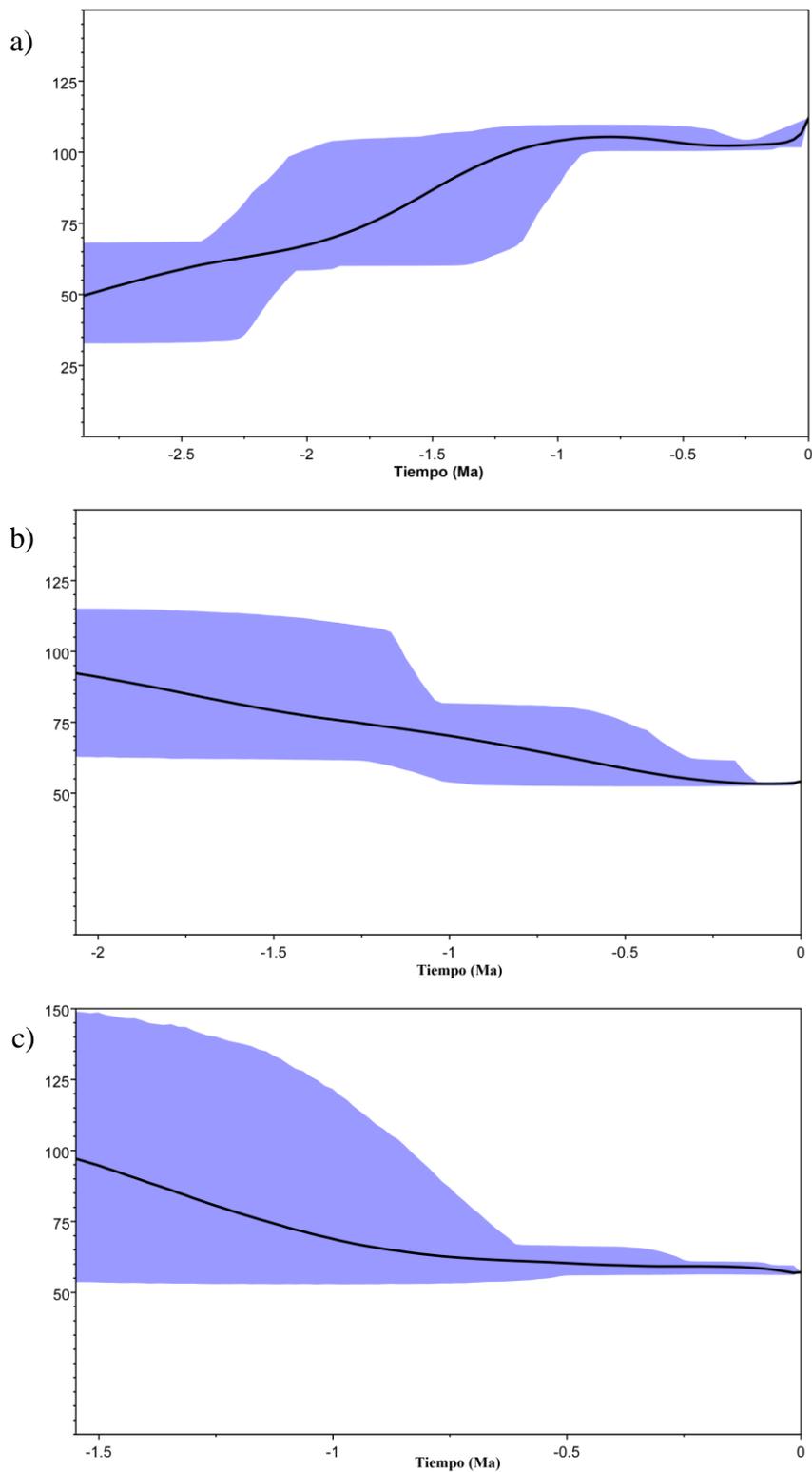
Las distribuciones Mismatch se calcularon únicamente para el gen ND2 debido a que muchas de las secuencias del Citocromo b están incompletas. Los resultados al igual que los parámetros poblacionales, indican que hubo una expansión poblacional para Centroamérica norte (Figura 5a y 6a, Tabla 6). La Sierra Madre Oriental se encuentra en crecimiento poblacional (Figura 5c), sin embargo, el valor de  $R_2$  aunque no es significativo (Tabla 6), sugiere un tamaño constante poblacional, y la gráfica del Skyride plot muestra un declive poblacional (Figura 6b). La Sierra Madre del Sur, muestra una población de tamaño constante (Figura 5b). La misma tendencia se observa en el valor de  $R_2$  (Tabla 5), pero no así en el skyride plot que sugiere un declive poblacional (Figura 6c). Por último, el grupo de Centroamérica sur probablemente está en crecimiento poblacional (Figura 5d), a pesar de que el valor de  $R_2$  muestra una tendencia hacia el tamaño constante poblacional (Tabla 6).

**Tabla 6.** Valores obtenidos de  $R_2$  (Ramos-Onsins y Rozas 2002) para los cuatro grupos de *C. frantzii*. En negritas se muestran los valores de p significativos ( $\alpha=0.05$ ).

Grupo	$R_2$	Implica
CAN	0.054, <b>p=0.003</b>	Crecimiento poblacional
CAS	0.375, p=0.523	Tamaño poblacional constante
SMO	0.1553, p=0.626	Tamaño poblacional constante
SMS	0.161, p=0.609	Tamaño poblacional constante



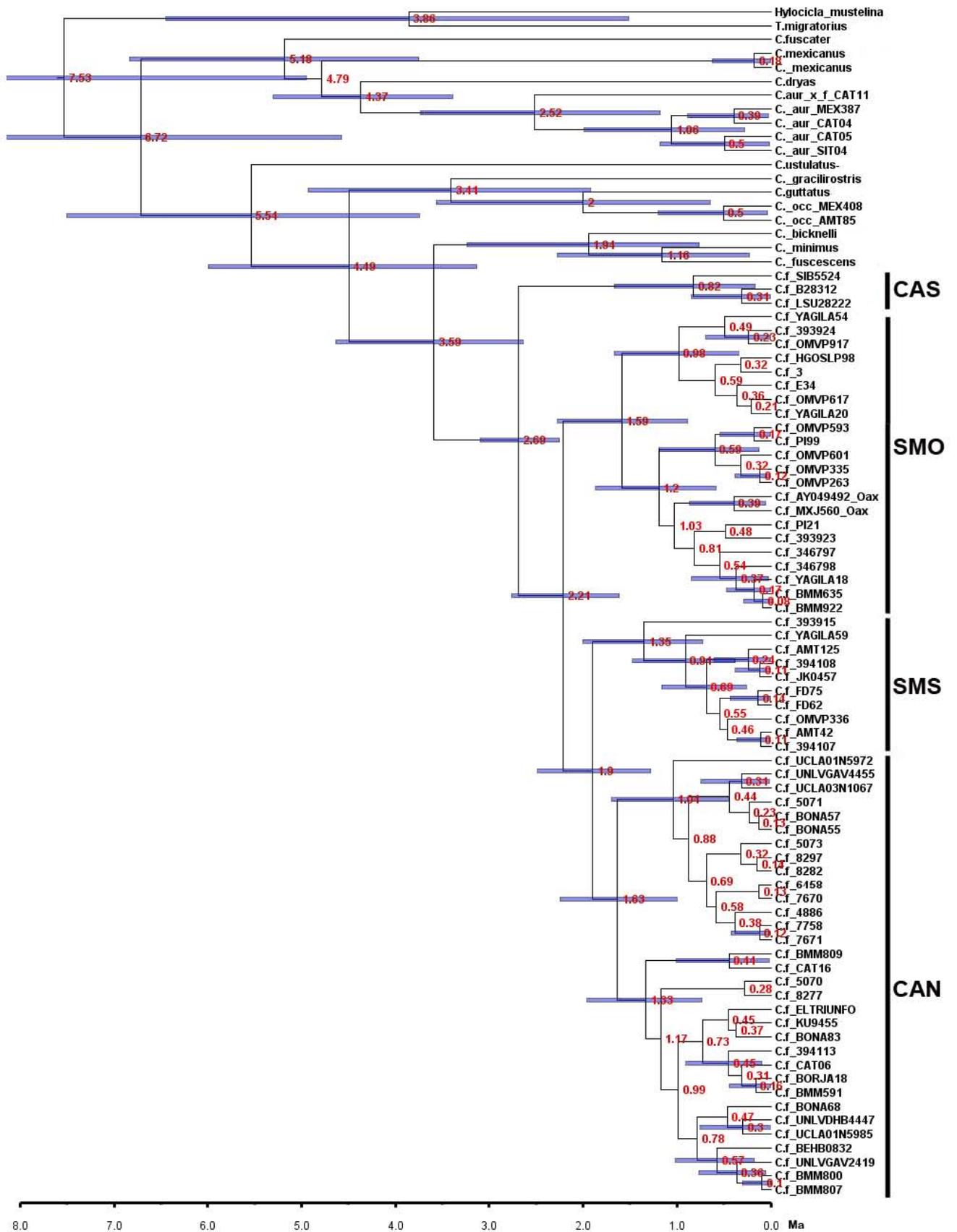
**Figura 5.** Gráficas de las distribuciones mismatch de los grupos de *C. frantzi* para el gen ND2. (a) Centroamérica norte muestra un crecimiento poblacional. (b) La Sierra Madre del Sur mostró una población en equilibrio. (c) la Sierra Madre Oriental presenta un crecimiento poblacional. (d) Centroamérica sur sugiere crecimiento poblacional.



**Figura 6.** Estimaciones de los tamaños históricos poblacionales mediante Skyride plots (Ho y Shapiro 2011). a) Centroamérica norte; b) Sierra Madre Oriental; c) Sierra Madre del Sur. En negro se representa la media del tamaño efectivo poblacional ( $N_e$ ) y en azul se representa el 95% HDP.

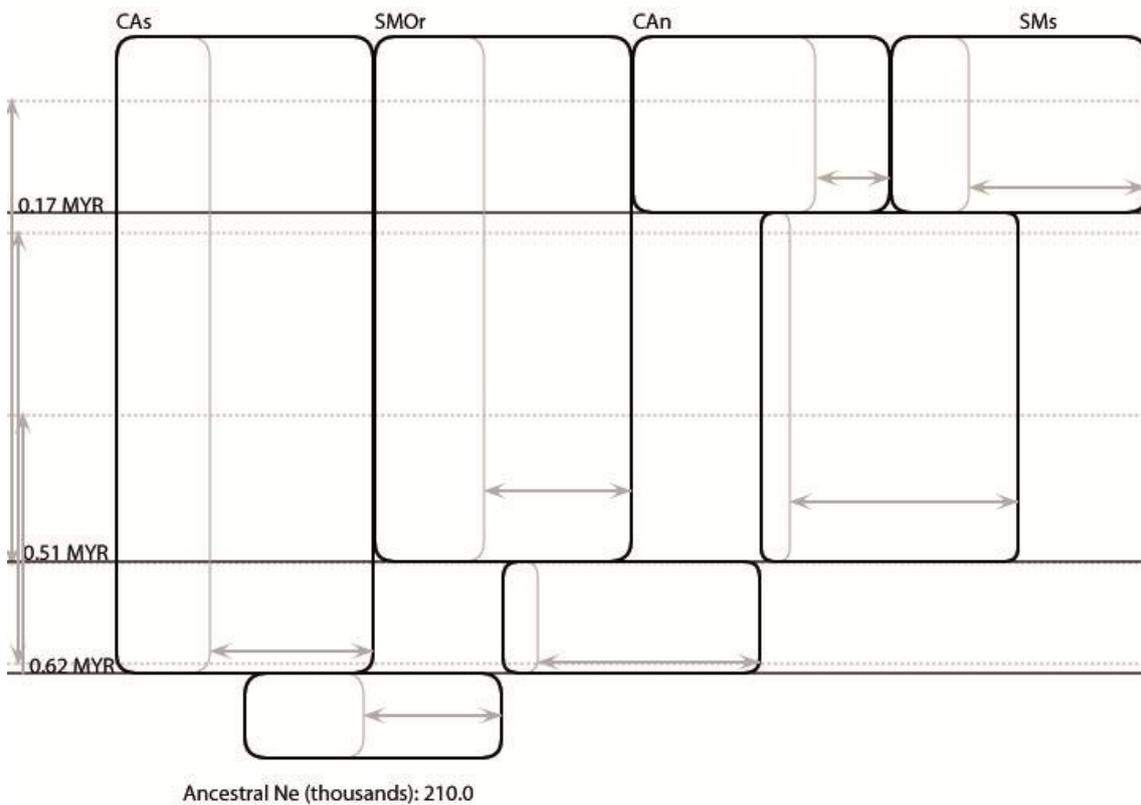
### **Tiempos de divergencia**

Los tiempos estimados con el programa Beast 1.7 (Drummond y Rambaut 2007), indicaron que el grupo de Centroamérica sur fue el primero en divergir, lo cual, ocurrió hace unos 3.1 a 2.2 Ma. Posteriormente, el grupo de la Sierra Madre Oriental lo hizo entre 2.7 y 1.6 Ma atrás y finalmente, el grupo de la Sierra Madre del Sur y el grupo de Centroamérica norte divergieron aproximadamente entre 2.4 y 1.2 Ma en el pasado (Figura 7).



**Figura 7.** Tiempos de divergencia de los grupos de *Catharus frantzii*. Los números rojos representan las edades en Millones de años (Ma). En azul se representa el 95% de la densidad posterior más alta (HDP). CAS: Centroamérica sur; CAN: Centroamérica norte; SMO: Sierra Madre Oriental; SMS: Sierra Madre del Sur.

En el programa IMA2, se obtuvo que la divergencia entre la población de Centroamérica del sur y la población ancestral ocurrió aproximadamente hace 620 000 años (intervalo del 95% de densidad posterior más alta; HDP)=324,988-622,190 años), posteriormente ocurrió otra divergencia hace unos 510 000 años (95%HDP=168,894-598,464 años), entre las poblaciones de la Sierra Madre Oriental y una población ancestral entre Centroamérica norte y la Sierra Madre del Sur y finalmente, la divergencia entre las poblaciones de Centroamérica norte y la Sierra Madre del Sur debió ocurrir alrededor de unos 170 000 años (95%HDP=73,364-532,280 años; Figura 8).



**Figura 8.** Muestra los tiempos de divergencia estimados con Ima2 para el gen ND2 de *C. frantzii*. A la izquierda se observan los tiempos de divergencia en millones de años con la variación de cada estimado (flechas grises del lado izquierdo). El ancho del rectángulo muestra los tamaños poblacionales calculados y en gris se muestra la variación. Los rectángulos de la diagonal inferior muestran las poblaciones ancestrales estimadas.

## **Variación vocal**

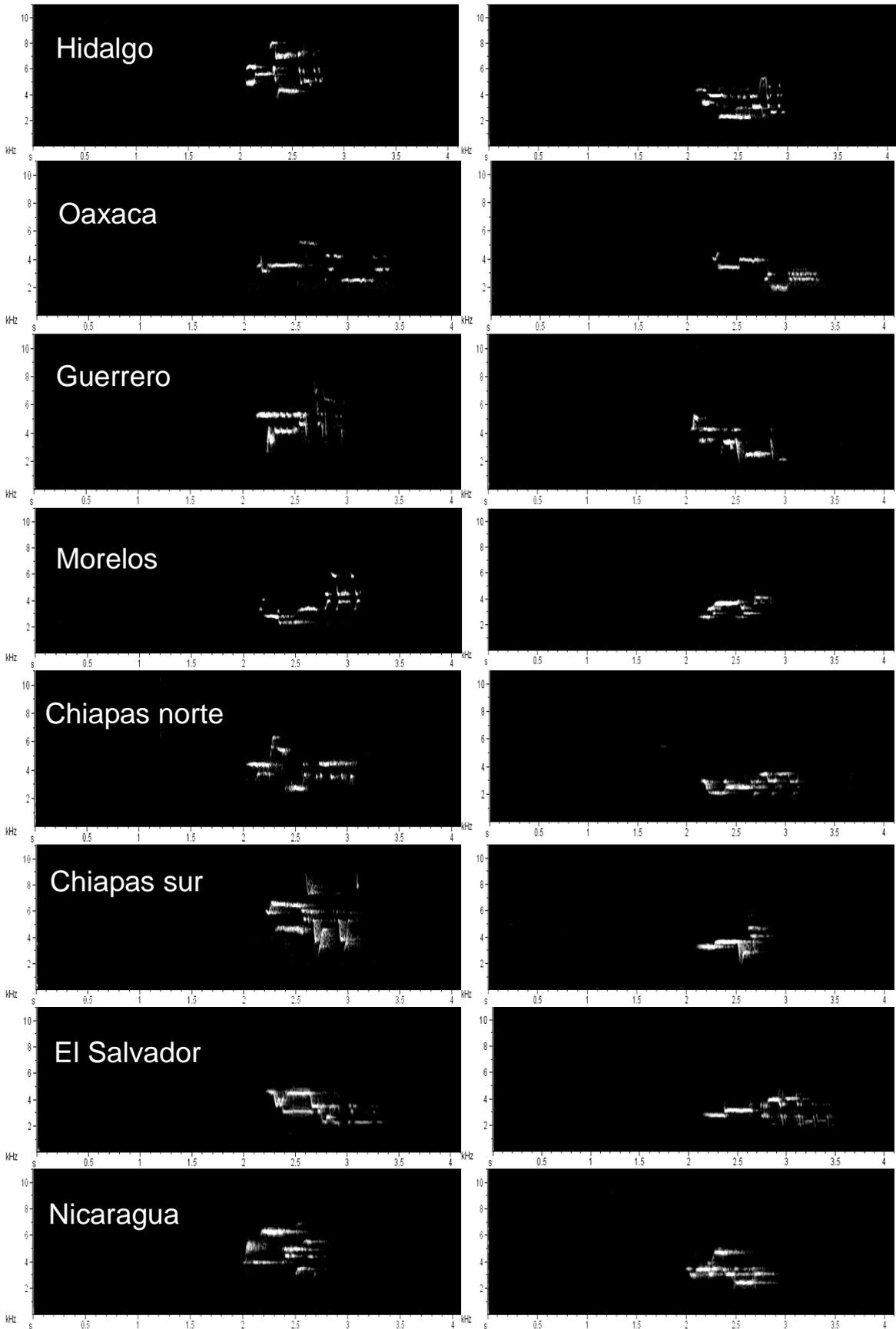
Se obtuvieron un total de 85 grabaciones con cantos de *C. frantzii* de las cuales sólo 45 tuvieron una buena calidad (basada en la relación señal-ruido) para ser analizadas y 38 grabaciones con llamados de las cuales 36 tuvieron buena calidad.

## **Descripción de las vocalizaciones.**

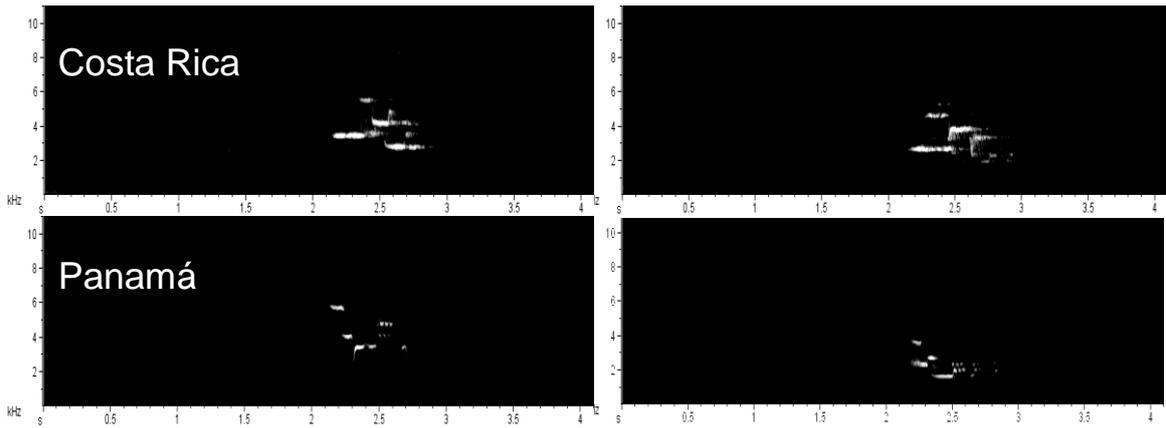
Se obtuvo un repertorio de 664 tipos de cantos. Sin embargo, muchos de ellos fueron exclusivos de algunas poblaciones y ninguno estuvo presente en todas las poblaciones. Se observó una patrón en la emisión de cantos de *C. frantzii* alternando un canto agudo y uno grave, presentando un gran repertorio de cantos de estas categorías.

El tamaño de repertorio de cantos por individuo fue de  $18 \pm 4.1$  tipos de cantos. Sin embargo, algunas de las grabaciones no fueron lo suficientemente largas como para muestrear el tamaño de repertorio de algunos individuos.

El número de notas de los cantos agudos fue de  $9.8 \pm 3.5$  con una duración de  $0.91 \pm 0.15$  segundos y frecuencias que van de los  $2.70 \pm 0.60$  kHz hasta los  $5.85 \pm 1.16$  kHz. Para los cantos graves el número de notas fue de  $9.0 \pm 4.0$ , con duración de  $0.91 \pm 0.21$  segundos y frecuencias entre los  $2.11 \pm 0.39$  kHz y los  $4.43 \pm 0.95$  kHz (Figura 9).

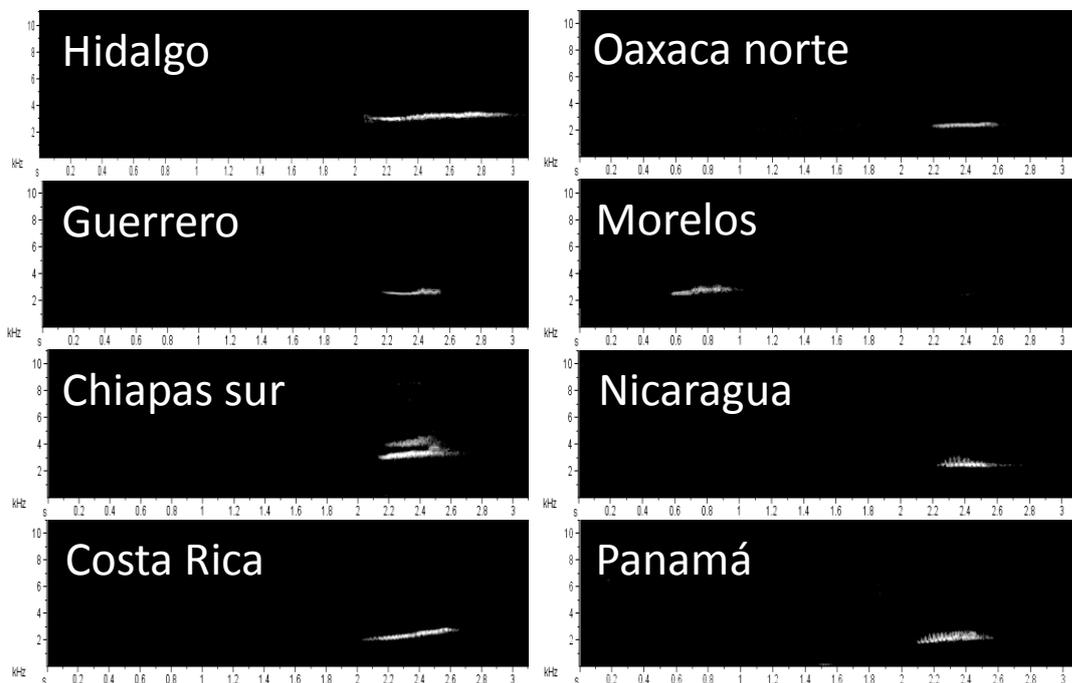


Continúa



**Figura 9.** Espectrogramas de los cantos agudos (izquierda) y graves (derecha) de las poblaciones de *C. frantzii*. De arriba hacia abajo se muestran las poblaciones de norte a sur. No se muestra el total de cantos de la especie debido al amplio repertorio de cada individuo. Los espectrogramas se generaron en el programa Raven Pro 1.4 con tamaño de ventana de 512.

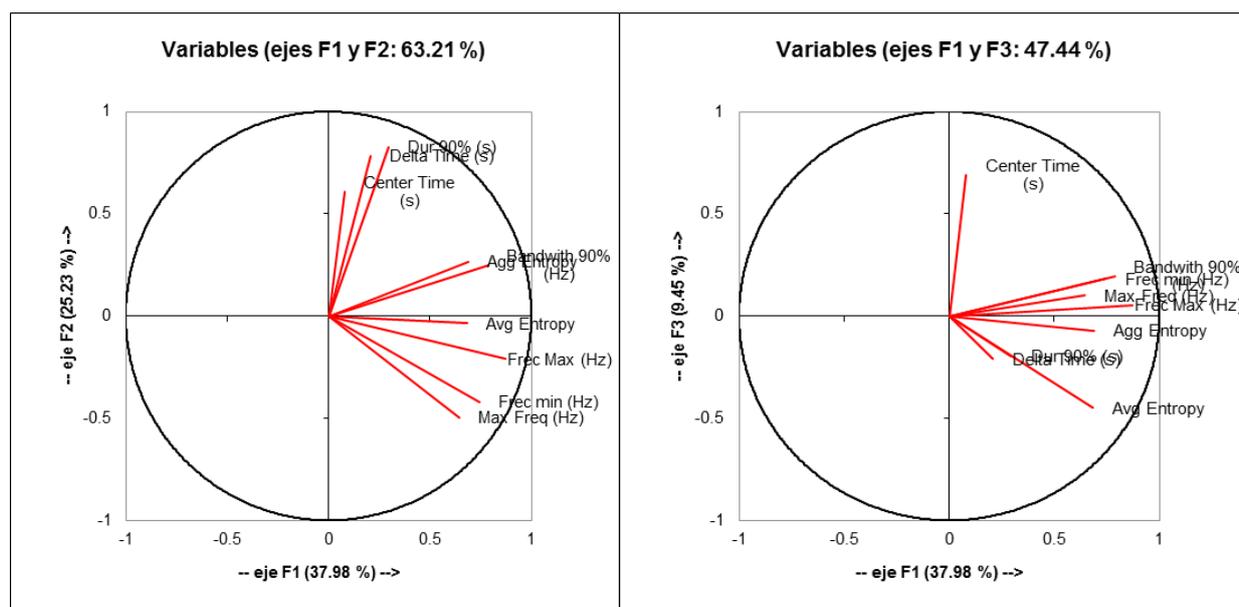
En relación a los llamados, se encontraron un total de ocho tipos. La mayoría son de forma ascendente en frecuencia y tienen una duración de  $0.5 \pm 0.1$  segundos con una frecuencia de  $2.33 \pm 0.41$  kHz a  $3 \pm 0.72$  kHz (Figura 10).



**Figura 10.** Espectrogramas de llamados de ocho poblaciones de *C. frantzii* creados en el programa Raven Pro 1.4 con un tamaño de ventana de 512.

## Análisis de componentes principales de las vocalizaciones

Se observa que las variables que aportan mayor información sobre la variación de los cantos de *C. frantzii* son los que miden la frecuencia y entropía para el vector uno, para el vector dos son los que miden la duración del canto y para el vector tres es el que mide si la energía del canto se enfatiza al principio o al final de la vocalización (Figura 11, Tabla 7).



**Figura 11.** Gráfica de los componentes principales de los cantos de *C. frantzii*. La función uno se ve mayormente representada por las variables de frecuencia. La función dos se ve representada por las variables de duración del canto y enfatización de la energía.

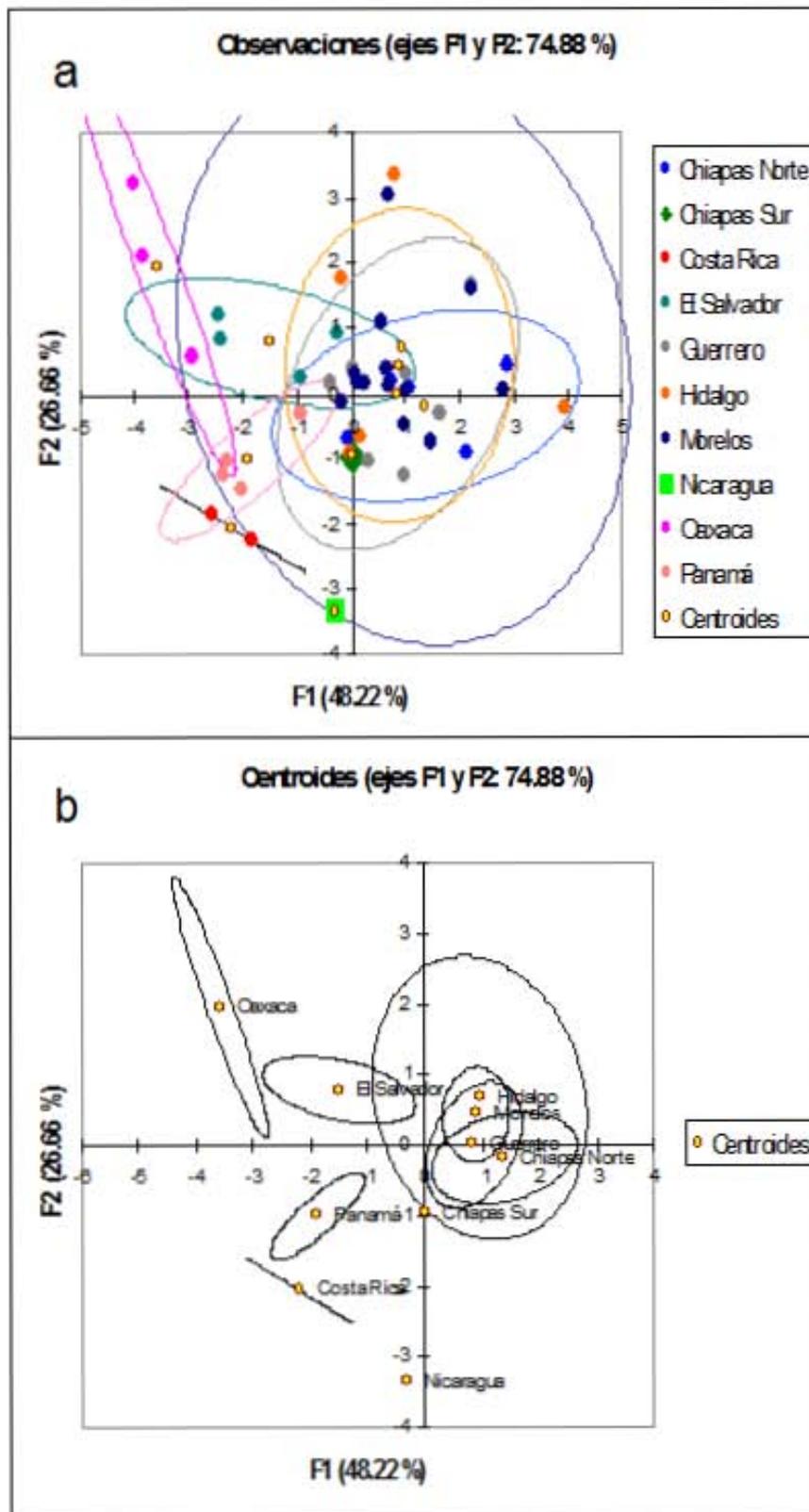
**Tabla 7.** Porcentajes de información que aporta cada variable de los cantos a los vectores del PCA.

	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
<b>Delta Time (s)</b>	1.281	27.093	5.241	18.618	7.711	10.311	5.867	4.256	19.624
<b>Dur 90% (s)</b>	2.588	30.151	4.531	3.161	2.250	24.114	7.953	3.401	21.851
<b>Center Time (s)</b>	0.198	16.235	56.140	1.828	17.399	2.389	5.403	0.371	0.036
<b>Max Freq (Hz)</b>	12.164	10.853	1.191	7.714	18.838	18.753	26.413	0.398	3.675
<b>Agg Entropy</b>	13.803	3.153	0.578	42.730	1.130	0.330	11.202	21.509	5.564
<b>Avg Entropy</b>	13.579	0.059	23.696	0.495	46.585	5.663	3.076	6.183	0.664
<b>Bandwidth 90% (Hz)</b>	18.128	2.734	4.417	13.969	3.984	2.951	18.064	35.635	0.118
<b>Frec min (Hz)</b>	16.135	7.770	3.850	8.864	0.026	35.375	0.016	1.267	26.696
<b>Frec Max (Hz)</b>	22.124	1.950	0.356	2.622	2.078	0.113	22.006	26.980	21.771

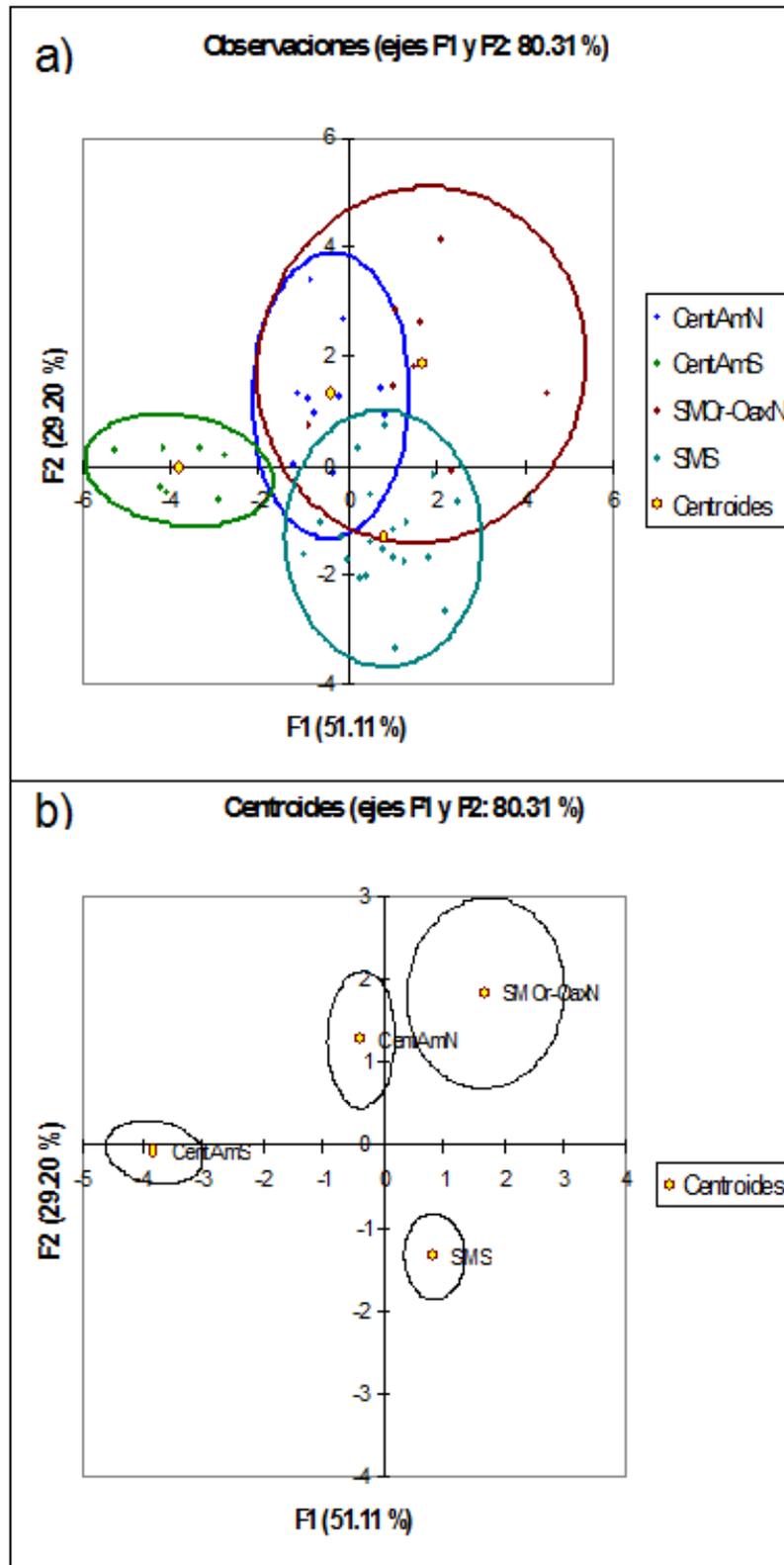
### **Análisis de discriminantes de las vocalizaciones**

En el análisis de discriminantes se observa que las poblaciones de Costa Rica, Panamá y Nicaragua, así como la de Oaxaca se agrupan de manera independiente al resto de las poblaciones de México. La población de El Salvador no se separa claramente de las de México, sin embargo, sí muestra una ligera diferencia (Figura 12). En el DFA por centroides de las poblaciones, las diferencias son más claras. Esto se debe a que representan la medida “verdadera” del grupo con un 95% de confiabilidad, mientras que el DFA de las observaciones muestra a cada una de las observaciones.

También se realizó otro análisis de DFA utilizando los grupos observados en la filogenia y la red de haplotipos y se encontró que el grupo de Centroamérica sur se separa claramente del resto de los grupos. De igual manera el de la Sierra Madre del Sur no se agrupa con el resto de los de México y Centroamérica norte. Estos últimos grupos aun cuando se separan, son los grupos que por sus características vocales son más similares (Figura 13).

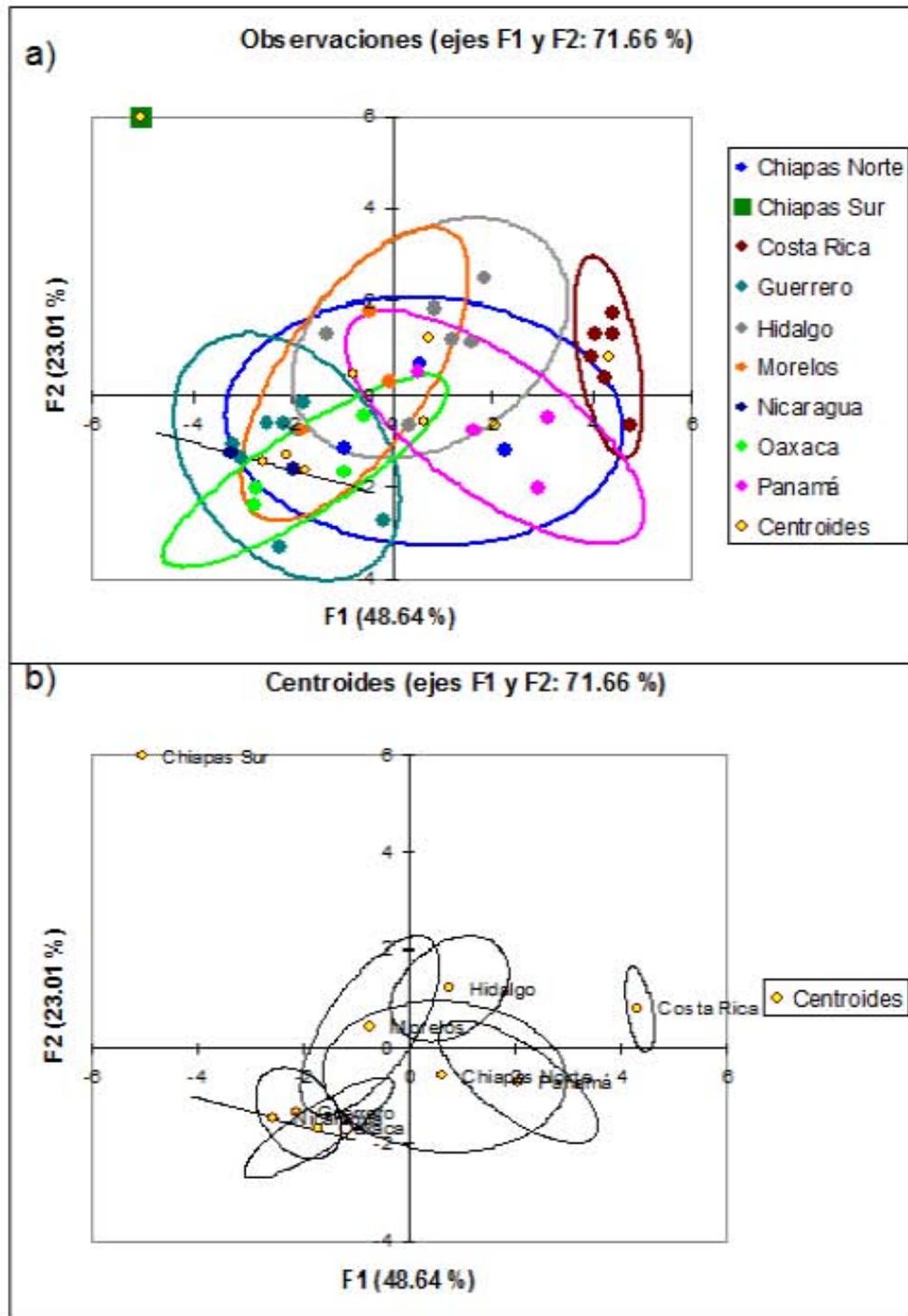


**Figura 12.** Análisis de discriminantes de los cantos de *C. frantzii*. a) Agrupaciones por cada uno de los individuos de *C. frantzii*. b) Agrupaciones de los centroides de las poblaciones de *C. frantzii*.



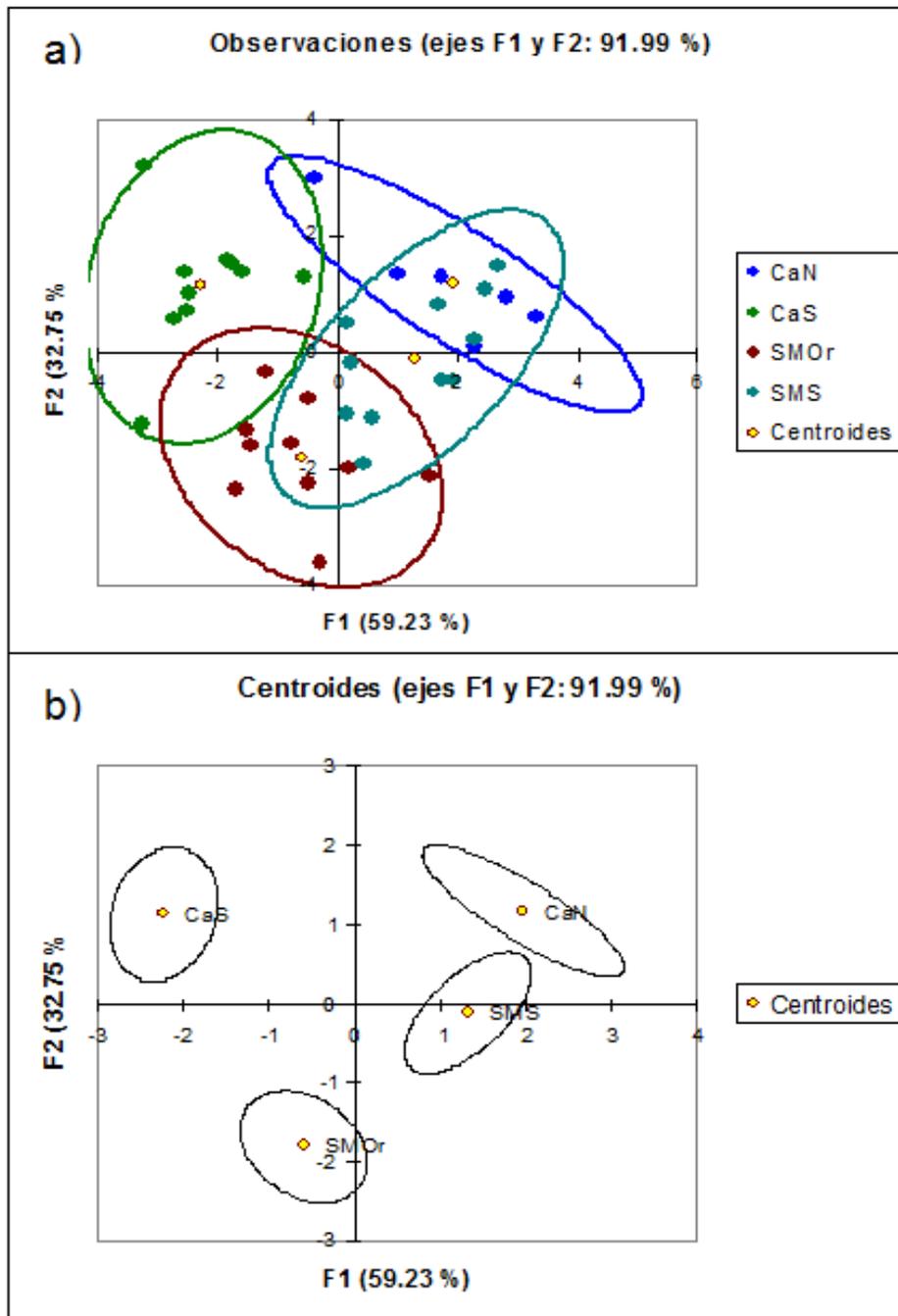
**Figura 13.** Análisis de funciones discriminantes de los cuatro grupos de *C. frantzii*. a) Discriminantes por individuos. b) representación de los centroides de los cuatro grupos de *C. frantzii*.

Para los llamados, el análisis de funciones discriminantes arrojó que la población de Chiapas del Sur se separa de las demás poblaciones, las cuales forman un grupo con ligeras tendencias a dividirse en más grupos, mismas que se hacen más evidentes en el análisis de discriminantes de los centroides, donde la población de Costa Rica también se agrupa por separado (Figura 14).



**Figura 14.** Análisis de discriminantes de los llamados de *C. frantzii* por poblaciones. a) observaciones. b) centroides.

Finalmente, en el análisis de discriminantes por haplogrupos se observó un patrón ligeramente más marcado. Sin embargo, el grupo de la Sierra Madre del Sur se asemeja a los grupos de Centroamérica norte y el de la Sierra Madre Oriental; estos últimos se parecen ligeramente al grupo de Centroamérica sur (Figura 15a). Cuando se observan los centroides las diferencias son mucho más claras y cada uno de los haplogrupos se muestra independiente de los demás (Figura 15b).



**Figura 15.** Análisis de discriminantes de los llamados de *C. frantzii* por haplogrupos. a) observaciones. b) centroides.

### **Análisis de varianza de las vocalizaciones de *C. frantzii***

Los análisis de varianza (ANOVA) y las pruebas post-hoc de Tukey mostraron que los cantos de las poblaciones que forman el grupo de Centroamérica sur, son distintos en duración y entropía promedio con respecto al resto de las poblaciones. Además, los cantos agudos de las poblaciones de Centroamérica sur también difieren del resto de las poblaciones en el número de notas. Por otro lado, las demás poblaciones no presentaron diferencias significativas entre sí (Anexo III, Tabla A).

En los llamados encontramos que los que duran más son los de las poblaciones de Hidalgo y Costa Rica mientras que los más cortos fueron los de Morelos (Anexo IV, Tabla B). Las poblaciones que presentaron los llamados más agudos fueron las de Chiapas sur y los más graves las de Panamá, Costa Rica y Chiapas norte. Por otra parte, la población de Costa Rica fue la que tuvo mayor entropía agregada (Anexo IV).

Al analizar los llamados por haplogrupos, el grupo de Centroamérica Sur fue significativamente distinto a los otros tres grupos en todo menos en tiempo central, frecuencia alta, intervalo de frecuencia, frecuencia máxima y entropía promedio, mismas en las que no se encontró ninguna diferencia significativa entre ningún grupo (Anexo V, Tabla C).

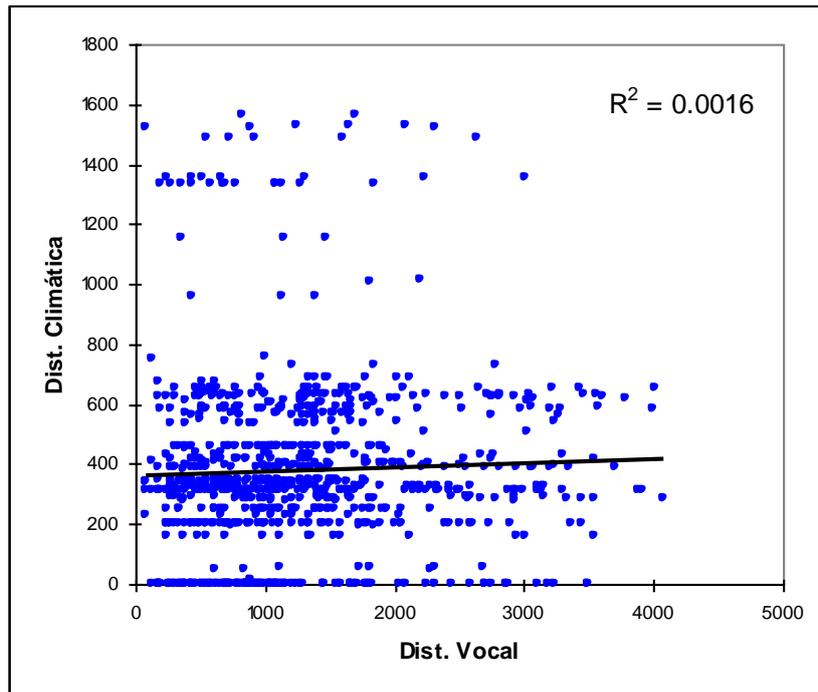
### **Relación de la variación vocal, genética, ambiental y distancia geográfica.**

#### **Efecto del ambiente sobre los cantos**

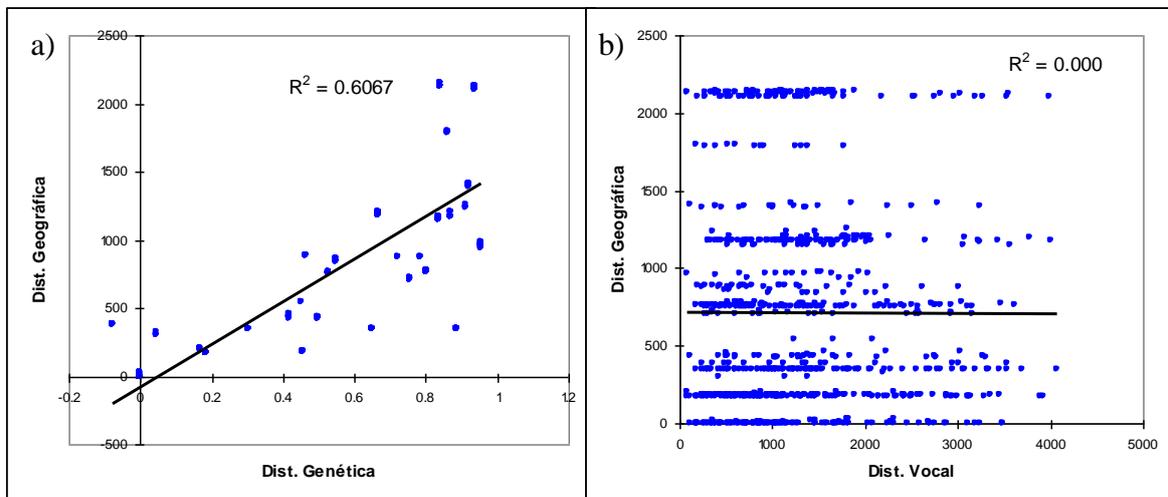
Los datos no mostraron una relación significativa entre el clima y los cantos, lo que sugiere que probablemente la selección natural no está modelando las diferencias encontradas en los cantos de *C. frantzii* (Figura 16).

#### **Efecto de la distancia geográfica**

El resultado mostró que las poblaciones son genéticamente más diferentes mientras más lejanas están. Sin embargo, las diferencias en los cantos no se pueden atribuir a la distancia geográfica que existe entre las poblaciones (Figura 17).

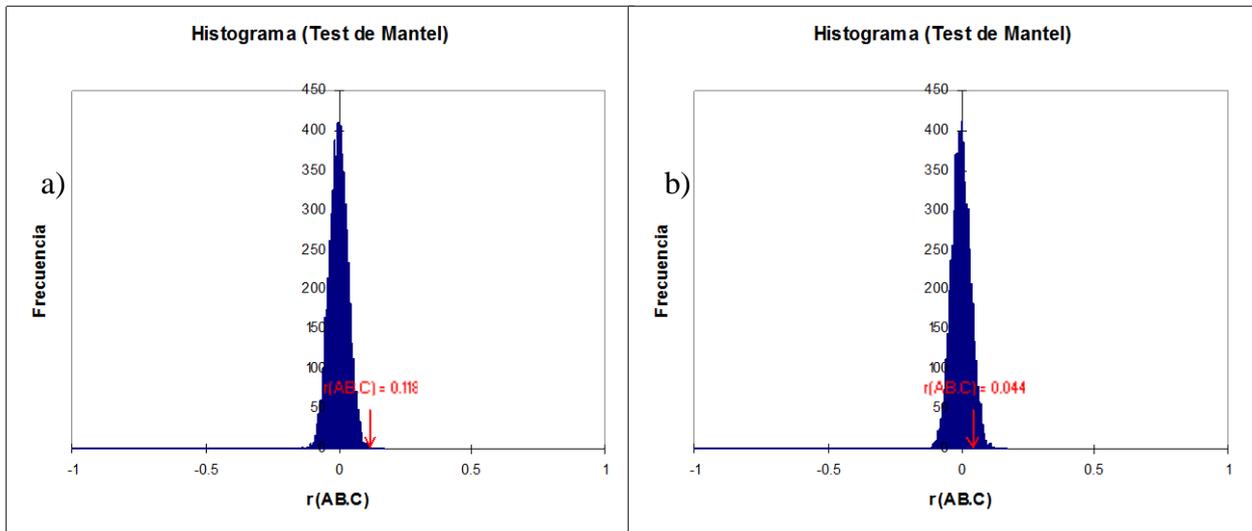


**Figura 16.** Test de Mantel entre la distancia vocal y la distancia climática. Muestra que no hay una relación entre las diferencias de los cantos y los diferentes ambientes donde habita *C. frantzii* ( $r=0.039$ ,  $p=0.240$ ).



**Figura 17.** a) La relación entre la distancia genética y la distancia geográfica de las poblaciones de *C. frantzii* es significativa (Prueba de Mantel  $r=0.779$ ,  $p<0.0001$ ). b) La relación entre la distancia vocal y geográfica no fue significativa (Prueba de Mantel  $r=0.000$ ,  $p=0.991$ ).

Para la prueba parcial de Mantel entre la distancia vocal, genética y geográfica se obtuvo que hay una correlación significativa, mientras que para la prueba entre la distancia vocal, climática y geográfica no hubo relación (Figura 18).



**Figura 18.** Pruebas de Mantel parciales para a) la correlación entre la diferencia genética, vocal y geográfica que fue positiva ( $r=0.118$ ,  $p=0.001$ ) y b) la diferencia vocal, climática y geográfica en la cual, no hubo una relación significativa ( $r=0.044$ ,  $p=0.208$ ). Ambas pruebas se realizaron con 10000 permutaciones.

## DISCUSIÓN

### Patrón filogeográfico

El árbol filogenético de *C. frantzii* mostró concordancia entre los clados obtenidos y las regiones donde ocurren los ejemplares examinados. Este mismo patrón se ha observado en otras especies de aves como en *Lepidocolaptes affinis* (Arbeláez-Cortés *et al.* 2010) y *Aulacorhynchus prasinus* (Puebla-Olivares *et al.* 2008) donde los grupos que habitan en Costa Rica y Panamá están ampliamente diferenciados genéticamente del resto de México y norte de Centroamérica. Los grupos de *C. frantzii* de Centroamérica norte y el oeste del Istmo de Tehuantepec, también se observan en *A. prasinus* y *L. affinis* (Puebla-Olivares 2008, Arbeláez-Cortés *et al.* 2010). Estos grupos se encuentran separados por la depresión de Nicaragua y el Istmo de Tehuantepec, los cuales han sido propuestos como barreras geográficas para otras especies de aves como *Chlorospingus ophthalmicus* (Bonaccorso *et al.* 2008), *Buarremon brunneinucha* (Navarro-Sigüenza *et al.* 2008) y colibríes del género *Lampornis* (García-Moreno *et al.* 2006). Además, es probable que las poblaciones de *C. frantzii* hayan permanecido aisladas por mucho tiempo debido a los cambios climáticos que ocurrieron durante las glaciaciones del pleistoceno y que a su vez, se haya favorecido la variación genética entre las mismas (Hewitt 1996, Avise y Walker 1998 Ornelas *et al.* 2013). En aves de montañas de Mesoamérica se ha observado que existe una gran riqueza de endemismos y se cree que varios de ellos se deben a procesos de especiación *in situ*, en especial, para aves que habitan en las montañas de Costa Rica y Panamá (Hernández-Baños *et al.* 1995).

En el grupo de la Sierra Madre Oriental, se observa que las poblaciones de la Sierra norte de Oaxaca se agrupan con las de la Sierra Madre Oriental. Esto se opone a lo encontrado en trabajos previos como el de García-Moreno *et al.* (2004) con *C. ophthalmicus* en el cual, las poblaciones de Hidalgo y el norte de Oaxaca se separan claramente. De igual manera, el estudio de León-Paniagua y Morrone (2009) realizado con diferentes grupos taxonómicos, indica que incluso la Sierra norte de Oaxaca no constituye una unidad natural, estando la Sierra de Juárez más relacionada con la Sierra Madre del Sur. Por el contrario, en trabajos con aves, Arbeláez-Cortés (2010) con *L. affinis* y Puebla-Olivares *et al.* (2008) con *A. prasinus* también encontraron que las poblaciones de Hidalgo y Oaxaca forman parte del mismo clado. Esto sugiere que las distintas especies se han visto afectadas de diferente manera por los procesos históricos que modelaron su distribución actual y que probablemente para *A. prasinus*, *L. affinis* y *C. frantzii* el proceso que está operando podría ser similar o incluso el mismo. Sin

embargo, algunas de las zonas que se han propuesto como barreras geográficas para algunas especies, por ejemplo el Istmo de Tehuantepec o la depresión de Nicaragua, pueden coincidir geográficamente pero no temporalmente con las diversificaciones de algunos organismos (Burbrink y Castoe 2009, Ornelas *et al.* 2013).

Finalmente, la Sierra Madre del Sur es un área en la que se presentan varios taxones diferenciados además de *C. frantzii*, por ejemplo, *C. ophthalmicus* (García-Moreno *et al.* 2004, Bonaccorso *et al.* 2008) y *A. prasinus* (Puebla-Olivares *et al.* 2008), por lo que los resultados en este trabajo concuerdan con lo encontrado en trabajos previos con diferentes especies.

### **Red de haplotipos**

El grupo de Centroamérica sur fue el que presentó la mayor cantidad de pasos mutacionales. Esto apoya lo observado en el cladograma en donde se muestra como el grupo basal. Es probable que esto se deba a un largo tiempo de aislamiento de la población que permitió que se generaran mutaciones particulares. Este patrón se ha observado en gran cantidad de especies (Hernández-Baños 1995, Puebla-Olivares *et al.* 2008, Arbeláez-Cortés *et al.* 2010) y se ha mostrado que los tiempos de aislamiento de las poblaciones han contribuido a los procesos de especiación de varias especies de aves (Avice y Walker 1998), en especial para aves de zonas montañosas de Costa Rica y Panamá (Hernández-Baños 1995). Por otra parte, el grupo de Centroamérica norte fue el que tuvo una mayor cantidad de haplotipos, lo cual, probablemente se debe al crecimiento poblacional que, de acuerdo con los resultados en este trabajo, presenta dicho grupo. También podría deberse a que es el grupo del que se tuvieron mayor cantidad de muestras. El resto de los grupos no presentó dicho patrón, probablemente porque sus poblaciones aparentemente se encuentran en declive o en equilibrio poblacional.

Dentro del grupo de la Sierra Madre del Sur, se observó que las muestras de Jalisco presentaron varios pasos mutacionales con respecto a las áreas del resto del grupo. Un patrón similar ocurre en *Sittasomus griseicapillus* (López-López 2012), en el cual, las poblaciones de Jalisco son diferentes a las del resto de la Sierra Madre del Sur. Esto indica que los individuos de dicha zona podrían tener un flujo genético limitado, lo que está generando diferencias entre ambas áreas, sin embargo, el tiempo no ha sido suficiente como para que haya estructura poblacional.

## Estructura génica

De acuerdo a los índices de fijación ( $F_{st}$ ) y migración ( $Nm$ ) obtenidos, la población de Centroamérica sur está bien diferenciada del resto de las poblaciones. Trabajos anteriores han encontrado valores de  $F_{st}$  muy similares a los obtenidos aquí (Puebla-Olivares *et al.* 2008 y Arbeláez-Cortés *et al.* 2010). Esto sugiere que las poblaciones de Panamá y Costa Rica han permanecido aisladas durante un tiempo considerable, y que el flujo génico con las demás poblaciones es muy restringido. Lo anterior seguramente se debe a la zona de tierras bajas de la depresión de Nicaragua que ha actuado como barrera geográfica para la avifauna de áreas montañas (Bonaccorso *et al.* 2008, Sánchez-González *et al.* 2008, Ornelas *et al.* 2013). Por el contrario, la población de Centroamérica norte que se ubica entre la depresión de Nicaragua y el Istmo de Tehuantepec también presenta un índice de fijación alto (Tabla 5) pero una tasa de migración ligeramente más alta que la de Centroamérica sur con respecto a las demás poblaciones (Tabla 5). De igual modo ocurre con la Sierra Madre del Sur y la Sierra Madre Oriental, siendo estas dos últimas las que presentaron la tasa de migración más alta y el índice de fijación más bajo entre ellas (Tabla 5). Sin embargo, el grupo de Centroamérica norte y la Sierra Madre del Sur tiene casi el mismo índice de fijación. Esto sugiere que la barrera geográfica entre la Sierra Madre Del Sur y la Sierra Madre Oriental no impide el intercambio de individuos tan drásticamente como lo hace el Istmo de Tehuantepec o la depresión de Nicaragua.

Los datos sugieren que el grupo de Centroamérica norte se encuentra en expansión poblacional y es fuertemente apoyado por los resultados de la prueba de  $R_2$  y el Skyride plot, en el cual, se nota muy bien el crecimiento poblacional (Figura 6, Tabla 5 y 6). Por el contrario, para el resto de los grupos algunas de las pruebas son contradictorias o se observan tendencias sin ser significativas, tal es el caso de la Sierra Madre del Sur donde se observa que la población está en equilibrio (Figura 5, Tabla 5 y 6), lo cual, se opone al declive poblacional observado en el skyride plot. El grupo de Centroamérica sur aparentemente se encuentra en crecimiento poblacional, sin embargo, el tamaño de muestra no permite afirmar dicha tendencia. Finalmente, la Sierra Madre Oriental presenta crecimiento poblacional (Figura 5), aunque muestra una tendencia a tamaño poblacional constante a pesar de que la prueba no es significativa, además, presenta un declive poblacional en la gráfica del skyride plot (Figura 6). Muchas de estas pruebas demográficas requieren de tamaños de muestra mayores a los obtenidos en

este trabajo, además, las estimaciones se realizaron únicamente con un locus, lo cual, seguramente está afectando los resultados (Burbrink y Castoe 2009, Hamilton 2009).

### **Tiempos de divergencia**

Las edades estimadas de los grupos con el programa Beast 1.7 (Drummond y Rambaut 2007) fueron mayores a las calculadas con el programa IMA2 (Hey y Nielsen 2007), esto seguramente se debe a la forma en que calculan las edades. Por ejemplo, a diferencia de Beast, IMA2 sí considera la migración entre poblaciones (Hey y Nielsen 2007). Por otro lado, cuando se analizan divergencias mayores a 2 Ma, la tasa de mutación del 2% por millón de años es bastante efectiva, sin embargo, cuando se estudian nodos menores pierde precisión (Ho *et al.* 2005). Quizás, el tamaño de la muestra también está afectando los cálculos, ya que IMA2 realiza los cálculos considerando las poblaciones. En ese sentido, el resultado de Beast se vuelve más robusto porque estima la edad del nodo teniendo como base el árbol filogenético y la tasa de mutación genética. Además, se utilizó una calibración secundaria basada en los resultados de Outlaw *et al.* (2003).

Los datos en este trabajo sugieren que las diferencias genéticas encontradas en *C. frantzii* se deben en gran medida a periodos de aislamiento de sus poblaciones. Las edades calculadas para los cuatro grupos mostraron coherencia con los tiempos estimados por Avise y Walker (1998) y Barber y Klicka (2010) para diferentes grupos de aves. Estos tiempos también muestran una gran concordancia con las glaciaciones de finales del Plioceno y principios del Pleistoceno (Kvasov 1978, Anderson *et al.* 2007), que generaron contracciones y expansiones en las distribuciones de los organismos en respuesta a los cambios en el clima y el tipo de vegetación (Ceballos *et al.* 2010) Por lo tanto, es muy probable que estos eventos sean responsables del proceso de especiación en este taxón. Existen limitaciones al realizar estimaciones de los tiempos de divergencia con un sólo locus (ver Arbogast *et al.* 2002), sin embargo, los tiempos son semejantes a los obtenidos en estudios previos con más marcadores en donde se observó que dichos cambios climáticos fueron de gran importancia para la especiación de las aves (Avise y Walker 1998, Barber y Klicka 2010).

### **Variación vocal de *C. frantzii***

*C. frantzii* presentó un amplio repertorio de cantos que casi no se repiten, esto se ha observado en otras especies de la familia Turdidae. Por ejemplo, en *Hylocichla mustelina*, el género hermano de *Catharus*, se ha observado que cuando escuchan cantos de otros individuos de su misma especie responden emitiendo cantos lo más diferentes posible al anterior (Whitney y Miller 1983). Una forma de explicar este fenómeno es por selección sexual. Se piensa que la hembra puede evaluar la calidad de los machos con base en las características del canto (Nowicki *et al.* 2002) como el tamaño de repertorio y las variaciones del mismo (Catchpole y Slater 2008). En *C. frantzii* el patrón de cantos es muy similar al descrito para *C. guttatus* por Rivers y Kroodsma (2000) y Kroodsma (2005). Sin embargo, el repertorio de *C. frantzii* fue mayor. Además, la cantidad de cantos que comparten entre individuos fue baja al igual que en *H. mustelina* (Whitney y Miller 1983). Esto apoya la idea de que la selección sexual y el aprendizaje son los responsables de la variación en los cantos de *C. frantzii* más que las diferencias genéticas.

Por otro lado, los cantos *C. frantzii* de las poblaciones de Panamá que habitan en simpatria con *C. gracilirostris* son muy similares entre sí (Ridgely y Gwynne 1989). Estas semejanzas pueden deberse a un intercambio de notas y frases entre ambas especies durante el periodo de aprendizaje y a su vez, esto podría explicar la diferencia que existe entre los cantos de las poblaciones de Panamá y Costa Rica con respecto al resto de las poblaciones de *C. frantzii*. Otro factor a considerar es el tipo de vegetación, puesto que podría estar favoreciendo ciertas frecuencias y tipos de notas en sus cantos (Slabbekoorn y Smith 2002b). A pesar de que la vegetación no parece estar afectando en gran medida a los cantos de *C. frantzii* de acuerdo con los resultados en este trabajo, no puede descartarse por completo esta idea. Además, deben existir diferencias en el canto suficientes para mantener el reconocimiento entre individuos de diferentes especies (Price 2008).

Se sabe que los cantos evolucionan genética y culturalmente (Price 2008). En *C. frantzii* el grupo de Centroamérica sur fue el de mayor diferencia genética y vocal por lo que tampoco se puede atribuir la diferencia vocal completamente al aprendizaje. De acuerdo a los datos en este trabajo, las poblaciones de esta especie han permanecido aisladas por miles de años, permitiendo que se generen diferencias genéticas y vocales.

Vocalmente, las poblaciones de Hidalgo y norte de Oaxaca pueden identificarse mediante sus cantos (figura 10). Sin embargo, las diferencias entre sus cantos no son

significativas y genéticamente forman parte del mismo clado. Este patrón es similar al encontrado en *C. ophthalmicus* (Sosa-López *et al.* 2013) donde las poblaciones de la Sierra Madre Oriental-norte de Oaxaca presentan cantos muy similares y genéticamente forman parte del mismo clado (García-Moreno *et al.* 2004). Por otro lado, el flujo de individuos entre estas poblaciones podría estar retrasando la divergencia genética. A pesar de que en coloración es posible observar diferencias (Phillips 1991), vocalmente la diferencia no es significativa. En ocasiones los caracteres vocales pueden evolucionar bastante rápido (Payne 1986, Tubaro 1999), sin que ello implique diferencias genéticas considerables (Price 2008). Quizás, este sea el caso de estas poblaciones de *C. frantzii*, las cuales, no han permanecido aisladas el tiempo suficiente como para que dichas diferencias se reflejen genéticamente.

El grupo de la Sierra Madre del Sur comprende las poblaciones de Guerrero y Morelos. Vocalmente muestran una gran diferencia con el resto de las poblaciones, lo cual es similar a lo reportado para *C. ophthalmicus* (Sosa-López *et al.* 2013.), en donde las poblaciones de la Sierra Madre del Sur difieren claramente en sus vocalizaciones con respecto al resto de las poblaciones.

Por último, el grupo de Centroamérica norte presentó cantos más parecidos a los de la Sierra Madre del Sur que a los de Centroamérica sur. Al parecer *C. frantzii* ha tenido mayor flujo genético con las poblaciones del oeste del Istmo de Tehuantepec que con las de Panamá y Costa Rica (Tabla 5). Una posible explicación es que el intercambio de individuos puede estar diluyendo o quizás pudo haber retrasado la diferenciación vocal, a diferencia de Centroamérica sur donde el aislamiento pudo haber acelerado el proceso de especiación (Price 2008).

En los llamados, también se observa que cada grupo es diferente; la mayor diferencia se presenta en Centroamérica sur. Quizás, el aislamiento de la población (Price 2008) o las interacciones con otras especies y depredadores ha modelado tal diferencia (Marler 2004), o incluso es posible que sea una adaptación acústica al hábitat (Slabbekoorn y Smith 2002b).

### **Relación de los cantos y el ambiente**

El hábitat y el ambiente pueden favorecer características espectro-temporales de los cantos y provocar similitudes acústicas entre poblaciones e incluso entre especies que viven en un mismo hábitat y también generar divergencias en poblaciones con diferentes hábitats (Slabbekoorn y Smith 2002a, Slabbekoorn y Smith 2002b). Sin

embargo, los datos en este trabajo sugieren que las diferencias en las vocalizaciones de *C. frantzii* probablemente no se deben a las diferencias de los ambientes donde habitan las poblaciones. En *Henicorina leucophris* (Dingle *et al.* 2008) y en *Andropadus virens* (Slabbekoorn y Smith 2002b), se ha observado que si hay relación entre el hábitat y los cantos. Por otro lado, nuestros análisis sugieren que ni el aislamiento geográfico ni la diferencia genética están modelando la diferencia vocal de *C. frantzii*, esto sugiere que las diferencias podrían deberse a la selección sexual o a la deriva cultural, mismas que están envueltas en la divergencia vocal de poblaciones con condiciones ambientales similares, permitiendo que se fijen características del canto que estimulen favorablemente al receptor (Podos y Warren 2007, Price 2008). Además, el gran repertorio de cantos que presenta también sugiere que la selección sexual en esta especie es considerable (Howard 1974, Whitney y Miller 1983, Podos y Warren 2007, Catchpole y Slater 2008).

Aunado a lo anterior, la deriva cultural permite que los cantos de las aves sean diferentes aun cuando genéticamente sean muy similares (Grant y Grant 1996), debido a errores o innovaciones que presentan los linajes y periodos considerables de aislamiento de las poblaciones descendientes, generando variación geográfica vocal (Podos y Warren 2007).

### **Efecto de la distancia geográfica**

Los cantos de *C. frantzii* presentaron una variación que, de acuerdo a los datos presentados en este trabajo, no se puede atribuir únicamente a la distancia geográfica entre sus poblaciones, contrario a las diferencias genéticas, donde sí hay una relación con el aislamiento geográfico (Figura 17). En las vocalizaciones de *C. frantzii*, ni la diferencia genética ni el tipo de hábitat o la distancia geográfica parecen estar modelando sus cantos. Esto sugiere que la selección sexual podría estar generando tal variación. Aunado a ello, el bajo número de cantos que comparten los individuos y el amplio repertorio de cantos, pueden estar relacionados con la selección sexual (Whitney y Miller 1983), de modo que mientras mayor sea la selección sexual sobre los cantos, mayor será el tamaño de repertorio de cantos de los machos (Howard 1974). Por ejemplo, en especies con fuerte selección sexual sobre los cantos existe una asociación negativa entre lo colorido de sus plumajes y la complejidad de sus cantos (Price 2008). En general la coloración de *C. frantzii* consta de café oscuro en el dorso y gris en el pecho y vientre, siendo poco llamativos y difíciles de ver entre la vegetación. Sin

embargo, sus cantos son bastante elaborados, lo que sugiere que la selección natural está actuando sobre la coloración mientras que la selección sexual actúa sobre sus cantos. Este mismo patrón se observa en *Myadestes occidentalis*, cuyo plumaje es poco llamativo pero sus cantos son muy complejos (Ortiz-Ramírez 2010) o en la familia Mimidae en *Mimus polyglottos* (Howard 1974) o en miembros de la familia Troglodytidae como *Campylorhynchus rufinucha* (Sosa-López *et al.* 2013) y *Troglodytes aedon* (Sosa-López en prep.).

## CONCLUSIONES

Dentro de las relaciones evolutivas se observan cuatro linajes que corresponden a Centroamérica sur (Costa Rica y Panamá), Centroamérica norte (Chiapas, Guatemala y El Salvador), Sierra Madre del Sur (Guerrero, Jalisco, Morelos y sur de Oaxaca) y Sierra Madre Oriental (Hidalgo, San Luis Potosí y norte de Oaxaca). Estos grupos presentaron diversidades genéticas y haplotípicas considerables. Además, están genéticamente bien diferenciados. También, se notaron aparentes declives poblacionales a excepción del grupo de Centroamérica norte que se encuentra en crecimiento poblacional.

Los linajes divergieron hace unos 3.1-2.2 Ma para el de Centroamérica sur, entre 2.7-1.6 Ma para Sierra Madre Oriental y 2.4-1.2 Ma para la Sierra Madre del Sur y Centroamérica norte. Es probable que los cambios climáticos que ocurrieron durante las glaciaciones de finales del Plioceno y principios del pleistoceno hayan propiciado la divergencia genética y vocal de esta especie al aislarla durante lapsos de tiempo considerables.

Los cantos mostraron estos mismos cuatro grupos, sin embargo las diferencias encontradas no se explican por la distancia geográfica o la genética, o al menos no significativamente, tampoco por adaptación acústica al ambiente, lo cual, sugiere que la selección sexual y la deriva cultural son las que modelan la variación del canto en *C. frantzii*.

### **Concordancia genética y vocal**

La variación genética observada en las poblaciones de *C. frantzii* mostró una amplia relación con la distancia geográfica. Además, mostró una gran coherencia histórica con los cambios climáticos del pleistoceno y las barreras geográficas. Sin embargo, la variación vocal parece deberse al aprendizaje o a selección sexual (Price 2008). A pesar de ello, las poblaciones de *C. frantzii* presentaron diferencias genéticas y vocales que mostraron concordancia entre sí y con el área geográfica a la que pertenecen, sobre todo para la población de Centroamérica sur. Independientemente de que la diferencia vocal no resultó estar estrechamente ligada a la diferencia genética, sí fue posible observar los mismos cuatro grupos tanto genética como vocalmente.

## LITERATURA CITADA

- Adobe Systems Incorporated. 2007. Adobe Audition version 3.0. Adobe Systems Incorporated. Estados Unidos de América.
- Alström, P., 2001. The use of sounds in bird systematics. Introductory Research Essay No. 2. Department of Systematic Zoology, Evolutionary Biology Centre, Uppsala University. (<http://www.ebc.uu.se/systzoo/staff/alstrom.html>).
- Agapow, P. M., O. R. P. Bininda-Emonds, K. A. Crandall, J. I. Gittleman, G. M. Mace, J. C. Marshall y A. Purvis. 2004. The impact of species concept on biodiversity studies. *The Quarterly Review of Biology* 79(2):161-179.
- Akey, J. M., M. A. Eberle, M. J. Rieder, C. S. Carlson, M. D. Shriver, D. A. Nickerson, y L. Kruglyak. 2004. Population history and natural selection shape patterns of genetic variation in 132 genes. *PLoS Biology*, 2, e286.
- American Ornithologists' Union (AOU). 1998. check-list of North American Birds. 7<sup>th</sup> edition. American Ornithologists' Union, Washington, D.C.
- Anderson D. E., A. S. Goudie y A. G. Parker. 2007. Global environments through the Quaternary. Oxford University Press, Inc. Nueva York, EUA. pp. 359
- Arbeláez-Cortés, E., A. G. Navarro-Sigüenza y J. García-Moreno. 2012. Phylogeny of woodcreepers of the genus *Lepidocolaptes* (Aves, Furnariidae), a widespread Neotropical taxon. *Zoologica Scripta*, 41, 363-373.
- Arbeláez-Cortés, E., A. Nyari, and A. G. Navarro-Sigüenza. 2010. The differential effect of lowlands on the phylogeographic pattern of a Mesoamerican montane species (*Lepidocolaptes affinis*, Aves: Furnariidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 57:658-668.
- Arbogast B. S., S. V. Edwards, J. Wakeley, P. Beerli, y J. B. Slowinski. 2002. Estimating divergence times from molecular data on phylogenetic and population genetic timescales. *Annual Review of Ecology and Systematics* 707-740
- Avice, J. C. 1989. Gene tree and organismal histories: a phylogenetic approach to population biology. *Evolution* 43:1192-1208.
- Avice, J. C. 2000. Phylogeography: The history and formation of species. Harvard University Press, Londres.
- Avice, J.C., J. Arnold, R.M. Ball, E. Bermingham, T. Lamb, J.E. Niegel, C.A. Reeb y N.C. Saunders. 1987. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge

between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18:489-522

-Avice, J.C. y D. Walker. 1998. Pleistocene phylogeographic effects on avian populations and the speciation process. *Proceedings: Biological Sciences* 265: 457-463.

-Baptista, L. F. 1993. El estudio de la variación geográfica usando vocalizaciones y las bibliotecas de sonidos de aves neotropicales. pp. 15-30. En: P. Escalante-Pliego (ed.) Curación moderna de colecciones ornitológicas. American Ornithologist's Union, Washington, D.C.

-Baptista, L. F., y D. E. Kroodsma. 2001. Avian bioacoustics: a tribute to Luis Baptista. pp. 11-52 En: J. del Hoyo, A. Elliott y J. Sargatal, (eds.) Handbook of the birds of the world. Vol. 6. Lynx Edicions, Barcelona, España.

-Barber, B. R. y J. Klicka. 2010. Two pulses of diversification across the Isthmus of Tehuantepec in a montane Mexican bird fauna. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 277:1694, 2675-2681.

-Barracough, T. G. y A. P. Vogler. 2000. Detecting the geographical pattern of speciation from species level phylogenies. *The American Naturalist* 155(4):419-134.

-Beerli, P. 2005. Statistical phylogeography. [http://people.sc.fsu.edu/~pbeerli/BSC-5936/11-14-05/lecture\\_20.pdf](http://people.sc.fsu.edu/~pbeerli/BSC-5936/11-14-05/lecture_20.pdf). Fecha de acceso: 19-11-2010

-Bonaccorso, E., A. G. Navarro-Sigüenza, L. A. Sánchez-González, A. Townsend Peterson, y J. García-Moreno. 2008. Genetic differentiation of the *Chlorospingus ophthalmicus* complex in Mexico and Central America. *Journal of Avian Biology* 39: 311-321.

-Boonseub, S., S. S. Tobe y A. M. T. Linacre. 2009. The use of mitochondrial DNA genes to identify closely related avian species. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series* 2(1): 275-277.

-Bremer, K. 1988. The limits of amino acid sequence data in angiosperm phylogenetic reconstruction. *Evolution* 42(4):795-803.

-Burbrink, F. T. y T. A. Castoe. 2009. Molecular phylogeography of snakes. Pp. 38-77. En: S. J. Mullin y R. A. Seigel (eds.). Snakes: ecology and conservation. Cornell University Press. Ithaca, Nueva York, Estados Unidos de América.

-Campbell, J. A. 1999. Distribution Patterns of amphibians in Middle America. Pp. 111-210. En: Duellman, W. (ed.) Patterns of distribution of amphibians. The Johns Hopkins University Press. London.

- Catchpole, C. K. y P. J. B. Slater. 2008. Bird song: biological themes and variations. Segunda Edición. Cambridge University Press. New York.
- Ceballos, G., J. Arroyo-Cabrales, y E. Ponce. 2010. Effects of Pleistocene environmental changes on the distribution and community structure of the mammalian fauna of Mexico. *Quaternary Research*, 73:464-473.
- Charif, R.A., A.M. Waack, y L.M. Strickman., 2008. Raven Pro 1.3 User's Manual. Cornell Laboratory of Ornithology, Ithaca, Nueva York. Pp. 313.
- Chaverri-Polini, A., 1998. Las montañas, la diversidad biológica y su conservación. *Unasylva* 195 <http://www.fao.org/DOCREP/W9300S/w9300s09.htm>
- Chesser, R. T. y R. M. Zink. 1994. Modes of speciation in birds: a test of Lynch's method. *Evolution* 48(2):490-497.
- Clement, M., D. Posada. y K. Crandall. 2000. TCS: A computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology* 9: 1657- 1659.
- Collar, N. J., 2005. Family Turdidae (Thrushes). Pp. 514-807 En: del Hoyo, J., A. Elliott, y D. A. Christie. eds. 2005. Hand book of the birds of the world. Vol. 10. Lynx Edicions, Barcelona, España.
- Collins, S. 2004. Vocal fighting and flirting: the functions of birdsong. En: Marler, P. y H. Slabberkoorn (eds.). 2004. Natures music: the science of birdsong. Elsevier Academic Press. San Diego, USA. Pp. 39-79.
- De Queiroz, K. 2007. Species concepts and species delimitation. *Systematic Biology*, 56: 879-886.
- Dickinson, E. C. (ed.) 2003. The Howard y Moore complete checklist of the birds of the world. 3er Edición. Princeton University Press, Nueva Jersey. Pp. 1039.
- Dingle, C., W. Halfwerk y H. Slabbekoorn. 2008. Habitat-dependent song divergence at subspecies level in the Grey-breasted wood-wren. *Journal of Evolutionary Biology*, 21: 1079-1089.
- Dingle, C., J. W. Poelstra, W. Halfwerk, D. M. Brinkhuizen y H. Slabbekoorn. 2010. Asymmetric response patterns to subspecies-specific song differences in allopatry and parapatry in the Gray-breasted Wood-wren. *Evolution*, 64:3537-3548.
- Drummond, A. J. y A. Rambaut. 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology* 7:214
- Drummond, A. J. y A. Rambaut. 2009. Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. Pp. 564-591. En: Lamey, P., M. Salemi y A. Vandamme (eds.) The phylogenetic

handbook: A practical approach to phylogenetic analysis and hypothesis testing. Segunda edición. Cambridge University Press. Nueva York.

-Drummond AJ, B. Ashton, S. Buxton, M. Cheung, A. Cooper, C. Duran, M. Field, J. Heled, M. Kearse, S. Markowitz, R. Moir, S. Stones-Havas, S. Sturrock, T. Thierer, y A. Wilson. 2010. Geneious v5.5, Disponible en <http://www.geneious.com>

-Edwards, S. V., S. B. Kingan, J. D. Calkins, C. N. Balakrishnan, W. B. Jennings, W. J. Swanson y M. D. Sorenson. 2005. Speciation in birds: genes, geography, and sexual selection. *PNAS* 102: 6550-6557.

-Erixon, P., B. Svennblad, T. Britton y B. Oxelman. 2003. Reliability of Bayesian posterior probabilities and bootstrap frequencies in phylogenetics. *Systematic Biology* 52(5):665-673

-Espinosa-Organista, D. y S. Ocegueda. 2007. Introducción. Pp. 5-6. En: Luna, I., J. J. Morrone y D. Espinosa (eds.) Biodiversidad de la Faja Volcánica Transmexicana. UNAM. México.

- ESRI. 1999. ArcView GIS Ver. 3.2. Environmental Systems Research Inc., USA.

-Excoffier, L. y H. E. L. Lischer. 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources* 10: 564-567.

-Felsenstein, J. 1978. Cases in which parsimony or compatibility methods will be positively misleading. *Systematic Zoology* 27(4):401-410.

-Felsenstein, J. 1981. Evolutionary trees from DNA sequences: A maximum likelihood approach. *Journal of Molecular Evolution*. 17:368-376.

-Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39(4):783-791.

-Ferrusquía-Villafranca, I. y L. I. González-Guzmán. 2005. Northern Mexico's landscape, part II: The biotic setting across time. Pp. 39-51. En: Cartron, J. E., G. Ceballos y R. S. Felger (eds.) Biodiversity, ecosystems, and conservation in northern Mexico. Oxford University Press. Nueva York.

-Figuroa, H. 2006. XBAT: extensible acoustic tool. Disponible en línea (<http://www.xbat.org>)

-Fleischer R. C., C. E. McIntosh y C. L. Tarr. 1998. Evolution on a volcanic Conveyor Belt: using phylogeographic reconstructions and K-Ar-based ages of the Hawaiian Islands to estimate molecular evolutionary rates. *Molecular Ecology* 7:533-545.

-Freeland, J. R. 2005. Molecular ecology. John Wiley & sons, Ltd. Inglaterra.

- Fu, Y-X. 1997. Statistical test of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics* 147: 915-925.
- Futuyma, D. J. 2005. Evolution. Sinauer Associates, Inc. USA.
- García-Moreno, J., A. G. Navarro-Sigüenza, A. T. Peterson, y L. A. Sánchez-González. 2004. Genetic variation coincides with geographic structure in the common bush-tanager (*Chlorospingus ophthalmicus*) complex from Mexico. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 33:186-196.
- García-Moreno, J., N. Cortés, G. M. García-Deras, y B. E. Hernández-Baños. 2006. Local origin and diversification among *Lampornis* hummingbirds: A Mesoamerican taxon. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 38:488-498.
- García-Trejo, E. A., A. Espinosa de los Monteros, M. C. Arizmendi y A. G. Navarro-Sigüenza. 2009. Molecular Systematics of the Red-bellied and Golden-fronted woodpeckers. *Condor* 111(3):442-452.
- Gene Codes Corporatio. 2009. Sequencher: versión 4.9. Gene Codes Corporation, Ann Arbor, Michigan.
- Gernhard, T. 2008. The conditioned reconstructed process. *Journal of Theoretical Biology*. 253:769-778.
- Grant, B. R. y P. R. Grant. 1996. Cultural inheritance of song and its role in the evolution of Darwin's finches. *Evolution* 50(6): 2471-2487.
- Goloboff, P. A., J. S. Farris y K. C. Nixon. 2008. TNT, a program for phylogenetic analysis. *Cladistics* 24(5):774-786.
- González, C., J. F. Ornelas y C. Gutiérrez-Rodríguez. 2011. Selection and Geographic isolation influence hummingbird speciation: genetic, acoustic and morphological divergence in the wedge-tailed sabrewing (*Campylopterus curvipennis*). *BMC Evolutionary Biology* 11:38
- Guindon, S. y O. Gascuel. 2003. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Systematic Biology* 52(5):696-704.
- Hair, J. F., W. C. Black, B. J. Babin y R. E. Anderson. 2010. Multivariate data analysis. Prentice Hall.
- Hamilton, M. B. 2009. Population genetics. Wiley-Blackwell. Reino Unido. Pp. 407
- Haring, E., A. Gamauf y A. Kryukov. 2007. Phylogeographic patterns in widespread corvid birds. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 45: 840-862.

- Hernández-Baños, B. E., A. T. Peterson, A. G. Navarro-Sigüenza y B. P. Escalante-Pliego. 1995. Bird faunas of the humid montane forests of Mesoamerica: biogeographic patterns and priorities for conservation. *Bird Conservation International* 5:251-277.
- Hewitt, G. M. 1996. Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biological Journal of the Linnean Society* 58:247-276.
- Hijmans, R.J., S.E. Cameron, J.L. Parra, P.G. Jones y A. Jarvis, 2005. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology* 25: 1965-1978.
- Hills, D. M., y J. J. Bull. 1993. An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analysis. *Systematic Biology*. 42(2): 182-192.
- Ho, S. Y. W. y B. Shapiro. 2011. Skyline-plot methods for estimating demographic history from nucleotide sequences. *Molecular Ecology Resources*. 11: 423-434.
- Holder, M. y P. O. Lewis. 2003. Phylogeny estimation: traditional and bayesian approaches. *Nature Reviews Genetics* 4: 275-284.
- Honey-Escandón, M., B. E. Hernández-Baños, A. G. Navarro-Sigüenza, H. Benítez-Díaz y A. T. Peterson. 2008. Phylogeographic patterns of differentiation in the Acorn woodpecker. *Wilson Journal of Ornithology* 120(3):478-493.
- Howard, R. D. 1974. The influence of sexual selection and interspecific competition on Mockingbird song (*Mimus polyglottos*). *Evolution* 28(3): 428-438.
- Howell, S. N. G., y S. Webb., 1995. A guide to the birds of Mexico and Northern Central America. Oxford University Press. Nueva York. Pp. 851.
- Isler, M. L., P. R. Isler y B. M. Whitney. 1997. Biogeography and systematics of the *Thamnophilus punctatus* (Thamnophilidae) complex. *Ornithological Monographs* 48: 355-381.
- 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.
- Jenness, J. 2005. Distance Matrix (dist\_mat\_jen.avx) extension para ArcView 3.x, v. 2. Jenness Enterprises. [http://www.jennessent.com/arcview/dist\\_matrix.htm](http://www.jennessent.com/arcview/dist_matrix.htm)
- Koetz, A. H., D. A. Westcott y B. C. Congdon. 2007. Geographical variation in song frequency and structure: the effects of vicariant isolation, habitat type and body size. *Animal Behaviour* 74: 1573-1587.
- Kroodsma, D. E. 1984. Songs of the Alder Flycatcher (*Empidonax alnorum*) and Willow Flycatcher (*Empidonax traillii*) are innate. *Auk*, 101:13-24.

- Kroodsma D. 2005. The singing life of birds: The art and science of listening to birdsong. Houghton Mifflin's Press. Nueva York EUA.
- Kvasov D. D. 1978. The Barents ice sheet as a relay regulator of glacial-interglacial alternation. *Quaternary Research* 9:288-299.
- Lachlan, R. F. y M. R. Servedio. 2004. Song learning accelerates allopatric speciation. *Evolution* 58(9):2049-2063.
- Langmore, N. E., 1998. Functions of duet and solo songs of female birds. *Trends in Ecology and Evolution* 13(4): 136-140.
- Lanteri, A. A. y V. A. Confalonieri. 2003. Filogeografía: objetivos, métodos y ejemplos. En: Morrone, J. J. y J. Llorente. 2003. Una perspectiva latinoamericana de la biogeografía. La prensa de Ciencias, Facultad de Ciencias, UNAM. México.
- León-Paniagua, L. y J. J. Morrone. 2009. Do the Oaxacan Highlands represent a natural biotic unit? A cladistic biogeographical test based on vertebrate taxa. *Journal of Biogeography* 36:1939-1944.
- Librado, P. y J. Rozas. 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive análisis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25(11):1451-1452.
- López-López, I. A. 2012. Filogeografía de *Sittasomus griseicapillus* (Aves: Furnariidae) en Mesoamérica. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, Distrito Federal. México.
- MacDougall-Shackleton, E. A. y S. A. MacDougall-Shackleton. 2001. Cultural and genetic evolution in mountain white-crowned sparrows: song dialects are associated with population structure. *Evolution* 55 (12): 2568-2575.
- Maddison, W. P. y D. R. Maddison. 2009. MESQUITE a molecular system for evolutionary analysis. University of British Columbia. Oregon, USA.
- Magallón, S. A. 2004. Dating lineages: Molecular and paleontological approaches to the temporal framework of clades. *International Journal of Plant Sciences*. 165(4):s7-s21.
- Maldonado-Koerdell, M. 1964. Geohistory and paleogeography of middle America. Pp. 3-32. En: Wauchope (ed.) Handbook of middle American indians, Vol. 1. University of Texas Press. Austin.
- Mantel, N. 1967. The detection of disease clustering and generalized regression approach. *Cancer Research* 27: 209-220.
- Marler, P. 2004. Bird calls: a cornucopia for communication. Pp. 132-177. En: P., Marler y H. Slabbekoorn, (eds.) Nature's music the science of birdsong. Elsevier Academic Press. San Diego, California.

- Marshall, J. S. 2007. The geomorphology and physiographic provinces of Central America. Pp. 75-122. En: Bundschuh, J. y G. E. Alvarado (eds.) Central America: geology, resources and hazards, Vol. 1. Taylor & Francis. London.
- Mayr, E. 1942. Systematics and the origin of species, from the viewpoint of a zoologist. Harvard University Press. Nueva York.
- Minin, V. N., E. W. Bloomquist y M. A. Suchard. 2008. Smooth skyride through a rough skyline: Bayesian coalescent-based inference of population dynamics. *Molecular Biology and Evolution*. 25(7):1459-1471.
- Moore, W. S. y V. R. DeFilippis. 1997. The window of taxonomic resolution for phylogenies based on mitochondrial cytochrome b. Pp. 83-120. In: Mindell, D. P. (ed.). Avian Molecular evolution and systematics. Academic Press. San Diego, California.
- Mundinger, P. 1975. Song dialects and colonization in the House finch, *Carpodacus mexicanus*, on the east coast. *Condor* 77: 407-422
- Navarro-Sigüenza, A. G. y A. T. Peterson. 2004. An alternative species taxonomy for the birds of Mexico. *Biota Neotropica* v4 (n2) - <http://www.biotaneotropica.org.br/v4n2/pt/abstract?taxonomic-review+BN03504022004>
- Navarro-Sigüenza, A. G., A. Townsend Peterson, A. Nyari, G. M. García-Deras, y J. García-Moreno. 2008. Phylogeography of the *Buarremon* brush-finch complex (Aves, Emberizidae) in Mesoamerica. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 47:21-35.
- Nei, M. y S. Kumar. 2000. Molecular evolution and phylogenetics. Oxford University Press. Nueva York.
- Newton, I. 2003. The speciation and biogeography of birds. Academic Press. San Diego, California.
- Nixon, K. C. y Q. D. Wheeler. 1990. An amplification of the phylogenetic species concept. *Cladistics* 6:211-223.
- Nyári, Á. 2007. Phylogeographic patterns, molecular and vocal differentiation, and species limits in *Schiffornis turdina* (Aves). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 44: 154–164
- Nowicki S. y W. Searcy. 2005. Song and mate choice in birds: How the development of behavior helps us understand function. *Auk* 122 (1):1-14
- Ornelas, J. F., V. Sosa, D. E. Solti, J. M. Daza, C. González, P. S. Soltis, C. Gutiérrez-Rodríguez, A. Espinosa de los Monteros, T. A. Castoe, C. Bell y E. Ruiz-Sanchez. 2013. Comparative phylogeographic analyses illustrate the complex evolutionary

history of threatened cloud forest of northern Mesoamerica. *PLoS ONE*. 8(2): e56283. doi:10.1371/journal.pone.0056283

-Ortiz-Ramírez, M. F. 2010. Variación geográfica del canto del Clarín jilguero (*Myadestes occidentalis*). Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México, Distrito Federal.

-Outlaw, D. C., G. Voelker, B. Mila y D. J. Girman. 2003. Evolution of long distance migration in and historical biogeography of *Catharus* Thrushes: a molecular phylogenetic approach. *Auk* 120 (2): 299-310.

-Payne, R. B., 1986. Bird songs and avian systematics. Pp. 87-114. En: Johnston, R. F. eds. *Current Ornithology*. Vol. 3. Plenum Press. Nueva York.

-Phillips, A. R. 1969. An ornithological comedy of errors: *Catharus occidentalis* and *C. frantzii*. *Auk* 86 (4): 605-623.

-Phillips, A. R., 1991. The known birds of north and middle America: distributions and variation, migrations, changes, hybrids, etc. Vol.2. Published by Allan R. Phillips, Denver, Colorado, USA.

-Podos, J. 2001. Correlated evolution of morphology and vocal signal structure in Darwin's finches. *Nature* 409: 185-188.

-Podos, J. y P. S. Warren. 2007. The evolution of geographic variation in birdsong. *Advances in the Study of Behavior* 37:403-458.

-Posada, D. 2008. jModelTest: Phylogenetic Model Averaging. *Molecular Biology and Evolution* 25: 1253-1256.

-Posada, D. y K. A. Crandall. 2001. Intraspecific gene genealogies: trees grafting into networks. *Trends in Ecology and Evolution* 16(1):37-45.

-Posada, D., K. Crandall y R. Templeton. 2000. GeoDis: A program for the cladistic nested analysis of the geographical distribution of genetic haplotypes. *Molecular Ecology* 9: 487 – 488.

-Price, T. 2008. Speciation in birds. Roberts & Company. Colorado. USA.

-Price, J. J., y S. M. Lanyon., 2002. Reconstructing the evolution of complex bird song in the oropendolas. *Evolution* 56: 1514-1529.

Price, J. J. y S. M. Lanyon. 2004. Song and molecular data identify congruent but novel affinities of the Green Oropendola (*Psarocolius viridis*). *Auk*, 121(1):224-229.

-Puebla-Olivares, F., E. Bonaccorso, A. Espinosa de los Monteros, K. E. Omland, J. E. Llorente-Bousquets, A. T. Peterson y A. G. Navarro-Sigüenza. 2008. Speciation in the Emerald toucanet (*Aulacorhynchus prasinus*) complex. *Auk* 125(1):39-50.

- Purvis, A. y A. Rambaut. 1995. Comparative analysis by independent contrasts (CAIC): an Apple Macintosh application for analyzing comparative data. *Computer Applications in the Biosciences* 11(3):247-251.
- Rambaut, A. y A. J. Drummond. 2009. Tracer versión 1.5 (<http://beast.bio.ed.ac.uk>).
- Ramos-Onsins, S. E. y J. Rozas. 2002. Statistical properties of new neutrality tests against population growth. *Molecular Biology and Evolution*. 19(12): 2092-2100.
- Raitt, R. J. y J. W. Hardy. 1970. Relationships between two partly sympatric species of thrushes (*Catharus*) in Mexico. *The Auk* 87: 20-57
- Raposo, M. A. y E. Höfling. 2003. Overestimation of vocal characters in suboscine taxonomy (Aves: Passeriformes: Tyranni): causes and implications. *Lundiana*, 4:35-42.
- Ridgely, R. S., T. F. Allnutt, T. Brooks, D. K. McNicol, D. W. Mehlman, B. E. Young, and J. R. Zook. 2007. Digital Distribution Maps of the Birds of the Western Hemisphere, version 3.0. NatureServe, Arlington, Virginia, USA.
- Ridgely, R. S., y J. A. Gwynne. 1989. A guide to the birds of Panama with Costa Rica, Nicaragua, and Honduras. Princeton University Press, Princeton, Nueva Jersey.
- Ridgway, R. 1907. The birds of north and Middle America. Part 4. *U. S. National Museum Bulletin* 50.
- Rivers J. W. y D. E. Kroodsma. 2000. Singing behavior of the Hermit thrush. *Journal of Field Ornithology* 71(3):467-471.
- Rogers, A. R., y H. C. Harpending. 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular Biology and Evolution*. 9: 552-569.
- Ronquist, F. y J. P. Huelsenbeck. 2003. MrBayes3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572-1574.
- Ronquist, F., P. Van der Mark y J. P. Huelsenbeck. 2009. Bayesian phylogenetic analysis using Mr. Bayes. Pp. 210-267. En: Lamey, P., M. Salemi y A. Vandamme (eds.) *The phylogenetic handbook: A practical approach to phylogenetic analysis and hypothesis testing*. Segunda edición. Cambridge University Press. Nueva York.
- Rowley, J. S. y S. T. Orr. 1964. The status of Frantzius' Nightingale thrush. *Auk* 81: 308-314.
- Rutschmann, F. 2006. Molecular dating of phylogenetic trees: A brief review of current methods that estimate divergence times. *Diversity and Distributions* 12:35-48.

- Sánchez-González, L. A., J. J. Morrone y A. G. Navarro-Sigüenza. 2008. Distributional patterns of the Neotropical humid montane forest avifaunas. *Biological Journal of the Linnean Society*, 94:175-194.
- Sanderson, M. J. 1998. Estimating rate and time in molecular phylogenies: beyond the molecular clock? Pp. 242-264. En: Soltis, D. E., P. S. Soltis y J. J. Doyle (eds.) *Molecular systematics of plants: DNA sequencing*. Kluwer Academic. Boston.
- Sanderson, M. J. y J. A. Doyle. 2001. Sources of error and confidence intervals in estimating the age of the angiosperms from *rbcL* and 18S rDNA data. *American Journal of Botany*. 88:1499-1516.
- Schmidt, H. A. y A. Von Haeseler. 2009. Phylogenetic inference using maximum likelihood methods. Pp. 181-209 In: Lamey, P., M. Salemi y A. Vandamme (eds.) *The phylogenetic handbook: A practical approach to phylogenetic analysis and hypothesis testing*. Segunda edición. Cambridge University Press. Nueva York.
- Schwarz, G. 1978. Estimating the dimension of a model. *The Annals of Statistics*, 6: 461-464.
- Slabbekoorn, H. y T. B. Smith. 2002a. Bird song, ecology and speciation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 357:493-503.
- Slabbekoorn, H. y T. B. Smith. 2002b. Habitat-dependent song divergence in the little greenbul: an analysis of environmental selection pressures on acoustic signals. *Evolution* 56(9):1849-1858.
- Slatkin, M. y R. R. Hudson. 1991. Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations. *Genetics* 129: 555-562.
- Sites, J. W. y J. C. Marshall. 2004. Operational criteria for delimiting species. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 35:199-227.
- Sokal, R. R. y R. J. Rohlf. 1969. *Introduction to biostatistics*. Dover Publications. Inc. Nueva York.
- Sorenson, M. D. 2003. Avian mtDNA primers. Boston University. <http://people.bu.edu/msoren/Bird.mt.Primers.pdf>
- Sosa-López, J. R., C. González y A. G. Navarro-Sigüenza. 2013. Vocal geographic variation in Mesoamerican common bush tanager (*Chlorospingus ophthalmicus*). *The Wilson Journal of Ornithology* 125(1): 24-33.
- Sosa-López, J. R., D. J. Mennill y A. G. Navarro-Sigüenza. 2013. Geographic variation and the evolution of song in Mesoamerican rufous-naped wrens *Campylorhynchus rufinucha*. *Journal of Avian Biology* 44:27-38.

- Swofford, D. L. 2002. PAUP Phylogenetic analysis using parsimony (and other methods), version 4.0b10. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Tajima, F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123(3):585-595.
- Templeton, A. R., E. Routman y C. A. Phillips. 1995. Separating population structure from population history: a cladistic analysis of the geographical distribution of mitochondrial DNA haplotypes in the Tiger salamander, *Ambystoma tigrinum*. *Genetics* 140: 767-782.
- Thompson J. D., D. G. Higgins y T. J. Gibson. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*. 22(22): 4673-4680.
- Tubaro, P. L., 1999. Bioacústica aplicada a la sistemática, conservación y manejo de poblaciones naturales de aves. *Etología* 7: 19-32.
- Vandamme, A. 2009. Basic concepts of molecular evolution. Pp. 3-29. En: Lamey, P., M. Salemi y A. Vandamme (eds.) *The phylogenetic handbook: A practical approach to phylogenetic analysis and hypothesis testing*. Segunda edición. Cambridge University Press. Nueva York.
- Vázquez Domínguez, E. 2007. Filogeografía y vertebrados Pp. 441-466. En: Eguiarte, L., V. Souza, X. Aguirre. (eds.). 2007. *La ecología molecular de plantas y animales*. IE. México.
- Voelker, G. y G. M. Spellman. 2004. Nuclear and mitochondrial DNA evidence of polyphyly in the avian superfamily Muscicapoidea. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 30: 386-394.
- Waltari, E. y R. P. Guralnick. 2009. Ecological Niche modelling of montane mammals in the Great Basin, North america: examining past and present connectivity of species across basins and ranges. *Journal of Biogeography* 36:148-161.
- Wertheim, J. O. y M. J. Sanderson. 2011. Estimating diversification rates: how useful are divergence times? *Evolution* 65: 309-320
- Whitney C. L. y J. Miller. 1983. Song matching in the Wood thrush (*Hylocichla mustelina*): A function of song dissimilarity. *Animal Behaviour* 31 (2):457-461.
- Wilcox, T. P., D. J. Zwickl, T. A. Heath y D. M. Hillis. 2002. Phylogenetic relationships of the dwarf boas and a comparison of bayesian and bootstrap measures of phylogenetic support. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 25:361-371.

- Wiley, E. O. 1981. *Phylogenetics: the theory and practice of phylogenetic systematics*. John Wiley & Sons Inc. Nueva York.
- Woolley, S. M., D. Posada y K. A. Crandall. 2008. A comparison of phylogenetic network methods using computer simulation. *PLoS ONE* 3(4):e1913.
- Zink, R. M. y G. F. Barrowclough. 2008. Mitochondrial DNA under siege in avian phylogeography. *Molecular Ecology* 17: 2107-2121.
- Zink, R. M., A. E. Kessen, T. V. Line y R. C. Blackwell-Rago. 2001. Comparative phylogeography of some aridland bird species. *Condor* 103: 1-10
- Zwickl, D. J., 2006. Genetic algorithm approaches for the phylogenetic analysis of large biological sequence datasets under the maximum likelihood criterion. Tesis de doctorado, Universidad de Texas. Austin. Estados Unidos de América.

**Anexo I.** Tabla de localidades y procedencia de las muestras de tejidos de *C. frantzii*. Biodiversity Institute universidad de Kansas (KU), Field Museum of Natural History, universidad de Chicago (FMNH), Univesidad de Nevada, Las Vegas (UNLV), Louisiana Museum of Natural History, universidad de Louisiana (LSUMZ), Colección Dickey, universidad de California, Los Ángeles (UCLA), Instituto de Ecología, Xalapa, Veracruz (INECOL), Museo de Zoología “Alfonso L. Herrera”, Facultad de Ciencias UNAM (MZFC).

<b>Catálogo</b>	<b>País</b>	<b>Estado</b>	<b>Latitud</b>	<b>Longitud</b>	<b>Colección</b>
B 28312	Panamá	Chiriquí	8.8551040	-82.6499080	LSUMZ
394113	México	Chiapas	16.7290800	-92.6022300	FMNH
394107	México	Guerrero	17.4833333	-100.2000000	FMNH
394111	México	Chiapas	16.7290800	-92.6022300	FMNH
393915	México	Jalisco	19.8216667	-104.3816667	FMNH
346798	México	Morelos	18.9716667	-99.2933333	FMNH
346797	México	Oaxaca	17.1333333	-96.0166667	FMNH
393923	México	Oaxaca	17.1333333	-96.0166667	FMNH
393924	México	Oaxaca	17.1333333	-96.0166667	FMNH
394108	México	Guerrero	17.4833333	-100.2000000	FMNH
394109	México	Chiapas	16.7290800	-92.6022300	FMNH
9455	El Salvador	Santa Ana	14.4055000	-89.3628333	KU
SI B 5524	Panamá	Chiriquí	8.8551040	-82.6499080	LSUMZ
UCLA 03N1067	Guatemala	Huehuetenango	15.3200000	-91.4700000	UCLA
UCLA 01N5985	Guatemala	Huehuetenango	15.3200000	-91.4700000	UCLA
UCLA 01N5972	Guatemala	Huehuetenango	15.3200000	-91.4700000	UCLA
UNLV DHB 4447	Guatemala	Quetzaltenango	14.7845680	-91.6863740	UNLV
UNLV GAV 2419	Guatemala	Quetzaltenango	14.8283333	-91.4950000	UNLV
UNLV DHB 4455	Guatemala	Quetzaltenango	14.7845680	-91.6863740	UNLV
FD-75	México	Morelos	18.9716667	-99.2933333	MZFC
FD-62	México	Morelos	18.9716667	-99.2933333	MZFC
JK04-57	México	Guerrero	17.8167130	-99.9675950	MZFC
OMVP-617	México	Oaxaca	18.1650000	-96.9966667	MZFC
OMVP-336	México	Oaxaca	16.6066667	-95.8000000	MZFC
OMVP-917	México	Oaxaca	17.8450000	-96.7400000	MZFC
AMT 042	México	Guerrero	17.8167130	-99.9675950	MZFC
AMT 125	México	Guerrero	17.8167130	-99.9675950	MZFC
BMM 591	México	Chiapas	17.1833333	-92.0833333	MZFC
BMM 635	México	Hidalgo	20.9850000	-98.6066667	MZFC
BMM 800	México	Chiapas	15.0666667	-92.0833333	MZFC
BMM 807	México	Chiapas	15.0666667	-92.0833333	MZFC
BMM 809	México	Chiapas	15.0666667	-92.0833333	MZFC
BMM 922	México	Hidalgo	20.3172222	-98.2216667	MZFC
BONA 55	México	Chiapas	15.0666667	-92.0833333	MZFC
BONA 57	México	Chiapas	15.0666667	-92.0833333	MZFC
BONA 68	México	Chiapas	15.0666667	-92.0833333	MZFC
BONA 83	México	Chiapas	15.0666667	-92.0833333	MZFC
BORJA 18	México	Chiapas	16.7290800	-92.6022300	MZFC
HGO-SLP 098	México	Hidalgo	20.9983333	-99.1450000	MZFC
MXJ 560	México	Oaxaca	17.1333333	-96.0166667	MZFC
OMVP 0263	México	Oaxaca	16.6066667	-95.8000000	MZFC
OMVP 0335	México	Oaxaca	16.6066667	-95.8000000	MZFC

Continúa

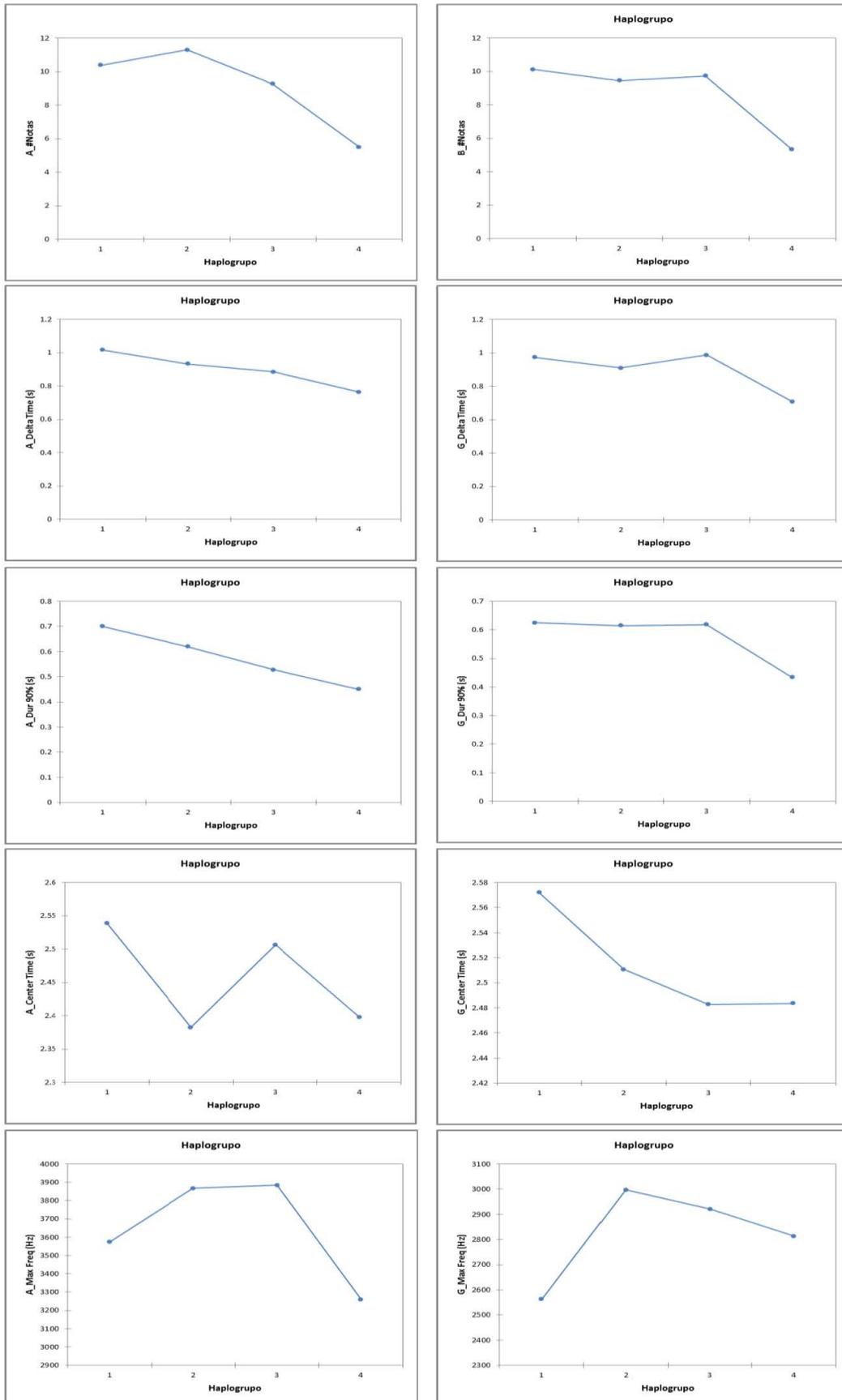
OMVP 0593	México	Oaxaca	18.1650000	-96.9966667	MZFC
OMVP 0601	México	Oaxaca	18.1650000	-96.9966667	MZFC
BEHB08-32	México	Chiapas	16.7278520	-92.6963880	MZFC
ELTRIUNFO	México	Chiapas	15.3500000	-92.5500000	INECOL
8277	El Salvador	Santa Ana	14.4153667	-89.3754500	KU
8297	El Salvador	Santa Ana	14.4153667	-89.3754500	KU
5070	El Salvador	Chalatenango	14.3880000	-89.1000000	KU
7671	El Salvador	San Vicente	13.6000000	-88.8400000	KU
7758	El Salvador	San Vicente	13.6000000	-88.8400000	KU
5071	El Salvador	Chalatenango	14.3880000	-89.1000000	KU
7670	El Salvador	San Vicente	13.6000000	-88.8400000	KU
6458	El Salvador	San Vicente	13.6000000	-88.8400000	KU
5073	El Salvador	Chalatenango	14.3880000	-89.1000000	KU
8282	El Salvador	Santa Ana	14.4153667	-89.3754500	KU
4886	El Salvador	Chalatenango	14.3850000	-89.1220000	KU
Yagila59	México	Oaxaca	17.5833000	-96.3667000	MZFC
Yagila54	México	Oaxaca	17.5833000	-96.3667000	MZFC
Yagila20	México	Oaxaca	17.5833000	-96.3667000	MZFC
Yagila18	México	Oaxaca	17.5833000	-96.3667000	MZFC
3	México	Oaxaca	18.2102117	-96.8946204	INECOL
E-34	México	San Luis Potosí	21.3902694	-99.0489000	INECOL
PI-21	México	San Luis Potosí	21.3902694	-99.0489000	INECOL
PI-99	México	Oaxaca	18.2102117	-96.8946204	INECOL

---

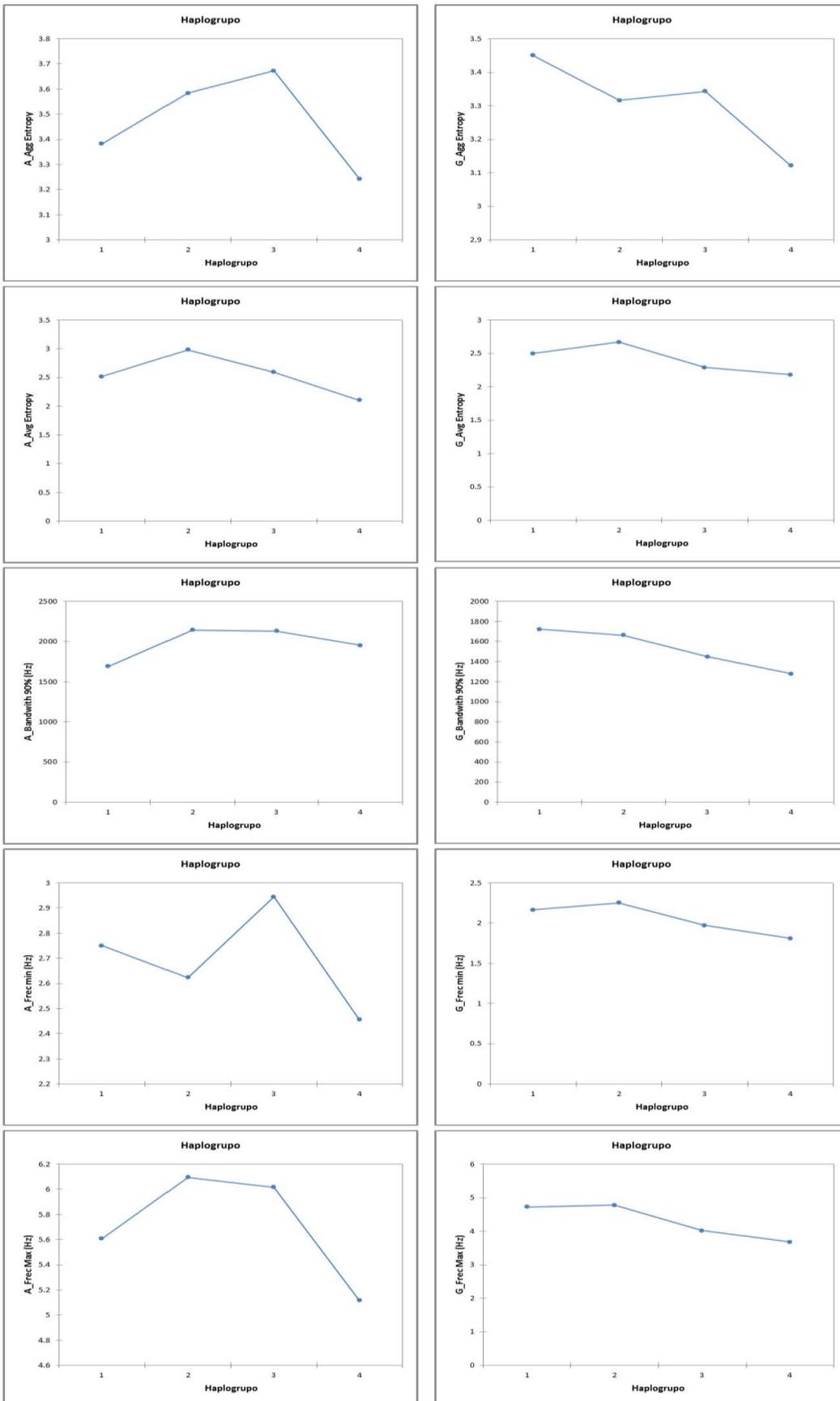
**Anexo II.** Tabla de localidades y procedencia de las grabaciones de *C. frantzii*. Museo de Zoología “Alfonso L. Herrera” de la Facultad de Ciencias, UNAM (MZFC), Museo de Historia natural de Florida (FLMNH) y la biblioteca de sonidos Macaulay del Laboratorio de Ornitología de Cornell (ML). Además, Doug Knapp y Tom Will (DK-TW).

<b>Colección</b>	<b>Catálogo</b>	<b>País</b>	<b>Estado</b>	<b>Latitud</b>	<b>Longitud</b>	<b>Elevación</b>
DK-TW	06-25	Nicaragua	Jinotega	13.072777780	-85.955833333	1450
MZFC	740 y 742	México	Chiapas	15.004638890	-92.097111111	2468
ML	3632 y 3633	Panamá	Chiriquí	8.783795000	-82.433676000	2135
ML	3636	Panamá	Chiriquí	8.842406000	-82.585061000	1890
ML	144080	Panamá	Chiriquí	8.842406000	-82.585061000	2195
FLMNH	FL4084	Panamá	Chiriquí	8.842406000	-82.585061000	2195
ML	3640	El Salvador	Chalatenango	14.383330000	-89.133330000	2408
ML	3641	El Salvador	Santa Ana	14.416670000	-89.366670000	2030
ML	3642	El Salvador	Santa Ana	14.416670000	-89.366670000	2030
ML	3643	El Salvador	Santa Ana	14.416670000	-89.366670000	2030
ML	3635	México	Oaxaca	17.194166670	-96.638333333	2903
FLMNH	FL413	México	Oaxaca	17.194167000	-96.638333300	2903
FLMNH	FL433	México	Oaxaca	17.194167000	-96.638333300	2903
ML	89613	México	Chiapas	16.650000000	-92.583330000	2400
FLMNH	FL419	México	Chiapas	16.704796000	-92.687955000	2226
FLMNH	FL422	México	Chiapas	16.704796000	-92.687955000	2226
FLMNH	FL425	México	Chiapas	16.704796000	-92.687955000	2226
MZFC	MZFC-927	México	Chiapas	16.734972000	-92.603722000	2200
ML	39169	Costa Rica	Guanacaste	10.600000000	-85.283300000	164
ML	53925	Costa Rica	Puntarenas	10.300000000	-84.816700000	1650
MZFC	MO-868	México	Morelos	19.049917000	-99.317111000	2819
MZFC	MO-869	México	Morelos	19.049917000	-99.317111000	2819
MZFC	MO-875	México	Morelos	19.049917000	-99.317111000	2819
MZFC	MO-877	México	Morelos	19.049917000	-99.317111000	2819
MZFC	MO-884	México	Morelos	19.049917000	-99.317111000	2819
MZFC	MO-885	México	Morelos	19.049917000	-99.317111000	2819
MZFC	MO-886	México	Morelos	19.049917000	-99.317111000	2819
MZFC	MO-887	México	Morelos	19.049917000	-99.317111000	2819
MZFC	MO-904	México	Morelos	19.049917000	-99.317111000	2819
MZFC	MO-905	México	Morelos	19.049917000	-99.317111000	2819
MZFC	MO-906	México	Morelos	19.049917000	-99.317111000	2819
MZFC	MO-907	México	Morelos	19.049917000	-99.317111000	2819
MZFC	MO-910	México	Morelos	19.049917000	-99.317111000	2819
MZFC	MO-715	México	Hidalgo	20.315712000	-98.235235000	2213
MZFC	MO-719	México	Hidalgo	20.315712000	-98.235235000	2213
MZFC	MO-720	México	Hidalgo	20.315712000	-98.235235000	2213
MZFC	MO-724	México	Hidalgo	20.315712000	-98.235235000	2213
MZFC	MO-731	México	Hidalgo	20.315712000	-98.235235000	2213
MZFC	MO-914	México	Guerrero	17.587889000	-99.840306000	2669
MZFC	MO-917	México	Guerrero	17.587889000	-99.840306000	2669
MZFC	MO-919	México	Guerrero	17.587889000	-99.840306000	2669
MZFC	MO-925	México	Guerrero	17.587889000	-99.840306000	2669
MZFC	MO-929	México	Guerrero	17.587889000	-99.840306000	2669
MZFC	MO-930	México	Guerrero	17.587889000	-99.840306000	2669
MZFC	MO-933	México	Guerrero	17.587889000	-99.840306000	2669

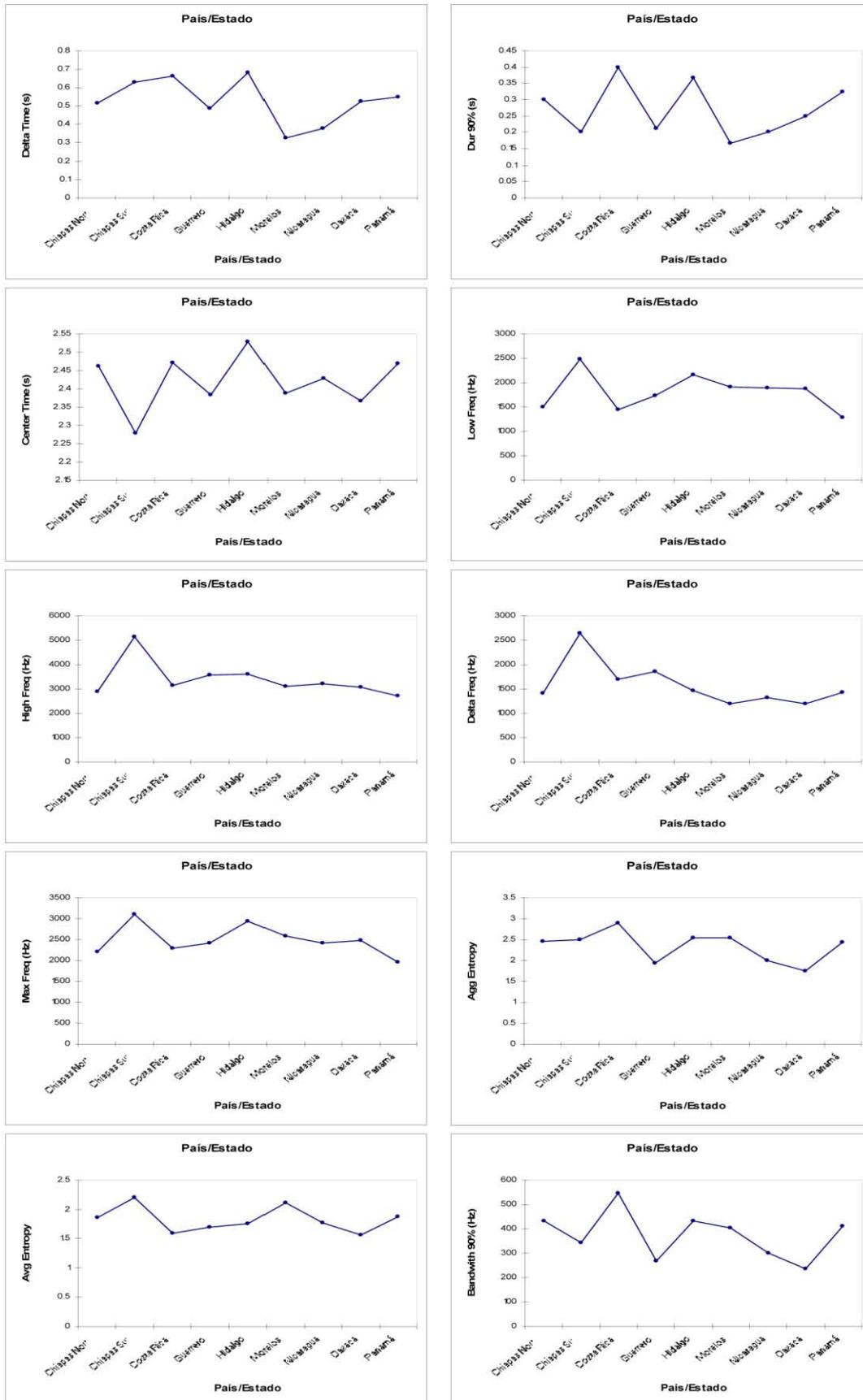
**Anexo III.** Análisis de varianza (ANOVA) de los cantos de *C. frantzii* por población. A la izquierda los cantos agudos y a la derecha los graves. Valores de F y p en la Tabla A.



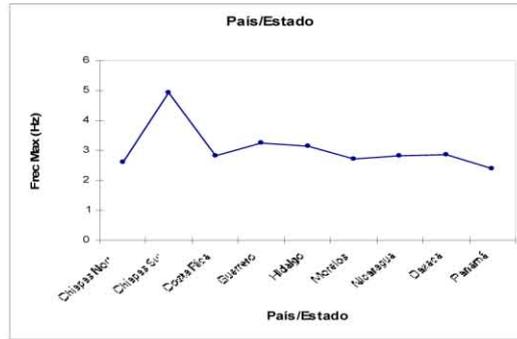
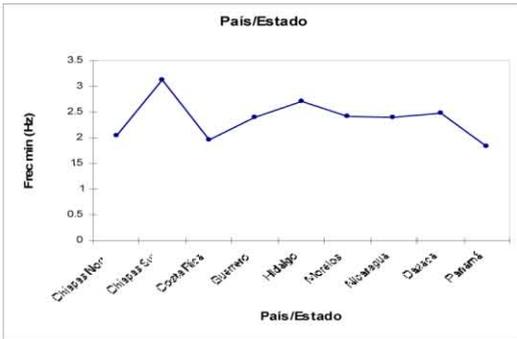
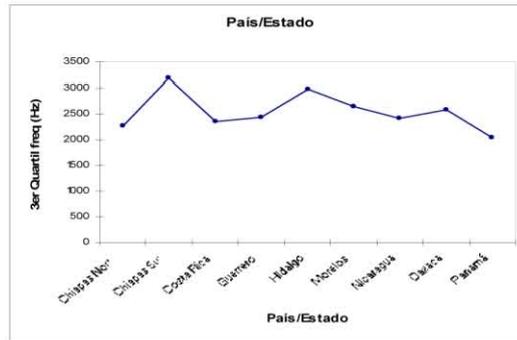
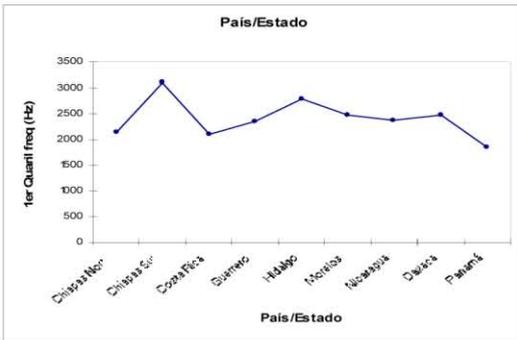
Continúa



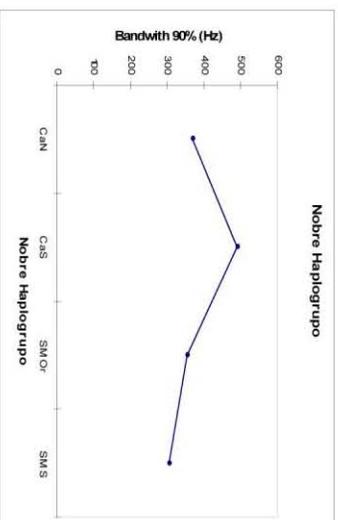
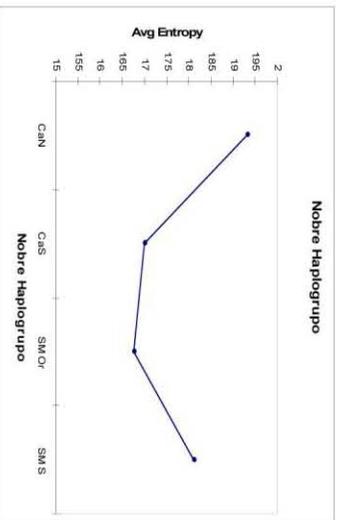
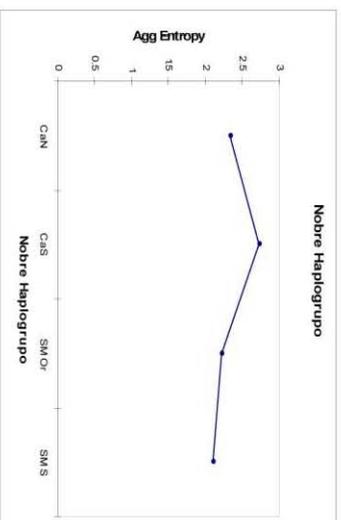
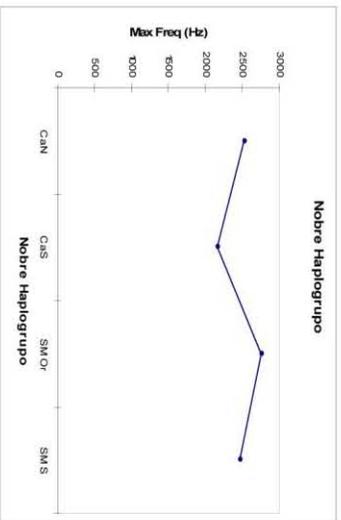
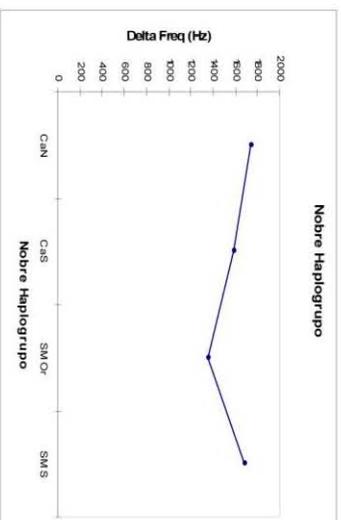
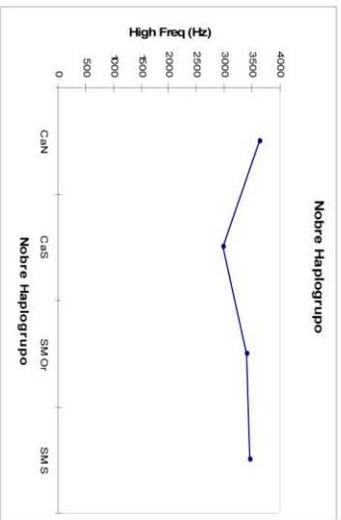
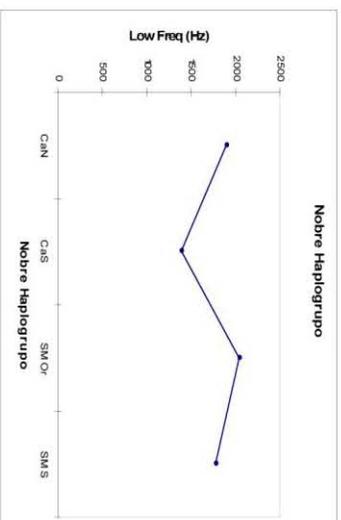
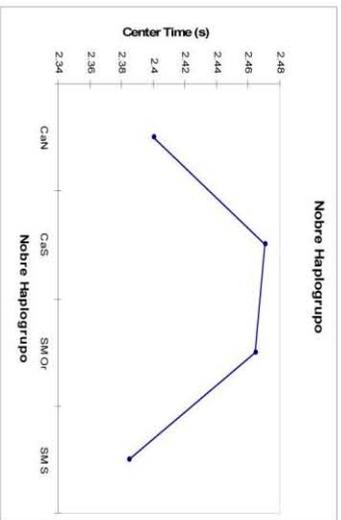
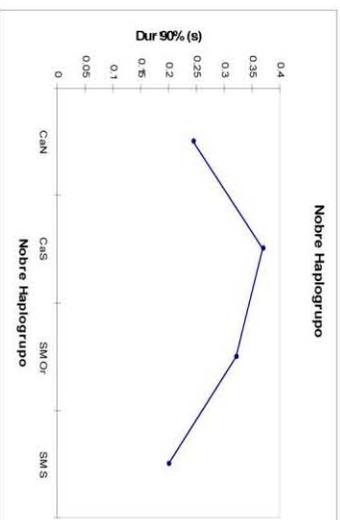
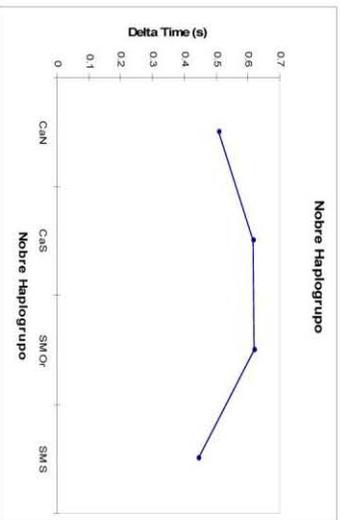
**Anexo IV.** Análisis de varianza (ANOVA) de los llamados de las poblaciones de *C. frantzi*. Valores de F y p en la Tabla B.



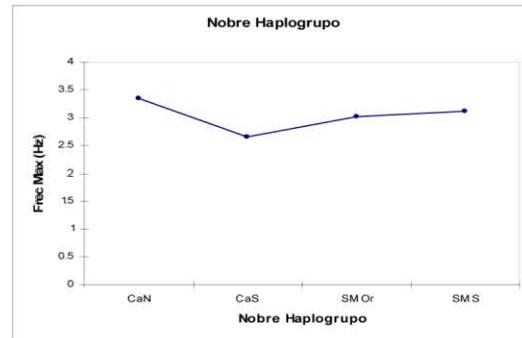
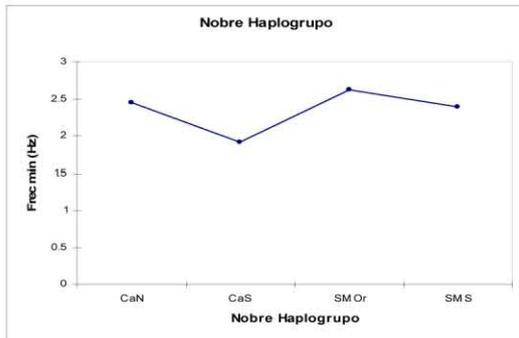
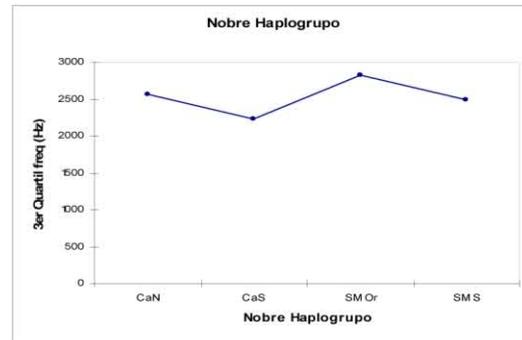
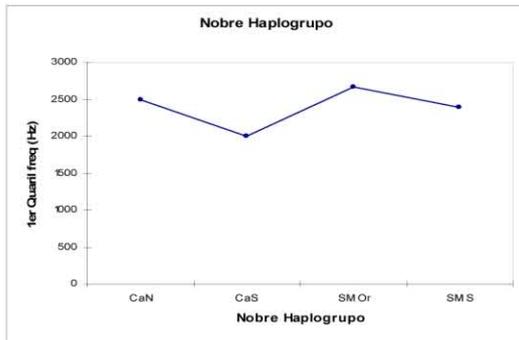
Continúa



**Anexo V. Análisis de varianza (ANOVA) de los llamados de los haplogrupos de C. frantzi. Valores de F y p en la Tabla C.**



Continúa



**Tabla A.** Valores de la prueba de ANOVA de las variables medidas de los cantos de *C. frantzii*. En negrita se muestran los valores significativos  $\alpha=0.05$

Variable	F	Pr > F
A_#Notas	5.465	<b>0.003</b>
A_Delta Time (s)	3.870	<b>0.016</b>
A_Dur 90% (s)	3.524	<b>0.023</b>
A_Center Time (s)	1.044	0.383
A_Max Freq (Hz)	0.737	0.536
A_Agg Entropy	0.964	0.419
A_Avg Entropy	6.526	<b>0.001</b>
A_Bandwidth 90% (Hz)	1.098	0.361
A_Frec min (Hz)	1.037	0.386
A_Frec Max (Hz)	1.273	0.296
B_#Notas	2.158	0.108
G_Delta Time (s)	2.794	0.052
G_Dur 90% (s)	2.792	0.052
G_Center Time (s)	0.419	0.740
G_Max Freq (Hz)	1.172	0.332
G_Agg Entropy	0.527	0.666
G_Avg Entropy	3.765	<b>0.018</b>
G_Bandwidth 90% (Hz)	0.702	0.556
G_Frec min (Hz)	2.785	0.053
G_Frec Max (Hz)	3.492	<b>0.024</b>

**Tabla B.** Valores de la prueba de ANOVA de los llamados de *C. frantzii* por población.

En negritas se muestran los valores significativos  $p < 0.05$

<b>Variable</b>	<b>F</b>	<b>Pr &gt; F</b>
Delta Time (s)	3.011	<b>0.014</b>
Dur 90% (s)	3.368	<b>0.008</b>
Center Time (s)	2.213	0.057
Low Freq (Hz)	5.286	<b>0.000</b>
High Freq (Hz)	2.031	0.079
Delta Freq (Hz)	0.942	0.499
Max Freq (Hz)	3.920	<b>0.003</b>
Agg Entropy	4.849	<b>0.001</b>
Avg Entropy	1.647	0.156
Bandwith 90% (Hz)	3.581	<b>0.006</b>
1er Quaril freq (Hz)	4.508	<b>0.001</b>
3er Quartil freq (Hz)	3.630	<b>0.005</b>
Frec min (Hz)	5.979	<b>0.000</b>
Frec Max (Hz)	2.531	<b>0.033</b>

**Tabla C.** Valores de la prueba de ANOVA de los llamados de *C. frantzii* por haplogrupos. En negritas se muestran los valores significativos  $p < 0.05$

<b>Variable</b>	<b>F</b>	<b>Pr &gt; F</b>
Delta Time (s)	3.629	<b>0.023</b>
Dur 90% (s)	6.363	<b>0.002</b>
Center Time (s)	2.001	0.132
Low Freq (Hz)	7.221	<b>0.001</b>
High Freq (Hz)	1.181	0.331
Delta Freq (Hz)	0.564	0.643
Max Freq (Hz)	4.29	<b>0.011</b>
Agg Entropy	3.591	<b>0.023</b>
Avg Entropy	1.231	0.313
Bandwith 90% (Hz)	3.808	<b>0.019</b>
1er Quaril freq (Hz)	6.47	<b>0.001</b>
3er Quartil freq (Hz)	4.222	<b>0.012</b>
Frec min (Hz)	8.237	<b>0</b>
Frec Max (Hz)	1.338	0.278