



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**ESTUDIO DE LAS VOCALIZACIONES DE *Pipilo ocai*
Y *P. maculatus* (AVES: PASSERELLIDAE) EN UNA
ZONA DE CONTACTO EN LA SIERRA MADRE
ORIENTAL**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

(B I Ó L O G O)

P R E S E N T A:

ALFONSO SANTOS TOVAR



**DIRECTOR DE TESIS:
DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA
CIUDAD DE MÉXICO, 2019**



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.

HOJA DE DATOS DEL JURADO

1. Datos del alumno

Santos
Tovar
Alfonso
55 2564 3710
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
413009740

2. Datos del tutor

Dr.
Adolfo Gerardo
Navarro
Sigüenza

3. Datos del sinodal 1

Dra.
María del Coro
Arizmendi
Arriaga

4. Datos del sinodal 2

Dra.
María del Pilar
Benites

5. Datos del sinodal 3

Dra.
Luz Estela
Zamudio
Beltrán

6. Datos del sinodal 4

Biól.
Alejandro
Gordillo
Martínez

7. Datos del trabajo escrito

Estudio de las vocalizaciones de *Pipilo ocai* y *P. maculatus* (Aves: Passerellidae) en una zona de contacto en la Sierra Madre Oriental
66 p
2019

AGRADECIMIENTOS ACADÉMICOS

A mi tutor Adolfo Navarro por darme la bienvenida al Museo de Zoología, por su apoyo, su atención y los regaños que me ayudaron a salir adelante.

A Alejandro Gordillo por su atención y sus valiosos comentarios durante la realización del proyecto.

Al apoyo financiero para el trabajo de campo y una beca de licenciatura del proyecto DGAPA PAPIIT IN-215515, y a la beca de ayudante de Investigador Nacional Nivel III otorgada por el CONACyT.

Al Dr. Leopoldo Vásquez por enseñarme la responsabilidad de salir a muestrear en campo.

A los miembros de mi jurado por su revisión del trabajo: Dr. Adolfo Navarro, Dra. Ma. del Coro Arizmendi, Dra. Pilar Benites, Dra. Luz Zamudio y Biól. Alejandro Gordillo.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A mi mamá por su apoyo incondicional y su fe en mí, y a mis hermanos (aunque uno diga que no).

A mi tío Ricardo por siempre tratar de mandarme por un buen camino.

A mi papá por su apoyo durante este período.

A mi abue Eli por ayudarme a nunca olvidar de qué se trata mi tesis cada vez que me preguntaba.

A todos los tíos, primos y abuela por recibirme gustosos durante mis idas y venidas.

A Don Pablo y Doña Magdalena por su interés y amabilidad al prestarme su casa durante mis muestreos, y a Don Eloy y Don Armando por recibirme en San Miguel Zoapan calurosamente.

A todas las personas que me acompañaron y apoyaron en mis muestreos: Polo, Tapatío, Norma, Genaro, Violeta, Vero, Isra, Daniel, Enya, Genaro otra vez, Josué y Ugui.

Al Dr. Erick Alejandro García Trejo porque sin su información hubiera llegado al sitio de muestreo equivocado.

A mis amigos de la universidad, Sturniván, por hacer de la vida un momazo, y Verónica por ayudarme a ser mejor persona.

A todos mis amigos de Cuerna por darme una razón para esperar al fin de semana (además de, claro, tomarme un descanso de la tesis).

ÍNDICE

Resumen y abstract.....	6
Introducción.....	7
Objetivos.....	18
Método.....	18
Área de estudio.....	18
Obtención de datos.....	21
Análisis de cantos.....	21
Resultados.....	26
Discusión.....	54
Literatura citada.....	61

Resumen:

El canto de las aves tiene como función atraer pareja y alejar a machos rivales, y por lo tanto funciona como método de reconocimiento entre especies. Las aves oscinas desarrollan el canto por imitación, y por consiguiente, en poblaciones que han divergido recientemente y no se encuentran aisladas reproductivamente, es posible que el canto se vea afectado por el contacto, y dado que pueden encontrarse en hibridación, e. A lo largo de su distribución en México, *Pipilo ocai* y *P. maculatus* presentan simpatría en varias zonas, y muestran hibridación. En la zona alrededor del Pico de Orizaba se ha registrado un alto índice de hibridación e introgresión, pero no se ha realizado ningún estudio involucrando las vocalizaciones de las especies. En el presente estudio se realizaron grabaciones de cantos de ambas especies en dicha área, en poblaciones en simpatría y alopatría, buscando identificar el repertorio de las poblaciones observadas, así como las diferencias en la estructura del canto. Se realizaron posteriormente playbacks y se grabó la respuesta de las aves, con el objetivo de comparar los resultados de estructura y repertorio con las pruebas anteriores. Los resultados sugieren que el canto de *P. maculatus* presenta mayor tendencia hacia el cambio que el canto de *P. ocai*, y que la simpatría en el área estudiada conduce a los cantos a diferenciarse más, sugiriendo que la especiación está actuando en contra de la hibridación en la zona.

Abstract:

The function of bird song is attracting mates and driving away rival males, and therefore it works as a form of species recognition. Oscine birds develop song through mimicry, and thus in populations that have recently diverged and lack reproductive isolation it's possible that song is affected by contact, as they may present hybridization. Throughout their distribution across Mexico, *Pipilo ocai* and *P. maculatus* show sympatry in several areas, and thus, hybridization. In the area around Pico de Orizaba there's record of a high level of hybridization and introgression, but no study regarding the species' vocalizations has been performed there. For the current analysis, song recordings were performed in the aforementioned area, in populations both in sympatry and allopatry, aiming to find the song repertoire of the studied populations, as well as the differences in song structure. Playback was performed afterward and the birds' response was recorded, with the purpose of comparing the results of song structure and repertoire with the previous tests. The results suggest that the song of *P. maculatus* shows higher tendency toward changing when compared to the song of *P. ocai*, and that sympatry in the studied location drives song to further differentiate, hinting at speciation working against hybridization in the area.

INTRODUCCIÓN

El canto de las aves

La comunicación acústica está involucrada con el reconocimiento entre especies (Goller y Shizuka, 2018), y ayuda a estudiar la evolución de la comunicación entre animales (Naguib y Haven Wiley, 2001). El canto de las aves es una de las señales acústicas con más complejidad en los animales, y una de las más estudiadas (Sosa-López y Mennill, 2014), jugando un papel importante en la especiación y la hibridación (Halfwerk et al., 2016).

La siringe es el órgano que permite a las aves emitir sonidos, similar a la laringe en los humanos. Es un órgano ubicado en el punto en que se dividen los bronquios desde la tráquea, y contiene membranas (denominadas membranas timpaniformes mediales, o MTMs) que vibran cuando el aire de los pulmones es expulsado, con lo cual se generan ondas de sonido. También posee músculos especializados que ayudan a controlar la frecuencia. Las aves canoras, u oscinas, poseen más pares de músculos que el resto de las aves, que les permiten emitir cantos más complejos (Fig. 1) (Catchpole y Slater, 2008).

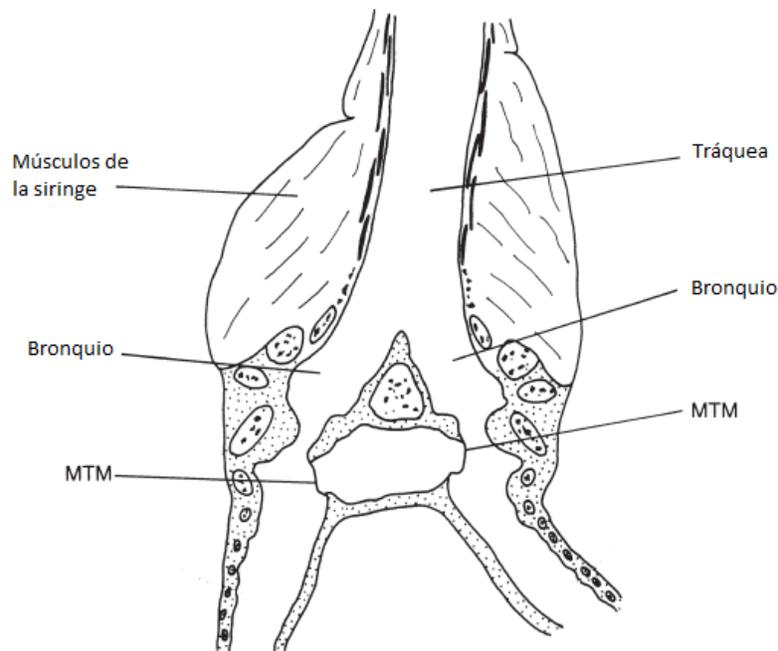


Figura 1.- Siringe de un ave oscina (modificado de Catchpole y Slater, 2008).

Las principales funciones de los cantos que emiten las aves son atraer pareja y alejar a los machos rivales (Marler y Slabbekoorn, 2004; Barker, 2008; Freeman y Montgomery, 2017), un hecho que ha sido confirmado reemplazando a los machos con altavoces en ambos casos (Marler y Slabbekoorn, 2004). Estudios con las vocalizaciones de aves revelan información acerca de la relación entre la divergencia geográfica de dichas vocalizaciones, aislamiento reproductivo y especiación. Debido a que gran parte de las vocalizaciones se aprenden por imitación, tienden a presentar variación geográfica significativa, permitiendo de esa forma la rápida transmisión de patrones vocales (Podós y Warren, 2007). Algunas especies presentan mayor plasticidad en sus cantos, lo cual les permitiría ser seleccionados por las hembras de poblaciones diferentes. El aprendizaje de cantos ayuda además a la adaptación local, porque éstos presentan características que resultan ventajosas para las condiciones ecológicas, como clima y vegetación, en las que habitan las poblaciones (Sosa-López et al., 2013; Mortega et al., 2014). Las variaciones en cantos de la misma especie generarán apareamiento selectivo (Dingle et al., 2010) y por lo tanto aislamiento reproductivo (Dingle et al., 2010; Lipshutz et al., 2017). A su vez, especies cercanamente emparentadas podrían entrar en contacto secundario y sus cantos convergerían, lo que aumentaría el flujo génico entre ellas; alternativamente, los cantos pueden divergir (Dingle et al., 2010).

Las vocalizaciones en las aves se dividen en cantos y llamados. Los cantos son vocalizaciones largas y complejas que producen los machos generalmente en temporada reproductiva, aunque pueden cantar espontáneamente. Su estructura se compone de varios atributos (Fig. 2). A las unidades del canto (sílabas) que siguen un patrón similar y se encuentran juntas se les llama frases. Las sílabas pueden estar compuestas por uno o más trazos continuos en el espectro denominados notas (Catchpole y Slater, 2008). Un trino será definido como una frase de sílabas idénticas que se repiten tres o más veces rápidamente (Sosa-López y Mennill, 2014). Los llamados son vocalizaciones más cortas y simples (Fig. 3), y las producen ambos sexos durante todo el año en contextos específicos. Se usan en diferentes contextos, como señales de alarma y de huida, y pueden ser simples o complejos (Catchpole y Slater, 2008).

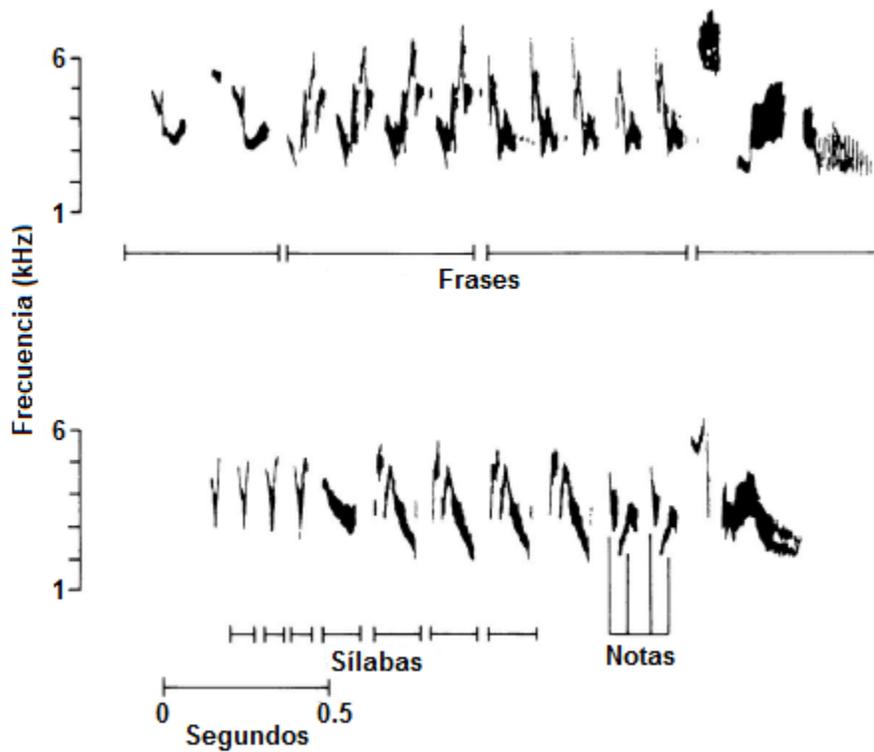


Figura 2.- Los elementos que componen el canto de un ave (*Fringilla coelebs*), modificado de Catchpole y Slater (2008).

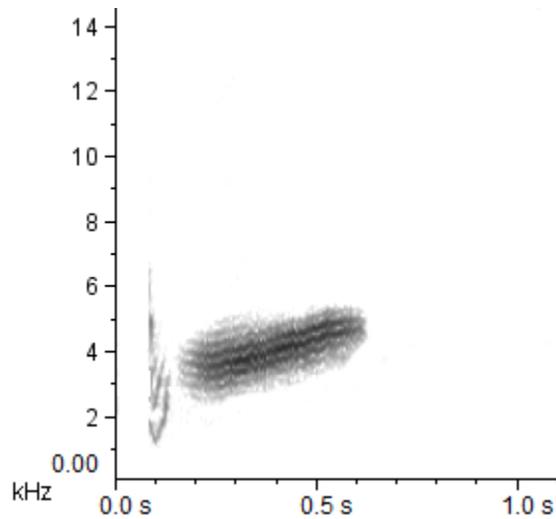


Figura 3.- Llamado de *P. maculatus*. La estructura es visiblemente más sencilla que en el canto.

La mayoría de las aves tienen varias versiones de un canto característico, y durante una sesión de canto las van alternando. Todas las variaciones de cantos que el ave emite se conocen como repertorio (Catchpole y Slater, 2008).

Cuando la capacidad de dispersión es limitada en una cierta área donde las aves desarrollan el canto, y se reproducen (Marler y Slabbekoorn, 2004), se forma un dialecto de cantos (Kroodsma, 1989). La diferencia entre estos dialectos puede ser muy abrupta o poco notoria (Kroodsma, 1989; Catchpole y Slater, 2008). En los casos en los que las poblaciones de aves son vecinas e interactúan, y suelen tenerse repertorios muy pequeños, la diferencia entre los dialectos es muy abrupta. Esto puede deberse a barreras geográficas o topográficas, eventos de colonización o cambios de hábitat (Catchpole y Slater, 2008), a las condiciones ambientales, la morfología del ave, selección sexual o conductas migratorias (Lipshutz et al., 2017). Como los dialectos están restringidos al aprendizaje de los cantos, las aves que no aprenden a cantar por oído no tienen dialectos diferentes (Marler y Slabbekoorn, 2004).

Los cantos de la especie son aprendidos a muy temprana edad por los juveniles (Catchpole y Slater, 2008; Freeman et al., 2017). Poco después de eclosionar, las aves empiezan a memorizar los cantos de los adultos (Halfwerk et al., 2016). Si se desarrollan en un ambiente desprovisto de machos adultos, producen un canto similar, pero mucho más simple, ya que carecen del estímulo que los impulsa a perfeccionarlo. Si se les reproducen cantos una vez que alcanzan la madurez y adquieren la capacidad de cantar, no alteran su canto, lo cual indica que es en esta etapa en la que su sensibilidad desaparece (Catchpole y Slater, 2008).

Los juveniles, independientemente de los cantos que memoricen, pueden producir una plantilla con las características básicas del canto de la especie. De los cantos que escuchan, aquellos que se identifiquen con dicha plantilla son los que memorizarán. De esta manera se convierte en una “plantilla exacta” que representa perfectamente al canto (Catchpole y Slater, 2008). Al escuchar reproducciones de los cantos, ya sean emitidas por otras aves o por dispositivos, las aves reconocen la similitud de su estructura con la plantilla, lo cual se relaciona con la respuesta que presentarán (Sosa-López et al., 2015).

Respuesta al canto

Numerosos estudios involucran los cantos conespecíficos e interespecíficos de las aves y la capacidad de éstas para distinguirlos, así como la importancia del canto como factor de divergencia entre las especies (Cadena y Cuervo, 2010; Dingle et al., 2010; Sosa-López et al., 2015; Freeman y Montgomery, 2017; Lipshutz et al., 2017). Un estudio con pinzones de diversas especies del género *Geospiza* demostró que, aunque están emparentados, son morfológicamente muy parecidos y varias especies comparten el mismo hábitat, sus cantos presentan muy pocas diferencias. No obstante, las aves pueden reconocer su llamado del de las demás especies en la misma isla (Ratcliffe y Grant, 1985). Los capuchinos del género *Sporophila* reconocen sus propios cantos de los de otras especies del mismo género con las que comparten hábitat, y responden más agresivamente. Las hembras responden más fuertemente ante los cantos conspecíficos, al representar éstos la territorialidad del macho, evitando así la hibridación accidental (Searcy y Brenowitz, 1988).

En un estudio realizado con los saltaparedes del género *Troglodytes* (Sosa-López et al., 2015), se demostró que la similitud acústica en las especies disminuyó conforme aumenta la distancia genética entre éstas, lo que significa que la divergencia entre cantos y genética en las aves oscinas es paralela. Sin embargo, se encontró respuesta agresiva ante especies alopátricas del mismo género, lo que sugiere que sus cantos contienen suficientes elementos reconocibles para activar una respuesta territorial (Sosa-López et al., 2015; Halfwerk et al., 2016).

Se ha demostrado en ciertas especies del género *Saxicola* que las hembras, además de seleccionar pareja mediante los cantos escuchados, también discriminan ciertas morfologías. Aunque esta selección promueve la diversificación, tiene un impacto menor que el de caracteres que se heredan culturalmente, como los cantos (Mortega et al., 2014).

Hibridación y su efecto en el canto

Cuando dos especies que divergieron recientemente comparten una zona de contacto secundario, ésta determinará el camino que seguirán dependiendo de su nivel de

aislamiento (Sibley, 1950). En caso de que el nivel de separación entre ellas no esté firmemente consolidado, el resultado será la hibridación (Sibley, 1950; Haavie et al., 2004). Dependiendo de qué tan alto es el grado de aislamiento entre cada especie es el nivel de hibridación que se encontrará, así como la fertilidad de las especies que se reproducen (Sibley, 1950; Randler, 2006). Grant y Grant, en 1992, estimaron que aproximadamente 10% de todas las especies de aves conocidas tenían evidencias de hibridación.

Este fenómeno es más común en la periferia de la distribución de las especies, donde se encuentran en parapatría, pues la densidad poblacional es menor y por lo tanto hay menos disponibilidad de parejas (Seehausen, 2004; Randler, 2006), o porque no se han desarrollado mecanismos sólidos de reconocimiento entre especies tan bien como en áreas donde son simpátricas. Randler (2002) hipotetiza que una posible causa de la hibridación es la incorrecta identificación acústica o visual por parte de las hembras, y que cuando el canto es similar, o combina elementos de ambas especies, pueden ignorarse las diferencias en el plumaje a la hora de escoger pareja.

Se ha reportado hibridación en varias especies de aves, dentro de distintos grupos, y en dichos casos los cantos muestran convergencia en el área de simpatría (de Kort et al., 2002; Secondi et al., 2003; Qvarnström et al., 2006; Kenyon et al., 2011). Los linajes que se encuentran en hibridación presentan divergencia en su canto en condiciones de alopatría, pero en simpatría sus características convergen, debido a que la hibridación normalmente es maladaptativa y los cantos son usados para el reconocimiento entre especies (Haavie et al., 2004, Qvarnström et al., 2006, Lipshutz et al., 2017). Esto puede deberse al ambiente acústico del área, o al aprendizaje heteroespecífico en aves oscinas (Kenyon et al., 2011, Qvarnström et al., 2006). Una convergencia en el canto puede indicar que la hibridación no tiene un costo alto sobre la adaptabilidad de los individuos, y si tiene un alto costo, la selección favorecerá a aquellos con mejores señales de reconocimiento entre especies (de Kort et al., 2002; Kenyon et al., 2011).

Estudios en hibridación ayudan a comprender los procesos evolutivos, como la especiación (Grant y Grant, 1992), y también pueden revelar señales de flujo génico entre las especies involucradas, así como el aislamiento reproductivo (Kingston, 2012; Kingston

et al., 2014). Este aislamiento está íntimamente relacionado a la especiación que presentarán las especies híbridas (Gompert et al., 2012). El intercambio genético entre los linajes evolutivos que están hibridando (hibridación introgresiva) tiende a presentarse en taxones que fueron parte de radiaciones adaptativas, y puede causar, entre otras cosas, la fusión de especies, el origen de nuevas o reforzar el aislamiento reproductivo. En particular, los taxones con selección de pareja se aíslan reproductivamente de manera más rápida que otros (Seehausen, 2004). Además, los híbridos suelen tener caracteres que difieren de los parentales, lo cual les permite explotar nichos diferentes en los cuales pueden tener mayor adecuación (Seehausen, 2004). Normalmente se espera que los híbridos tengan un nivel de adecuación inferior a las especies parentales porque parte de su stock genético es incompatible, pero esto también puede dar como resultado una adecuación más alta por el aumento en heterocigosidad o una mejor adaptación a los cambios que sufren los ambientes al ser perturbados (Grant y Grant, 1992).

Las zonas de hibridación son un buen lugar para estudiar barreras genéticas y conductuales en linajes diferentes, como lo es el canto de las aves (Lipshutz et al., 2017), además de que podrían proporcionar información respecto a los procesos de especiación (Rieseberg et al., 1999).

Planteamiento del problema

Las especies *Pipilo maculatus* (antes parte de *Pipilo erythrophthalmus*) y *Pipilo ocai* han presentado problemas en su sistemática al descubrirse individuos con morfologías combinadas en zonas donde comparten distribución en México (Sibley, 1950). Se han realizado trabajos estudiando el porcentaje de hibridación y diferenciación genética de estas poblaciones, identificando las zonas con mayor hibridación a lo largo de su distribución (Sibley, 1950; 1954; Sibley y West, 1958; Sibley y Sibley, 1964). Además, se han propuesto algunas causas de introgresión entre poblaciones (Kingston, 2012; Kingston et al., 2014).

La zona del Pico de Orizaba ubicada entre los estados de Puebla y Veracruz es de particular importancia porque se encuentran las dos especies parentales en simpatria junto

con los híbridos, lo que favorece la introgresión, mientras que en otras localidades, como Teziutlán se encuentran únicamente poblaciones aisladas de los híbridos. (Sibley, 1954). El canto en estas poblaciones presenta mucha variación, y Sibley (1950) establece que, si bien no puede confirmar que esto se deba a la hibridación, podría aun así estar relacionado de alguna forma, posiblemente fomentándola.

La mayor investigación al respecto de estas dos especies fue realizada por Charles G. Sibley y colaboradores, quienes analizaron la coloración en las especies parentales y los híbridos (Sibley, 1950; 1954; Sibley y West, 1958; Sibley y Sibley, 1964) a lo largo de sus zonas de contacto en Cerro San Felipe (Oaxaca); el Pico de Orizaba; Cerro Viejo (Jalisco); y el intervalo entre el suroeste de Jalisco y el sur de Hidalgo (Sibley, 1950). Los híbridos entre *P. maculatus* y *P. ocai* presentan un patrón de coloración intermedio en distintas zonas del cuerpo, las cuales Sibley categorizó para identificar a qué especie se asemejaban más y posiblemente estaban más emparentados. A través de las zonas de contacto secundario previamente mencionadas, Sibley (1950) reconoce diez subespecies de *P. maculatus* y cinco de *P. ocai*.

Kingston (2012) y Kingston et al. (2014) han realizado análisis de diferenciación genética e introgresión en las dos especies, y reconoce en ambos trabajos dos gradientes de hibridación, los cuales coinciden con las áreas de contacto secundario identificadas previamente por Sibley. Ambos gradientes tienen condiciones altitudinales, precipitación, estacionalidad, hábitat y fragmentación diferentes. Uno se extiende a través de la Sierra Madre Oriental (de norte a sur), el cual recibe el nombre de gradiente de Teziutlán; y el otro a través del Eje Neovolcánico Transversal (oeste a este), llamado gradiente Transvolcánico (Figs. 4 y 5) (Kingston, 2012; Kingston et al., 2014). Cada especie tiene poblaciones aisladas geográficamente a través de estas zonas (Kingston et al., 2014), con cantos, plumajes y conductas intermedias (Kingston, 2012), y con haplotipos diferentes a los encontrados en el resto de las poblaciones pero con menos divergencia que la que se presenta entre ambas especies. Ambos gradientes se conectan cerca del Pico de Orizaba (Kingston, et al., 2014).

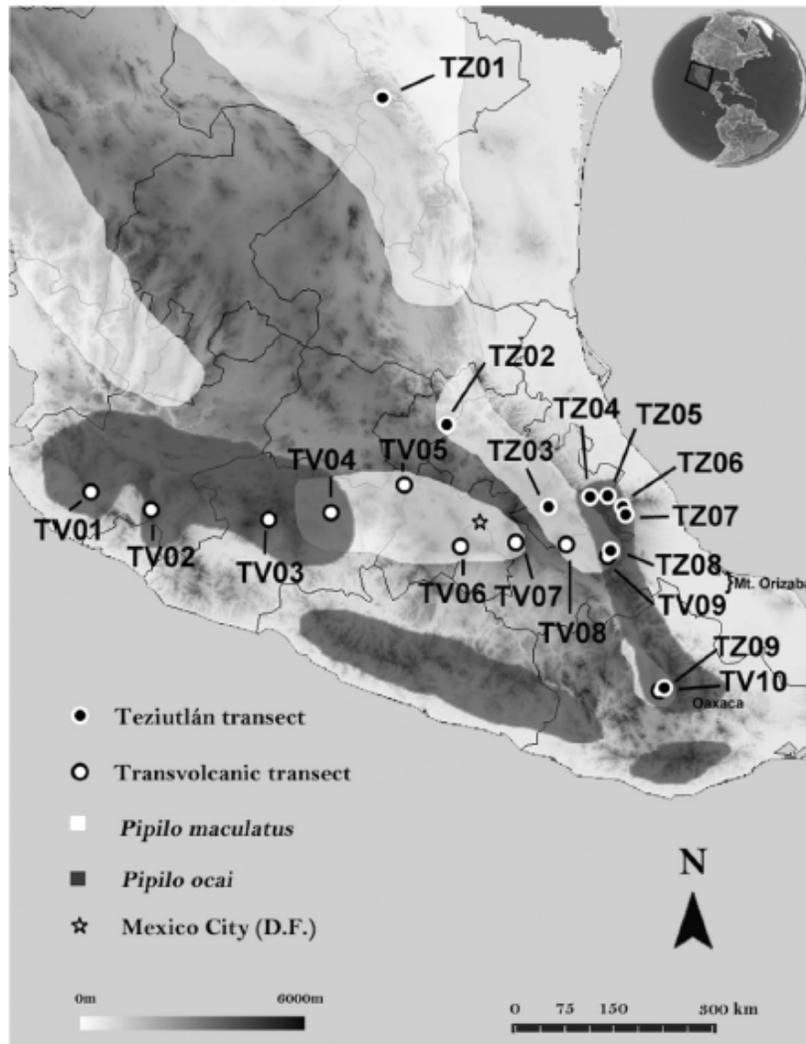


Figura 4.- Representación de la distribución de *P. maculatus* y *P. ocai* en México, así como los gradientes Transvolcánicos y de Teziutlán (tomado de Kingston et al., 2014).

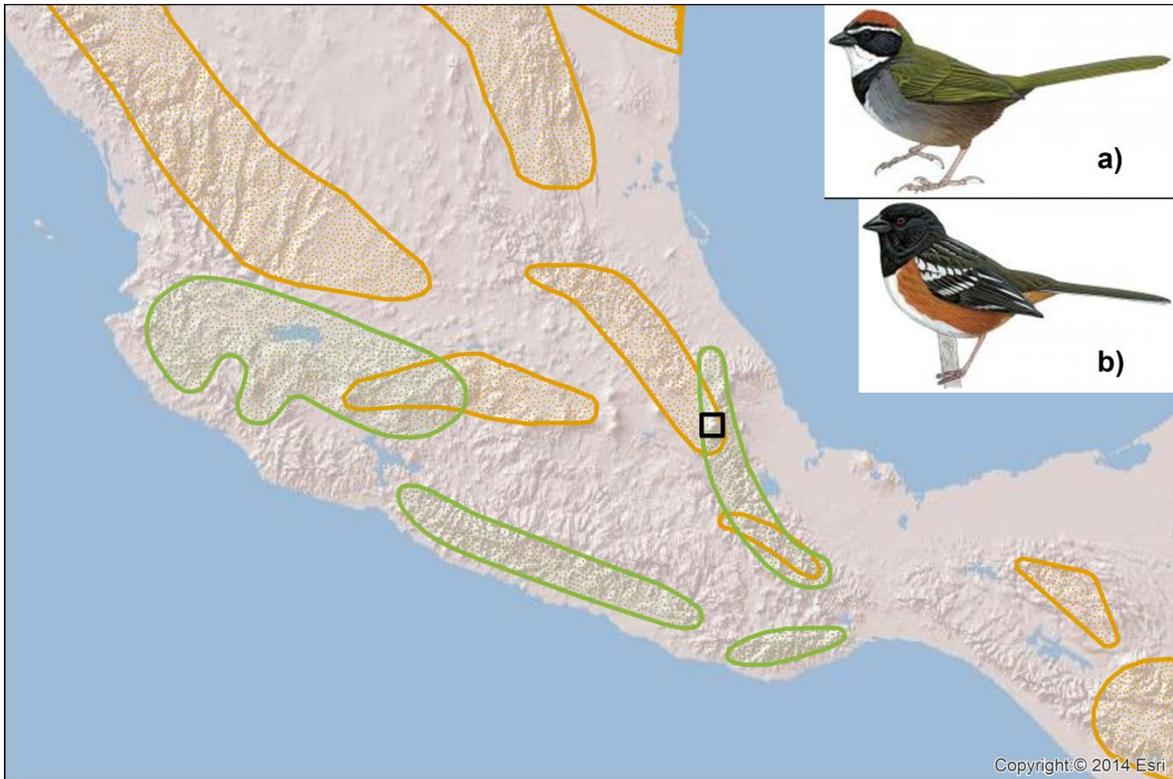


Figura 5.- Se representa parte de la distribución de *P. maculatus* (naranja) y *P. ocai* (verde) en México, enfatizando las zonas de mayor relevancia. El cuadro negro representa el Pico de Orizaba (Environmental Systems Research Institute, 2014). a) *P. ocai*, b) *P. maculatus*. Ilustraciones de las especies obtenidas de Rising, J., en Handbook of Birds of the World, 2017).

Es posible que el contacto secundario entre estas especies haya comenzado debido a las condiciones ambientales cíclicas en el Paleoceno, y que la actividad humana (deforestación, agricultura) lo haya incrementado. Debido a que se ha alterado el hábitat por estas causas desde hace más de 3,000 años, es poco probable que el contacto se haya dado recientemente (Kingston, 2012, Kingston et al., 2014).

Pipilo ocai (Fig. 5a), el toquí de collar, presenta la frente negra con una línea blanca sobre el ojo. El píleo es rojizo, la región de la garganta es blanca y la pectoral negra. Las partes superiores del ave son principalmente verde oliva. Los costados son grises. El iris es de un tono café rojizo y el pico negro. No presenta dimorfismo sexual (Sibley, 1950). Se encuentra en bosques de coníferas y vegetación asociada (Sibley, 1954). Prefiere un ambiente más húmedo que *P. maculatus*, a alturas de 2,000 a 3,000+ msnm (Kingston et

al., 2014). En el área de estudio se encontraba en los parches de oyamel con árboles de gran altura.

Pipilo maculatus (Fig. 5b), el toquí moteado, es de color negro con manchas blancas en las plumas de las alas y la parte terminal de la cola. El vientre y abdomen son blancos y los costados de color rojizo. El iris es rojo, y el pico negro. Presenta dimorfismo sexual representado en qué tan oscuro es el tono de negro, el cual tiende a ser más oscuro en machos (Sibley, 1950). Se encuentra en zonas con vegetación compuesta por encinos (Sibley, 1954) y un ambiente más seco que *P. ocai*, a alturas de 1,500-3,000 msnm (Kingston et al., 2014). En el área de estudio, se observó que prefieren áreas más perturbadas, y particularmente la vegetación arbustiva que se bordea las cañadas.

P. maculatus está compuesto por 19 subespecies, de las cuales cinco se distribuyen fuera de México. Del resto, solo dos subespecies presentan distribución en la Sierra Madre Oriental, la cual es de importancia para el presente estudio. Éstas son *P. maculatus orientalis*, que se encuentra en la zona norte de dicha cordillera y *P. maculatus maculatus*, que habita principalmente en la zona de Hidalgo y Puebla. Se reconocen también cinco subespecies de *P. ocai* a lo largo de su distribución, de las cuales dos habitan en la zona este: *P. ocai ocai* se distribuye en el área entre Puebla y Veracruz, y *P. ocai brunnescens* en Oaxaca (Sibley, 1950; Handbook of Birds of the World, 2017).

De acuerdo con una revisión de la filogenia del género *Pipilo* por DaCosta et al. (2009), *P. maculatus* y *P. erythrophthalmus* son especies hermanas, pero su relación con *P. ocai*, aunque muy estrecha, no se ha resuelto por completo.

El presente estudio se llevó a cabo en la región del Pico de Orizaba, en la Sierra Madre Oriental, que pertenece a una de las zonas con mayor índice de hibridación en el gradiente de Teziutlán de acuerdo con Kingston et al., (2014), en donde se distribuyen ambas especies a lo largo de un gradiente altitudinal. Se pretende determinar si la estructura y el repertorio de los cantos de las dos especies en las poblaciones se alteran en condiciones de alopatría y simpatría, y en el caso de esta última condición, posiblemente en presencia de hibridación.

OBJETIVOS:

Objetivo general:

- Analizar la variación en cantos de las poblaciones de *Pipilo maculatus* y *Pipilo ocai* y su respuesta hacia ellos en una zona de contacto de ambas especies.

Objetivos particulares:

- Obtener y comparar el repertorio de cantos de *P. maculatus* y *P. ocai* en las poblaciones que presentan simpatría y alopatría en el área cercana al Pico de Orizaba.
- Analizar las características estructurales de los cantos y determinar cuáles de éstas presentan mayor variación entre las poblaciones, así como la semejanza entre ellas.
- Determinar el efecto de cantos en playback sobre la variación en el repertorio y la estructura del canto de cada especie

MÉTODOS:

Área de estudio:

El Parque Nacional Pico de Orizaba tiene un área total de 19,750 ha, localizado en la frontera entre los estados de Puebla y Veracruz (Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, 1993). De esta área, 11185 ha se encuentran en Puebla y 8564 en Veracruz. En Puebla, se ubica en los municipios de Tlachichuca, Chalchicomula de Sesma y Atzitzintla; y en Veracruz en Chalchahualco y La Perla. El polígono se localiza entre las coordenadas 19° 00' 01.12" N, 97° 22' 07.07" W; 18° 57' 00.57" N y 97° 17' 17.91" W; 19° 02' 27.57" N, 97° 12' 09.11" W, 19° 09' 38.04" N y 97° 15' 35.93" W. El intervalo altitudinal es de 3,038 a 5,636 msnm, correspondientes al punto más alto del volcán (Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas, 2012).

Presenta cuatro principales tipos de vegetación. El bosque de oyamel se distribuye de 3200 a 3600 metros, y tiene un estrato arbóreo de hasta 50 metros de altura. Se compone de especies como *Abies religiosa* y *A. hickeli*, así como *Pinus sp*, *Alnus sp*. y *Quercus sp*.

en menor proporción. El pastizal se establece en zonas donde el bosque fue destruido por incendios o tala excesiva desde los 3200 a 4000 metros y se caracteriza por *Calamagrostis toluensis* y *Festuca toluensis*. El bosque de pino se encuentra desde los 3600 a 4300 metros, y está compuesto principalmente por *Pinus hartwegii*. El páramo de altura se encuentra a más de 4240 metros y se compone por *Festuca sp.* e *Hilaria sp.* principalmente (Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas, 2012). El parque está altamente perturbado por la tala excesiva, y un gran porcentaje de la cobertura forestal se ha perdido. La mayoría de los parches de bosque son el producto de reforestaciones y carecen de vegetación secundaria, por lo que la diversidad de aves en esas zonas es baja. Las zonas de reforestación por debajo de los 3200 m son más recientes que las de zonas más altas.

Los ríos importantes que se encuentran dentro del polígono o que ahí se originan son el río Blanco, Cotaxtla, Jamapa, Metlac y Orizaba. Todos forman parte de la cuenca alta del Papaloapan, en Veracruz (Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas, 2012). Del lado de Veracruz, el clima va de templado subhúmedo a semifrío, con una temperatura promedio de 9.3° C. Del lado de Puebla es templado subhúmedo, y frío a semifrío hacia la parte más alta (Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas, 2012).

Tres áreas fueron las de particular interés en el estudio, se encuentran justo afuera de la periferia del polígono correspondiente al Parque Nacional, y por consiguiente los tipos de vegetación y las especies que lo habitan no presentan ninguna diferencia (Fig. 6):

La primera área se georreferenció a 3285 msnm, en el borde del territorio de San Miguel Zoapan, a lo largo de un camino usado para subir la montaña y cerca de cultivos de haba y papa. Entre dichos cultivos y el camino hay una pequeña barranca alrededor de la cual se encuentran pinos y arbustos, particularmente azomiate (*Barkleyanthus salicifolius*). Aquí se encontraron poblaciones de las dos especies.

La segunda área, georreferenciada a 3431 msnm, se ubica en una oyamelera a la orilla del camino que sube a la montaña justo afuera del pueblo Miguel Hidalgo. Los oyameles alcanzan alturas mayores a 30 metros y la vegetación secundaria consiste de arbustos y pastizal de montaña. Aquí se encontró solo a *P. ocai*.

La tercera, a una altitud de alrededor de 3200 msnm, se encuentra en un área fuertemente perturbada, compuesta en su mayoría por parches de reforestación de pinos, y cerca de una barranca donde, dependiendo de la temporada, hay un flujo mínimo de agua desde la montaña. Se encuentra a las orillas del terreno que pertenece al pueblo Santa María del Aserradero. Aquí se observó únicamente a *P. maculatus*.

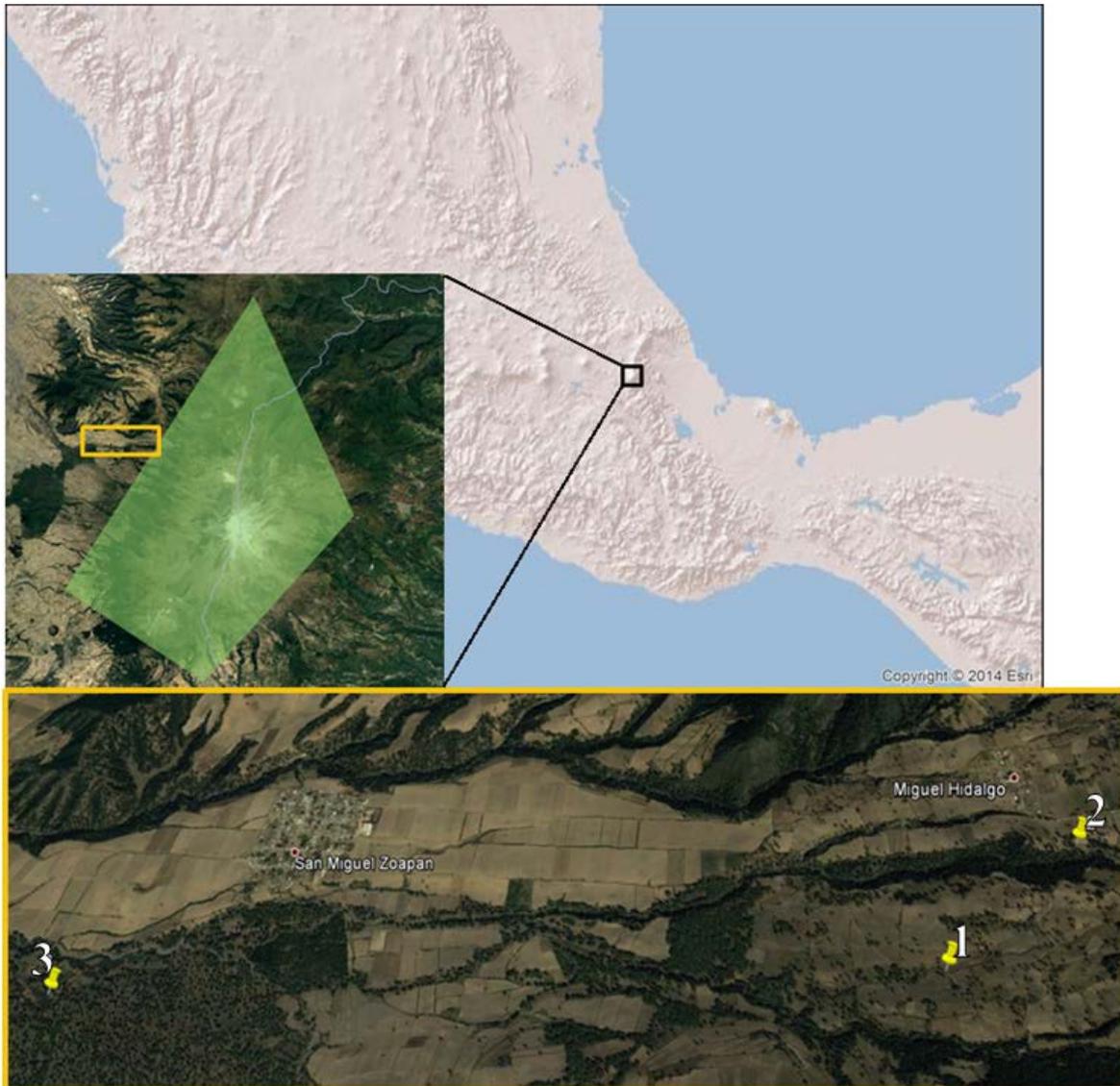


Figura 6.- Mapa mostrando el polígono del Parque Nacional con relación a México, y la ubicación de las tres áreas muestreadas. 1) Camino hacia Miguel Hidalgo, en el borde del área de San Miguel Zoapan. 2) Oyamelera a las a fueras del pueblo de Miguel Hidalgo. 3) Zona reforestada perteneciente a Santa María del Aserradero.

Obtención de datos

Grabación de cantos en campo

Se realizaron cuatro salidas al área de estudio, aprovechando la temporada reproductiva para que los machos cantaran constantemente: 1) del 29 de marzo al 5 de abril 2016, 2) del 14 al 19 de junio 2016, 3) del 27 de marzo al 2 de abril 2017 y 4) del 29 de mayo al 3 de junio 2017. Se exploraron los distintos tipos de vegetación en el área, y se ubicaron poblaciones de cada especie, así como poblaciones de ambas en simpatria. Fueron utilizados una grabadora Tascam DR-100 y un micrófono Senheiser ME67 sin parábola. Se identificaron las zonas en donde se encontraban individuos vocalizando constantemente, y se realizaron grabaciones en horarios de 7:00 a 13:00 horas y de 18:00 a 20:00 horas, tiempos en los que las aves mostraban mayor actividad. Cada día se visitaban las tres localidades, y cada grabación se mantenía durante aproximadamente 5 minutos, con el fin de economizar batería, o hasta que el ave detenía el canto. En caso de verse una reducción en actividad, se cambiaba a otra localidad.

Análisis de cantos

Repertorio del canto

Para la obtención del repertorio de los cantos, así como el análisis de la estructura de éstos, se convirtieron las grabaciones a formato .wav. Se observaron sonogramas de dichas grabaciones en el programa Raven Pro 1.5 (Bioacoustics research program, 2014) y se identificaron todas las vocalizaciones diferentes de cada especie mediante la observación de cada uno. El criterio utilizado fue que la composición de notas de cada canto fuera visiblemente diferente a los demás, en el orden o estructura de éstas. De igual forma se reconocieron los tipos de canto para cada especie. Las pautas utilizadas para la identificación de estos últimos fueron, si tenía las mismas notas (o sílabas muy similares) en el mismo orden. No se tomó en cuenta la omisión o adición de notas al principio o final, ya que esta variación es demasiado pequeña para ser categorizada de la misma manera que los demás cantos escuchados. Adicionalmente, se consideraron solo los cantos que el ave

claramente vocalizó varias veces en serie, pues es así como ambas especies realizan el canto (Ewert y Kroodsmá, 1994; Sosa-López y Mennill, 2014). Con el fin de comparar los repertorios de cada especie en las dos localidades en las que se encontraba presente cada una, se categorizaron los cantos de acuerdo con la especie y la localidad, de manera que se aisló el total de cantos emitido por los individuos de cada sitio. Estas cifras no representan el repertorio de un solo individuo, sino a las poblaciones de cada localidad.

Estructura del canto

Posteriormente, para determinar la estructura y complejidad de los cantos en función de las frecuencias que alcanzan, a cada canto se le analizaron diversas variables estándar, con el propósito de encontrar si alguna es responsable de mayor variación entre las localidades en cada especie: 1) frecuencia máxima, 2) frecuencia mínima, 3) ancho de banda, 4) duración del canto, 5) total de frases, 6) pico de frecuencia y 7) entropía agregada. Se obtuvieron medias de todos los valores para cada variable, que funcionaron para tener un estimado previo a los análisis de cómo varían las características del canto en cada especie.

Después de observar todos los cantos grabados, se clasificaron las sílabas en distintas categorías en función de cuántas notas las componían, qué tan complejas eran éstas y su duración. También se clasificaron los diferentes trinos observados, usando como criterio la complejidad de las notas que los componían y la velocidad a la que eran emitidas.

Playback

Con el propósito de determinar el posible cambio en la estructura y repertorio de cada especie ante la hipotética presencia de individuos conespecíficos o heteroespecíficos, se realizaron playbacks de cantos de ambas especies en cada localidad. Se utilizaron cantos grabados en San Miguel Zoapan para exponer las poblaciones en las tres localidades a manera de playback. Se realizó una serie para cada especie, cada una compuesta por tres cantos y con una duración de aproximadamente tres minutos (Figs. 7 y 8). Cada canto sonaba constantemente durante un minuto antes de pasar al siguiente, con intervalos

intentando imitar la producción normal de cantos del ave. Se usaron las dos series de cantos en cada localidad, aunque para evitar la adecuación de las aves y cualquier posible cambio en la respuesta no se repitió el mismo playback más de una vez por día en cada localidad, ni se usaron los dos playbacks en cada una sin un lapso de varias horas entre cada uno. Para la reproducción del playback, se esperaba tres minutos en silencio en el área antes de comenzar la serie de cantos, y se comenzaba a grabar en ese momento, continuando durante tres minutos después de terminado el playback, para un total de nueve minutos por cada grabación con playback. Este método ha sido propuesto por Ratcliffe y Grant (1985), Laiolo (2012) y Benites et al. (2014). Al igual que con los cantos naturales, se identificaron visualmente todos los cantos nuevos escuchados en Raven Pro 1.5 y se categorizaron por especie, localidad y playback usado en el momento en que fueron escuchados.

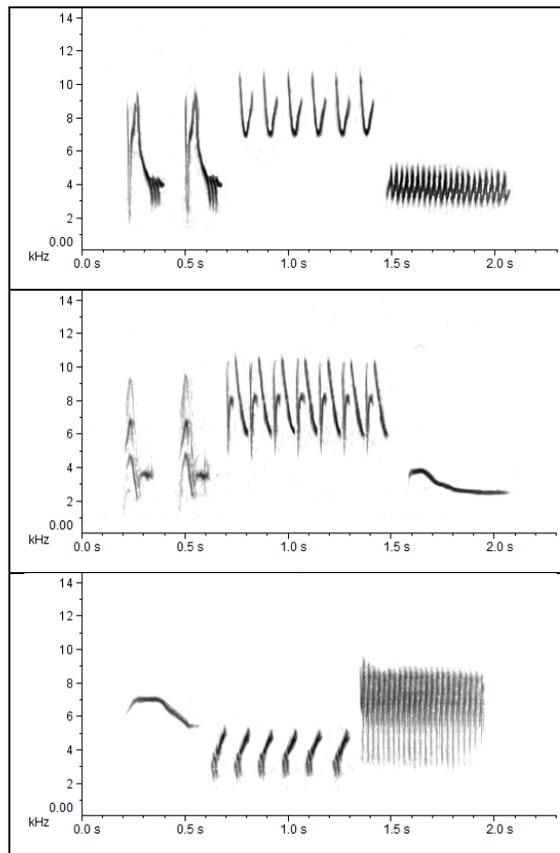


Figura 7.- Cantos utilizados en la serie de playback de *P. ocai*.

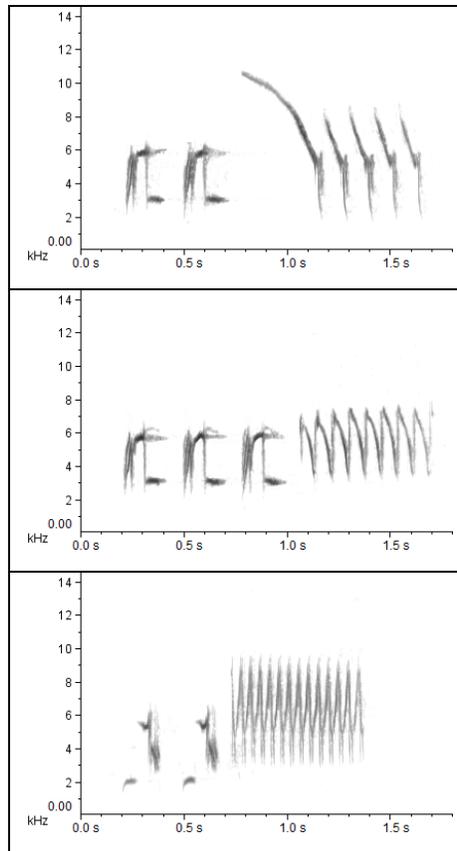


Figura 8.- Cantos utilizados en la serie de playback de *P. maculatus*.

Se tomaron las mismas siete características del canto y se obtuvieron las medias, además de identificarse nuevos tipos de sílabas y trinos.

Análisis estadísticos

Para los cantos naturales y aquellos grabados con uso de playback, se realizaron diagramas de caja y bigote en el software Statistica (StatSoft, 2004). Esto se llevó a cabo para cada una de las variables (con excepción del total de frases, dado que solo se contaba con tres valores distintos en esta categoría), con el fin de observar el grado de traslape entre las especies, además de la variación entre las poblaciones simpátricas. Adicionalmente, este método sirvió como filtro para ubicar cantos cuyas frecuencias eran diferentes. Dichos cantos fueron excluidos, pues la disimilitud sugería que se podía tratar de otra especie con cantos similares.

Para identificar si las diferentes variables del canto examinadas presentaban variación en alguna de las dos especies (ver Tabla 1) en el software Past (Hammer et al., 2001), se realizaron pruebas de Kolmogorov-Smirnov mediante diferentes comparaciones. Se eligió esta prueba no paramétrica debido a que el tamaño de muestra es pequeño en algunas situaciones, con lo cual los datos no son normales, además de que aumenta la probabilidad de diferencias en la forma de la distribución) (ver Tabla 1):

Tabla 1.- Pruebas Kolmogorov-Smirnov que fueron realizadas para comparar la estructura del canto.

1	<i>P. ocai</i> en Miguel Hidalgo y San Miguel Zoapan.
2	<i>P. maculatus</i> en Santa María del Aserradero y San Miguel Zoapan.
3	<i>P. ocai</i> y <i>P. maculatus</i> en San Miguel Zoapan.
4	<i>P. ocai</i> en Miguel Hidalgo y <i>P. maculatus</i> en Santa María del Aserradero.
5	<i>P. ocai</i> y <i>P. maculatus</i> ante playback de <i>P. ocai</i> en San Miguel Zoapan.
6	<i>P. ocai</i> y <i>P. maculatus</i> ante playback de <i>P. maculatus</i> en San Miguel Zoapan.
7	<i>P. ocai</i> ante playback de ambas especies en San Miguel Zoapan.
8	<i>P. maculatus</i> ante playback de ambas especies en San Miguel Zoapan.
9	<i>P. maculatus</i> en San Miguel Zoapan y Santa María del Aserradero, ante playback de <i>P. maculatus</i> .
10	<i>P. maculatus</i> en San Miguel Zoapan y Santa María del Aserradero, ante playback de <i>P. ocai</i> .
11	<i>P. ocai</i> en San Miguel Zoapan y Miguel Hidalgo, ante playback de <i>P. ocai</i> .
12	<i>P. maculatus</i> ante playback de <i>P. ocai</i> y <i>P. maculatus</i> en Santa María del Aserradero.

No se pudieron realizar pruebas estadísticas que involucraran la respuesta de *P. ocai* a *P. maculatus* en Miguel Hidalgo, pues no se obtuvo respuesta en dicha localidad.

Como continuación a los análisis previos, se utilizaron las características anteriormente mencionadas para realizar análisis de discriminantes en SPSS Statistics (IBM Corp., 2017), y así observar cómo el software clasifica los cantos con base en las características examinadas. Se realizó uno con los cantos naturales y otro incluyendo los cantos en respuesta a playback.

RESULTADOS

Repertorio de cantos naturales y en respuesta a playback

Se obtuvieron 72 grabaciones previamente a la realización de los experimentos de playback, de los cuales 37 fueron de *P. ocai* y 35 de *P. maculatus*. Las grabaciones fueron almacenadas para su posterior integración y curación a la Biblioteca de Sonidos Naturales del Museo de Zoología de la Facultad de Ciencias de la UNAM (<http://biologia.fciencias.unam.mx/BSAMZFC/BZAMZFC.htm>).

De las muestras obtenidas en las grabaciones realizadas en las salidas de 2016, las poblaciones de *P. ocai* demostraron tener un repertorio mayor, con 36 cantos distintos grabados contra 21 de *P. maculatus* (Figs. 9 y 10). Durante los experimentos de playback, ambas especies emitieron varios cantos que no habían sido escuchados previamente, con un total de 30 cantos nuevos, de los cuales 16 fueron de *P. ocai* y 14 de *P. maculatus*. Si se agregan estos cantos, el repertorio de poblaciones de *P. ocai* queda con 52 cantos y el de *P. maculatus* con 35.

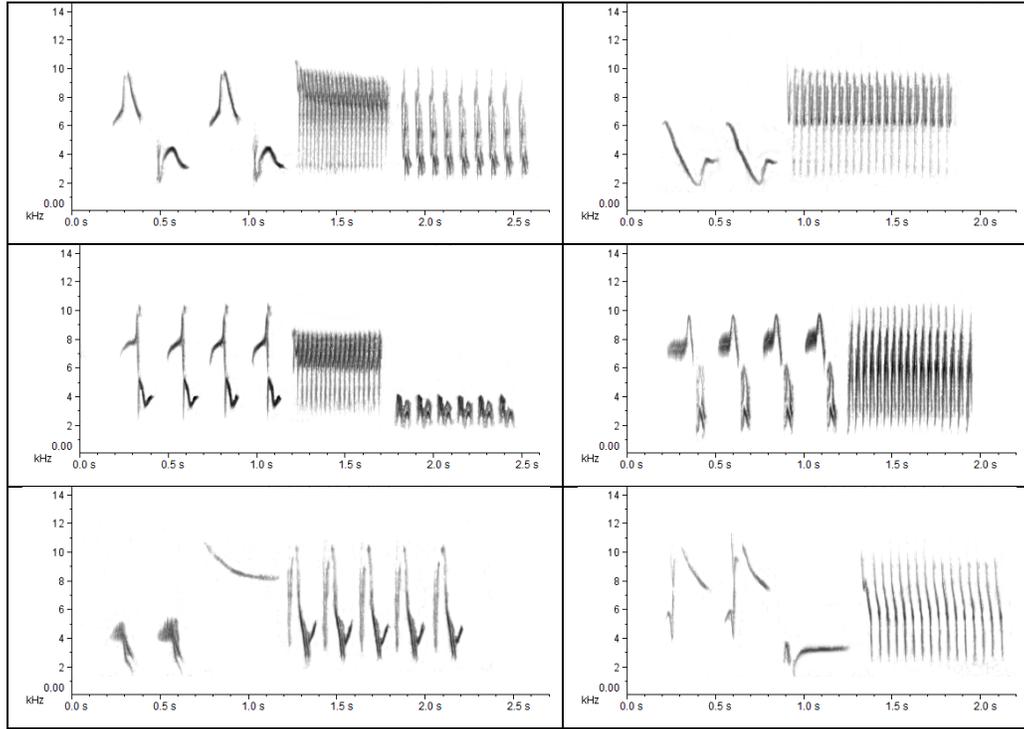


Figura 9.- Ejemplos de los diversos cantos de *P. ocai*.

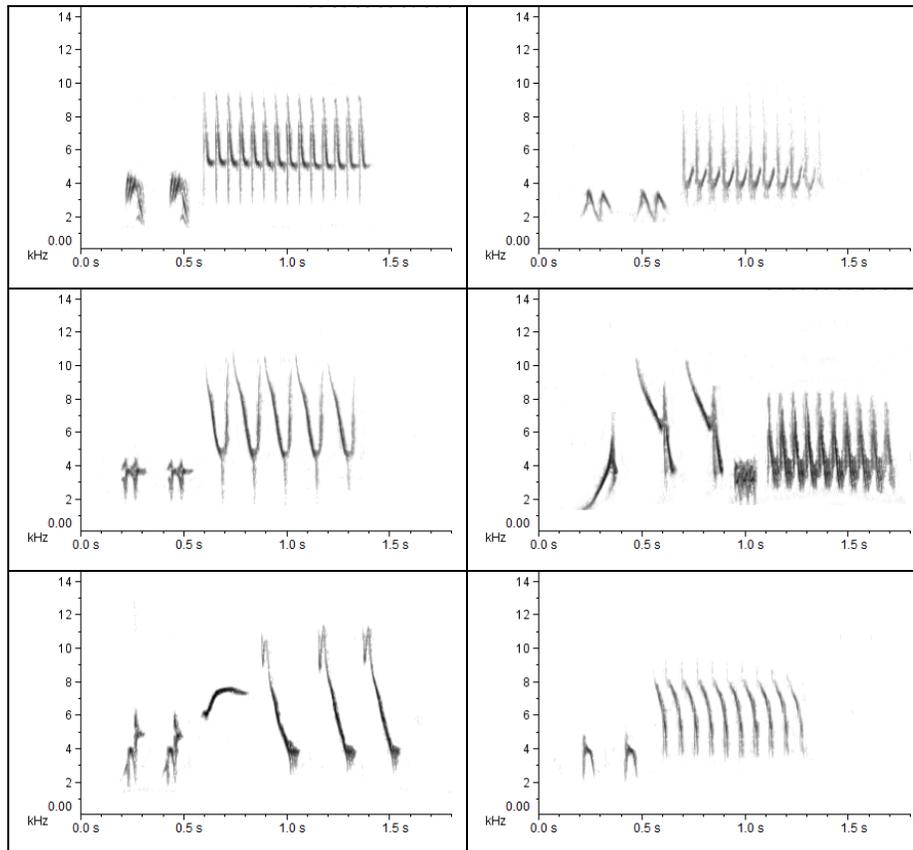


Figura 10.- Ejemplos de los diversos cantos de *P. maculatus*.

Tomando en cuenta todos los cantos, incluidos los de los experimentos de playback, San Miguel Zoapan fue donde se escucharon más cantos, y dado que en esta localidad se encontraban ambas especies, estos resultados no fueron inesperados. Se grabaron un total de 30 naturales y 50 incluyendo respuesta al playback. En ambos casos la mayoría (22 y 33 respectivamente) son de *P. ocai*. En Miguel Hidalgo se obtuvieron 20 cantos naturalmente, y 25 con playback. Santa María del Aserradero tuvo 17 cantos naturales y 21 al agregarse el resultado del playback (Fig. 10). Las poblaciones que no se encuentran en contacto (Miguel Hidalgo y Santa María del Aserradero) demostraron tener casi el mismo número de cantos, y San Miguel Zoapan es en donde ambas especies tuvieron mayores diferencias en la cantidad de vocalizaciones.

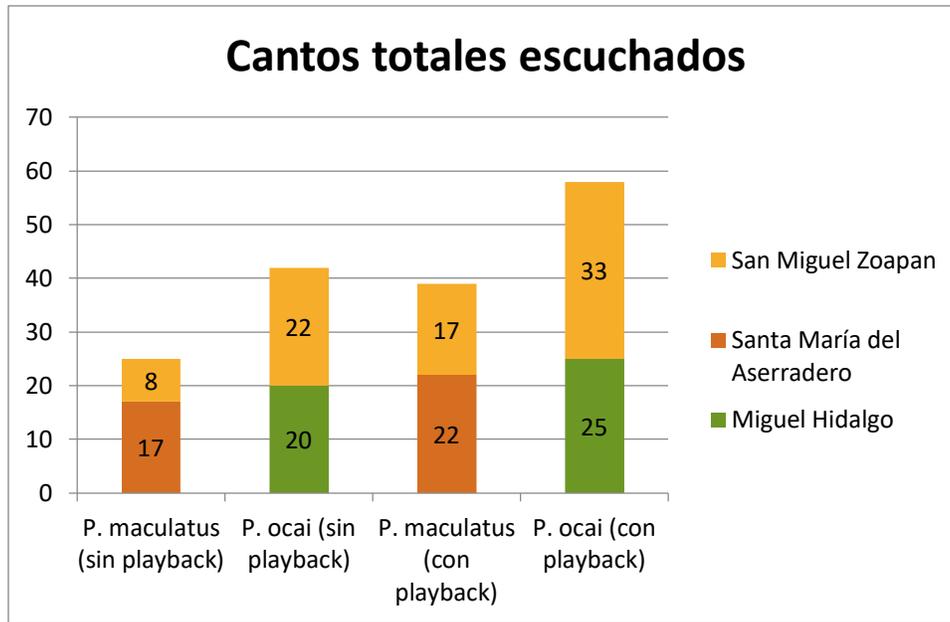


Figura 11.- Número de cantos obtenidos en cada localidad por especie.

Si se cuentan los cantos que fueron grabados exclusivamente en una localidad, se puede apreciar que el número de cantos emitido por ambas especies en las áreas donde se encontraban de manera independiente sus poblaciones es casi el mismo, con o sin incluir los que se obtuvieron como respuesta al playback: 14 cantos de *P. ocai* en Miguel Hidalgo y 13 de *P. maculatus* en Santa María del Aserradero, cifras que aumentan a 19 y 18 respectivamente al sumarse los cantos obtenidos al usar playback. Sin embargo, se puede ver que los cantos exclusivos varían considerablemente en comparación con las demás localidades. Se identificaron 17 de *P. ocai*, pero solo 4 para *P. maculatus* (Fig. 10). Al añadirse los cantos producidos en respuesta a playback, los números aumentan a 28 de *P. ocai* y 13 de *P. maculatus*.

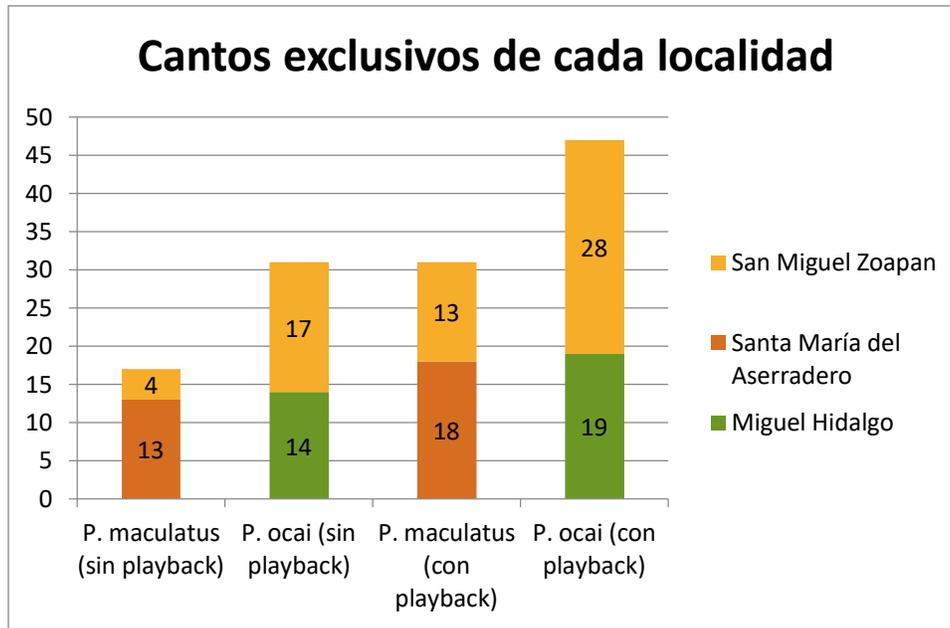


Figura 12.- Número de cantos grabados exclusivamente en una localidad.

Se contaron cuatro tipos de canto diferentes para *P. maculatus*: dos de ellos fueron en Santa María del Aserradero, sin estímulo artificial previo, y dos en San Miguel Zoapan respondiendo al playback de su misma especie. No se reconocieron tipos de canto de *P. maculatus* en ninguna otra situación.

Para *P. ocai* se contaron nueve tipos de canto. Previo al uso de playback, se contaron dos en Miguel Hidalgo y tres en San Miguel Zoapan. En respuesta a playback de su misma especie fueron identificados tres en Miguel Hidalgo y uno en San Miguel Zoapan. En respuesta a *P. maculatus* únicamente se contó uno en San Miguel Zoapan.

Estructura de cantos naturales y en respuesta a playback

La estructura de los cantos en las dos especies mostró ser considerablemente distinta, aunque hay ciertos cantos de ambas que tienen estructuras similares. En ambas especies, están compuestos por dos, tres o cuatro frases.

La mayoría de los cantos de *P. maculatus* siguen una estructura fija: 80% de éstos constan de dos frases (se tomaron en cuenta todas las vocalizaciones distintas con

excepción del llamado), que consisten en dos sílabas introductorias, seguidas de un trino que puede variar en velocidad (Fig. 11). Esta especie tuvo pocos tipos de canto, pero todos siguieron esta estructura común. Adicionalmente, *P. maculatus* tuvo un tipo de canto en particular que fue representado por más cantos que ningún otro en las dos especies.

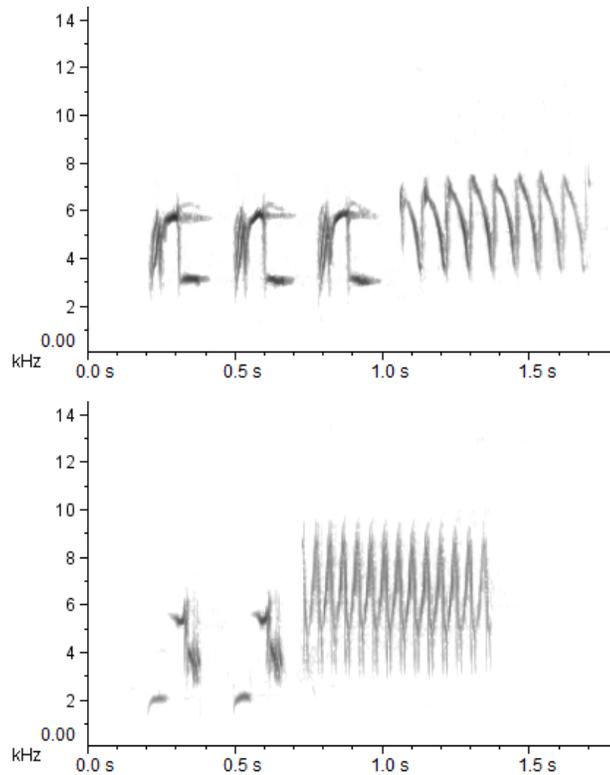


Figura 13.- Los tipos de canto en *P. maculatus* todos presentaron la misma estructura, aunque como puede distinguirse, las sílabas introductorias pueden variar entre dos o tres.

Por otro lado, los cantos de *P. ocai* no muestran una estructura fija tan evidente como en *P. maculatus* (Fig. 12), y presentan más variación: 57.7% consisten de tres frases y 38.4% de dos frases. Estos porcentajes representan todas las vocalizaciones distintas exceptuando los llamados. Hay dos estructuras similares que fueron frecuentemente observadas en los cantos con tres frases: dos tipos de sílabas introductorias seguidas por una frase o un tipo de sílaba introductoria seguida de dos frases diferentes; esto, evidentemente, contribuye a que los cantos de *P. ocai* tengan una mayor duración que los de *P. maculatus*. Los tipos de canto tienen en general dos estructuras: una de ellas es una o más sílabas seguidas de una frase (esta estructura se presenta en dos de siete tipos de canto)

(Fig. 14a); la otra es una sílaba introductoria, seguida por otras sílabas diferentes, y una frase (trino) al final (presente en cinco de siete tipos de canto) (Fig. 14b).

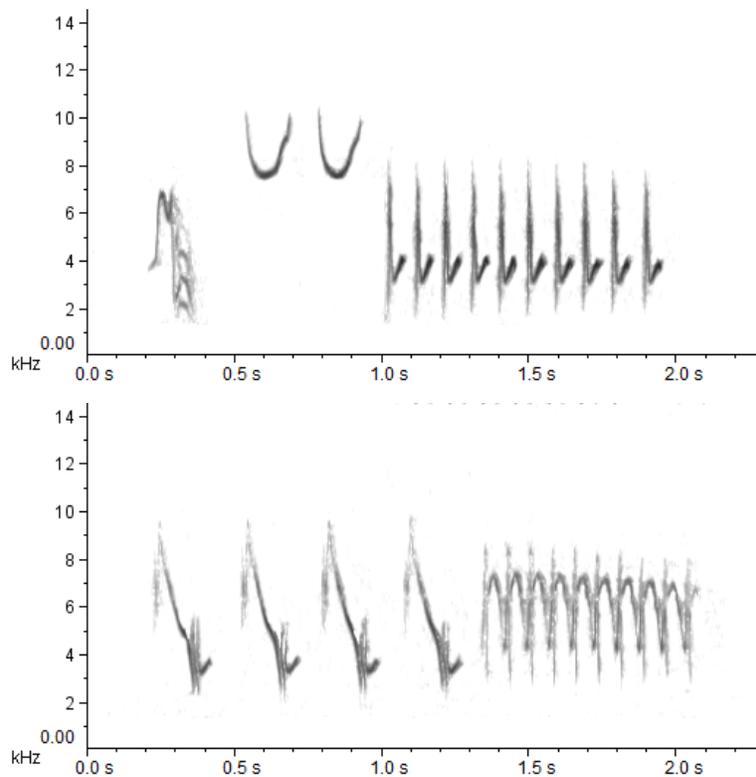


Figura 14.- Los dos tipos de canto escuchados en *P. ocai*: el número de sílabas distintas antes de la frase final varía.

La forma en que vocalizan ambas especies consiste en la producción de un mismo canto varias veces antes de introducir uno nuevo, el cual repetirán de la misma manera, o en ocasiones alternarse repitiendo dos cantos.

La mayoría de los cantos de ambas especies se encuentran en un rango entre 1,000 y 11,000 Hz (89.8% en *P. ocai* y 86.4% en *P. maculatus*), y tienen una duración aproximada entre uno y dos segundos (82.4% del total en *P. ocai* y 79.8% en *P. maculatus* para esto último). *P. maculatus* mostró tener variación en la estructura del canto, aunque por un margen muy ligero, en las frecuencias que éstos alcanzan, con un extremo menor de 934.1 Hz (contra 996.1 Hz de *P. ocai*) y un extremo mayor de 11885.1 Hz (contra 11585.6 Hz). Observando las medias de las distintas variables, la frecuencia mínima de ambas especies incrementa considerablemente en respuesta a los cantos de playback (ver Tabla 2). Sin

embargo, las frecuencias máximas fueron mayores en *P. ocai*, así como también el ancho de banda. Las medias más altas de duración y número de frases para esta especie se deben a que, en comparación con *P. maculatus*, *P. ocai* tiene un mayor porcentaje de cantos compuestos por tres o cuatro frases. Las medias del pico de frecuencia no muestran un patrón concreto, pero muestran frecuencias similares, al igual que las cifras para entropía agregada (ver Tabla 2).

Tabla 2.- Medias de las variables tomadas para cada canto.

Especie	Localidad	Playback usado	Frecuencia mínima	Frecuencia máxima	Ancho de banda	Duración	Número de frases	Pico de frecuencia	Entropía agregada
<i>P. maculatus</i>	SMZ	Ninguno	1285.09	9679.61	8394.52	1.14	2.22	4250.03	4.92
<i>P. maculatus</i>	SMZ	<i>P. maculatus</i>	1798.26	8791.92	6993.67	1.10	2	4364.59	5.03
<i>P. maculatus</i>	SMZ	<i>P. ocai</i>	1765.55	8983.72	7218.17	1.08	2.08	4039.07	5.01
<i>P. maculatus</i>	SMA	Ninguno	1721.62	10323.48	8350.77	1.27	2.26	4832.86	4.95
<i>P. maculatus</i>	SMA	<i>P. maculatus</i>	2013.60	10114.56	8100.95	1.19	2.24	4772.33	4.93
<i>P. maculatus</i>	SMA	<i>P. ocai</i>	1865.42	10204.30	8338.88	1.08	2.17	4375	4.81
<i>P. ocai</i>	SMZ	Ninguno	1545.64	10500.08	8954.44	1.84	2.79	4489.61	4.94
<i>P. ocai</i>	SMZ	<i>P. maculatus</i>	1714.25	9884.90	8170.65	1.59	2.33	4237.48	4.95
<i>P. ocai</i>	SMZ	<i>P. ocai</i>	1774.43	9958.11	8183.68	1.76	2.85	4645.31	4.87
<i>P. ocai</i>	MH	Ninguno	1626.95	10584.02	8957.07	1.70	2.71	4375	5
<i>P. ocai</i>	MH	<i>P. maculatus</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. ocai</i>	MH	<i>P. ocai</i>	2036.23	10651.53	8615.30	1.77	2.43	4218.74	4.96

El llamado de ambas especies es muy similar, y consiste de una vocalización corta parecida a un silbido. Al observar el sonograma se pueden ver diferencias en la estructura, el llamado de *P. ocai* es en particular más agudo (Figs. 13 y 14).

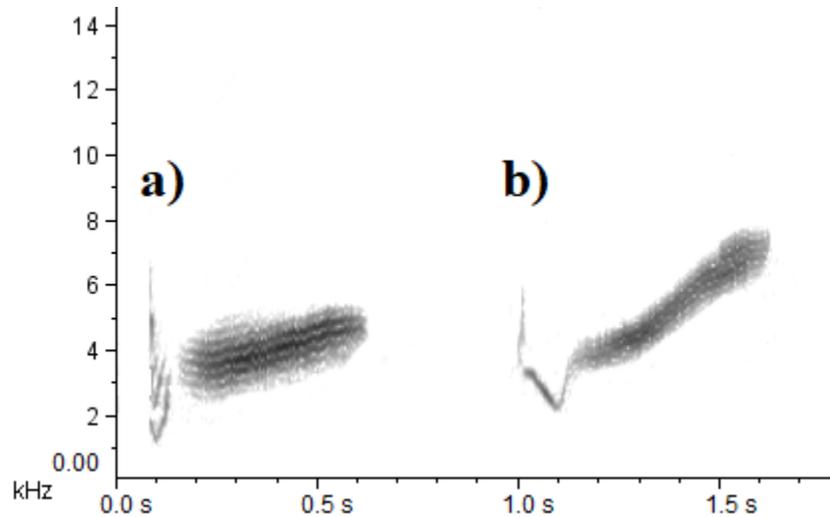


Figura 15.- Vista espectral de un llamado de *P. ocai*.

Se identificaron ocho tipos de sílabas distintas en el canto de las dos especies, y cinco tipos de trino. Las sílabas se clasificaron en notas sencillas (Fig. 15a), sílabas cortas complejas (Fig. 15b), sílabas cortas nasales (Fig. 15c), sílabas con dos o más notas cortas (Fig. 15d), sílabas con una nota larga (Fig. 15e), sílabas con dos o más notas (con al menos una larga) (Fig. 15f), sílabas con transición de sonidos (Fig. 15g); y sílabas con modulación rápida (Fig. 15h). Las categorías para los trinos fueron trinos de una nota (Fig. 16a), trinos de dos o más notas (Fig. 16b), trinos con notas en forma de flecha (Fig. 16c), trinos de sílabas con modulación rápida (Fig. 16d); y trinos de notas complejas (Fig. 16e).

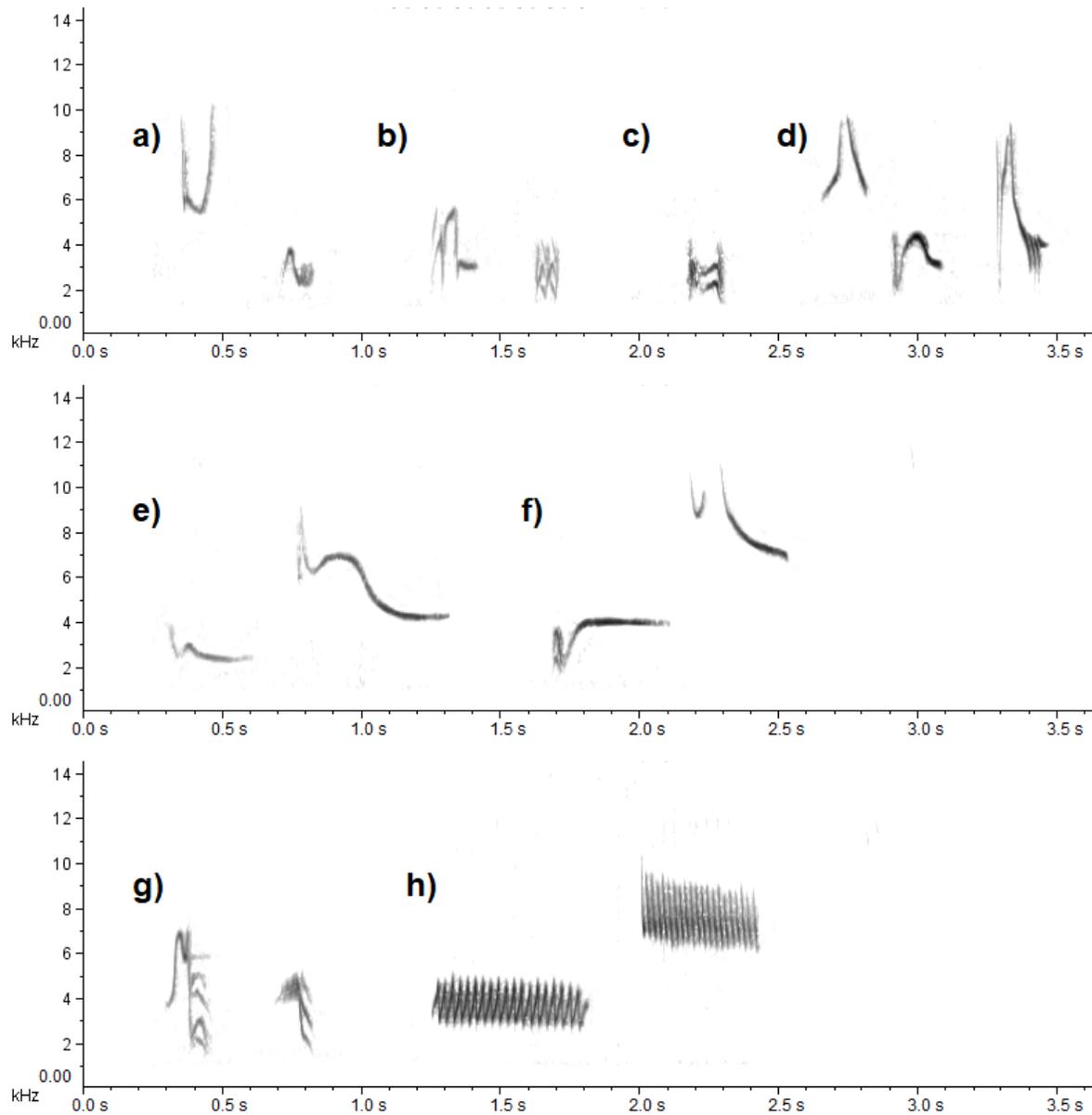


Figura 16.- Sonogramas mostrando ejemplos de los ocho tipos de sílabas identificadas en los cantos de las especies.

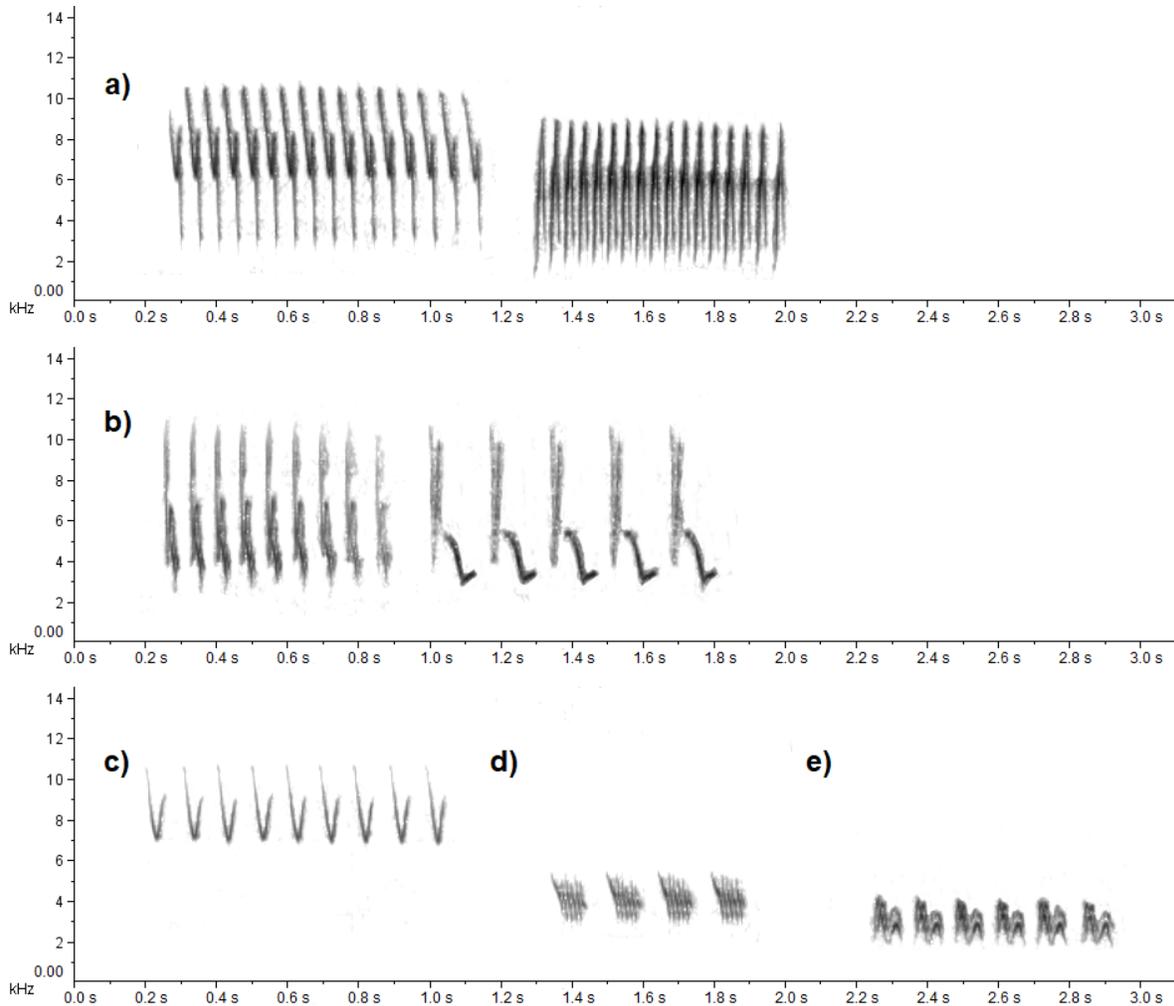


Figura 17.- Sonogramas mostrando ejemplos de los cinco tipos de trinos identificados en los cantos de las especies.

Los cantos de *P. ocai* presentaron más variedad de estos elementos que los de *P. maculatus*, presentando todos los tipos nombrados anteriormente. El canto natural en Miguel Hidalgo y la respuesta al playback de su misma especie en San Miguel Zoapan fueron los dos casos con más diversidad de estos componentes. Los cantos de *P. maculatus* exhibieron cinco tipos de sílabas y tres trinos, y se encontró mayor variedad en Santa María del Aserradero con el uso de playback de *P. ocai*. Las sílabas de notas sencillas, sílabas con dos notas cortas y los trinos de una o dos notas fueron escuchadas en todas las localidades y registrados en casi todos los casos para las dos especies. Los cantos de *P. maculatus* mostraron una ausencia de sílabas con notas largas, que a su vez fueron comunes en *P. ocai*, así como una mayor abundancia de notas complejas. Los trinos de sílabas con

modulación rápida y trinos de sílabas complejas fueron las únicas categorías exclusivas de los cantos en respuesta al playback (ver Tablas 3 y 4).

Tabla 3.- Tipos de sílabas y trinos en los cantos de *P. ocai* escuchados. sns: notas sencillas; scc: sílabas cortas complejas; scn: sílabas cortas nasales; s2nc: sílabas con dos o más notas cortas; snl: sílabas con una nota larga; s2nl: sílabas con dos o más notas (con al menos una larga); sts: sílabas con transición de sonidos; smr: sílabas con modulación rápida; t1n: trinos de una nota; t2n: trinos de dos o más notas; tnf: trinos con notas en forma de flecha; tnr: trinos de sílabas con modulación rápida; tnc: trinos de notas complejas; MH: Miguel Hidalgo; SMZ: San Miguel Zoapan.

Tipo de nota o trino	MH (sin playback)	MH (playback <i>P. maculatus</i>)	MH (playback <i>P. ocai</i>)	SMZ (sin playback)	SMZ (playback <i>P. maculatus</i>)	SMZ (playback <i>P. ocai</i>)
sns	X		X	X	X	X
scc	X		X			
scn	X					
s2nc	X			X	X	X
snl	X		X	X	X	X
s2nl	X			X	X	X
sts						X
smr	X		X			X
t1n	X			X	X	X
t2n	X		X	X	X	X
tnf	X			X		X
tnr						X
tnc						X

Tabla 4.- Tipos de sílabas y trinos en los cantos de *P. maculatus* escuchados. sns: notas sencillas; scc: sílabas cortas complejas; scn: sílabas cortas nasales; s2nc: sílabas con dos o más notas cortas; snl: sílabas con una nota larga; sílabas con modulación rápida; t1n: trinos de una nota; t2n: trinos de dos o más notas; MH: Miguel Hidalgo; SMZ: San Miguel Zoapan.

Tipo de nota o trino	SMA (sin playback)	SMA (playback <i>P. maculatus</i>)	SMA (playbacks <i>P. ocai</i>)	SMZ (sin playback)	SMZ (playback <i>P. maculatus</i>)	SMZ (playback <i>P. ocai</i>)
sns	X	X	X		X	
scc	X	X	X	X	X	X
scn						X
s2nc	X	X	X	X	X	
snl			X			
smr	X	X				
t1n	X	X	X	X	X	X
t2n	X	X	X	X	X	X

El diagrama de caja y bigote de la frecuencia mínima muestra ser menos significativo en comparación con los de las demás variables (Fig. 18), pues el rango de frecuencias es muy similar en todas las localidades, y solamente en los cantos naturales se observa una variación clara en *P. maculatus* en San Miguel Zoapan, que se debe principalmente al limitado tamaño de la muestra en dicha localidad.

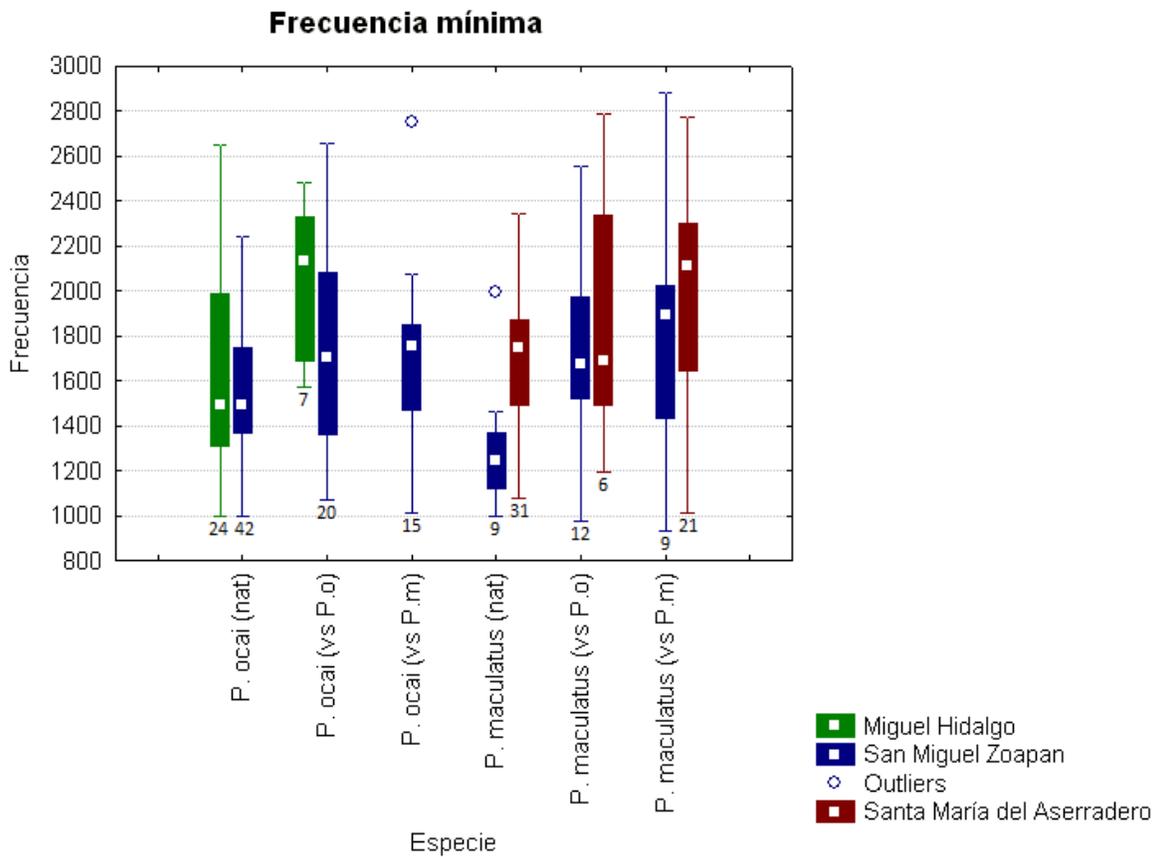


Figura 18.- Diagramas de caja y bigote representando la frecuencia mínima de los cantos por especie y localidad, así como las condiciones en que se emitió el canto (nat = natural, vs P.o = en respuesta a playback de *P. ocai*, vs P.m = en respuesta a playback de *P. maculatus*). El tamaño de muestra se presenta bajo cada diagrama.

El diagrama de la frecuencia máxima mostró ser más significativo (Fig. 19). En todos los casos, el rango de frecuencia de la población de *P. maculatus* en San Miguel Zoapan difirió del de la población en Santa María del Aserradero, y mostró alcanzar frecuencias inferiores. Asimismo, se observa que el rango de frecuencia de *P. maculatus* es ligeramente más amplio.

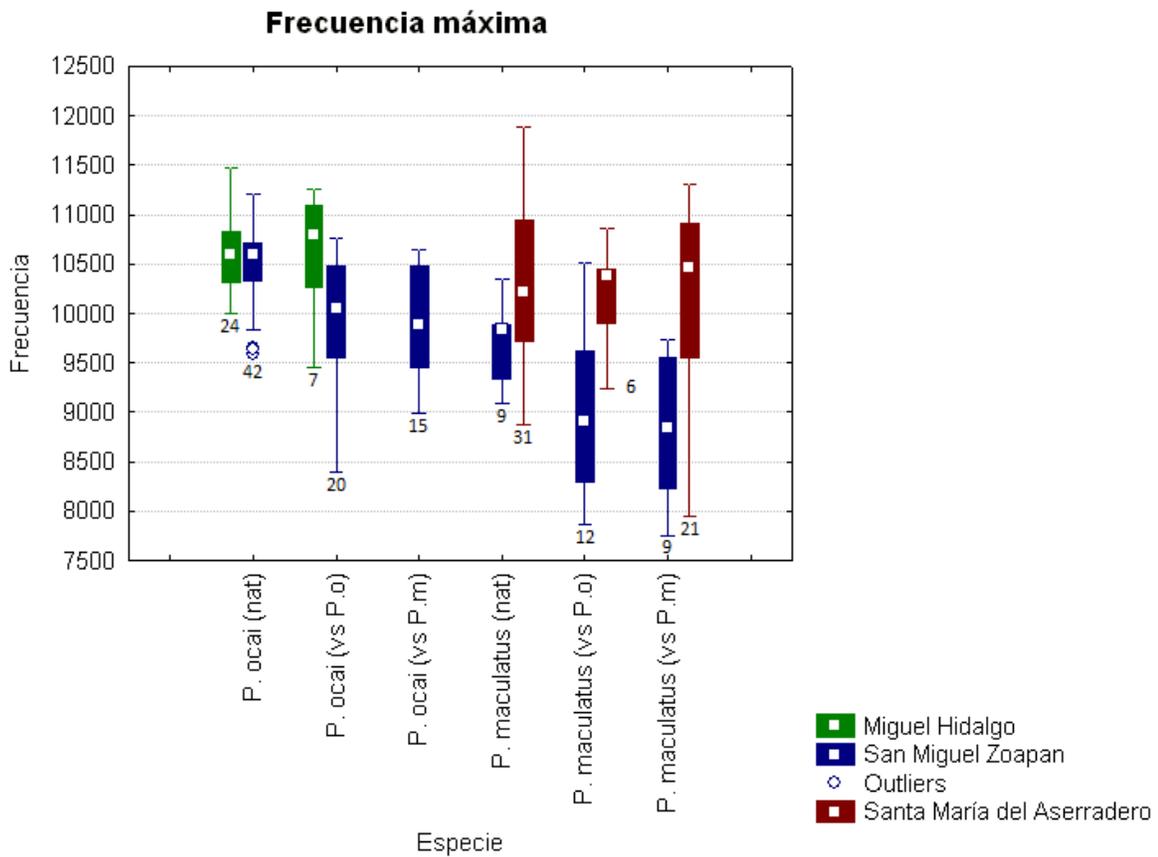


Figura 19.- Diagramas de caja y bigote representando la frecuencia máxima de los cantos por especie y localidad, así como las condiciones en que se emitió el canto (nat = natural, vs P.o = en respuesta a playback de *P. ocai*, vs P.m = en respuesta a playback de *P. maculatus*). El tamaño de muestra se presenta bajo cada diagrama.

En el diagrama de ancho de banda (Fig. 20) se aprecia que el rango de frecuencias de *P. maculatus*, al igual que en los resultados de frecuencia máxima, es ligeramente mayor al de *P. ocai*, y las respuestas al playback en San Miguel Zoapan alcanzan también frecuencias más bajas en comparación con las de las demás localidades.

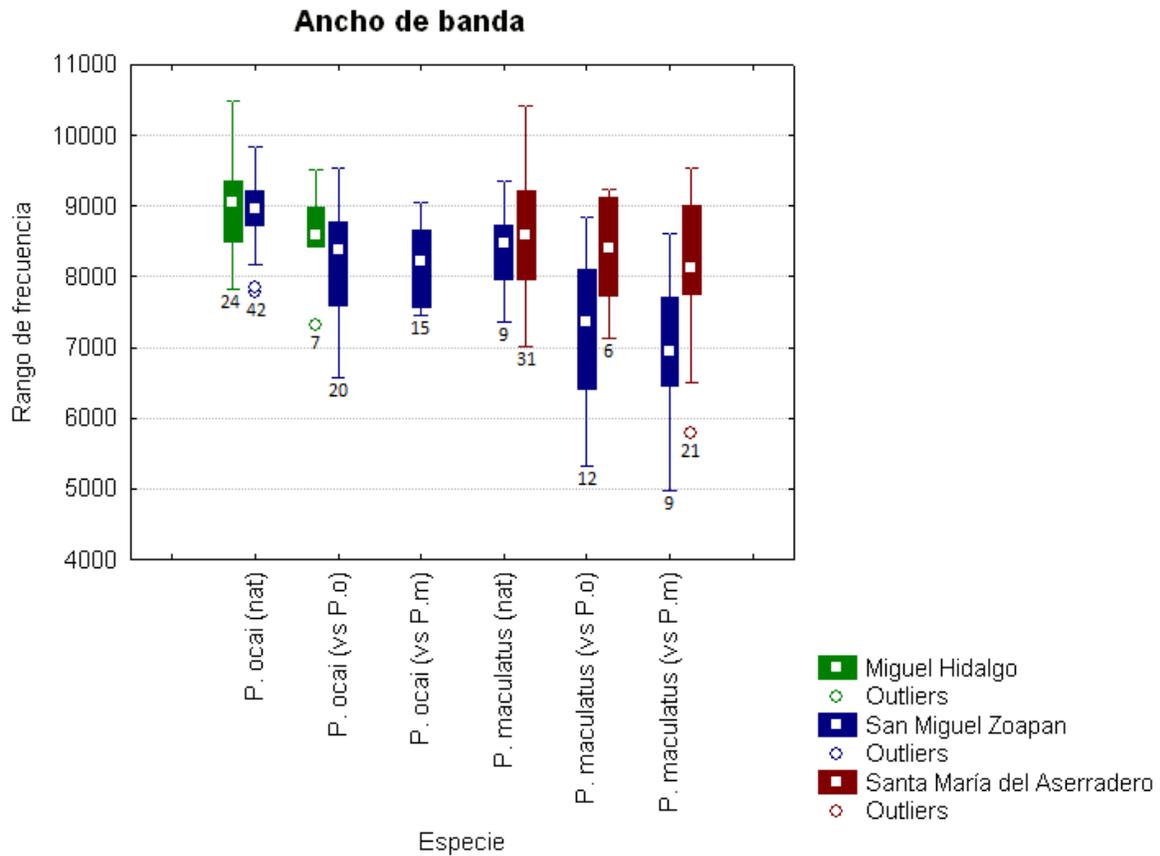


Figura 20.- Diagramas de caja y bigote representando el ancho de banda de los cantos por especie y localidad, así como las condiciones en que se emitió el canto (nat = natural, vs P.o = en respuesta a playback de *P. ocai*, vs P.m = en respuesta a playback de *P. maculatus*). El tamaño de muestra se presenta bajo cada diagrama.

El diagrama de la duración de los cantos (Fig. 21) refleja que, en general, los cantos de *P. maculatus* son de menor duración que los de *P. ocai*, y que en San Miguel Zoapan los cantos de *P. ocai* en respuesta a la otra especie alcanzaron el mayor rango de duración, así como los valores más extremos.

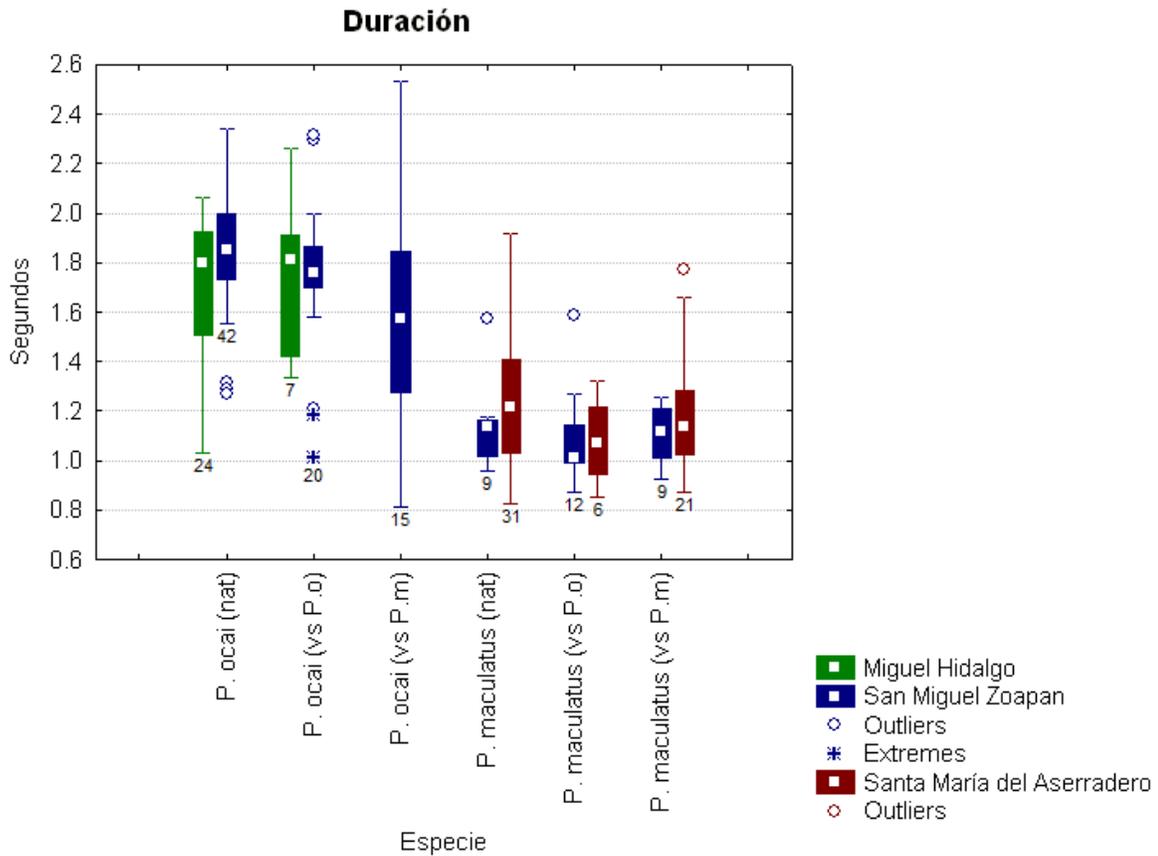


Figura 21.- Diagramas de caja y bigote representando la duración de los cantos por especie y localidad, así como las condiciones en que se emitió el canto (nat = natural, vs P.o = en respuesta a playback de *P. ocai*, vs P.m = en respuesta a playback de *P. maculatus*). El tamaño de muestra se presenta bajo cada diagrama.

Los resultados del diagrama del pico de frecuencia (Fig. 22) mostraron ser menos significativos, pues hay traslape en prácticamente todas las localidades. Sin embargo, los valores de los cantos en San Miguel Zoapan tienen mayor similitud, a pesar de tratarse de especies diferentes, en comparación con las diferencias entre las otras dos localidades.

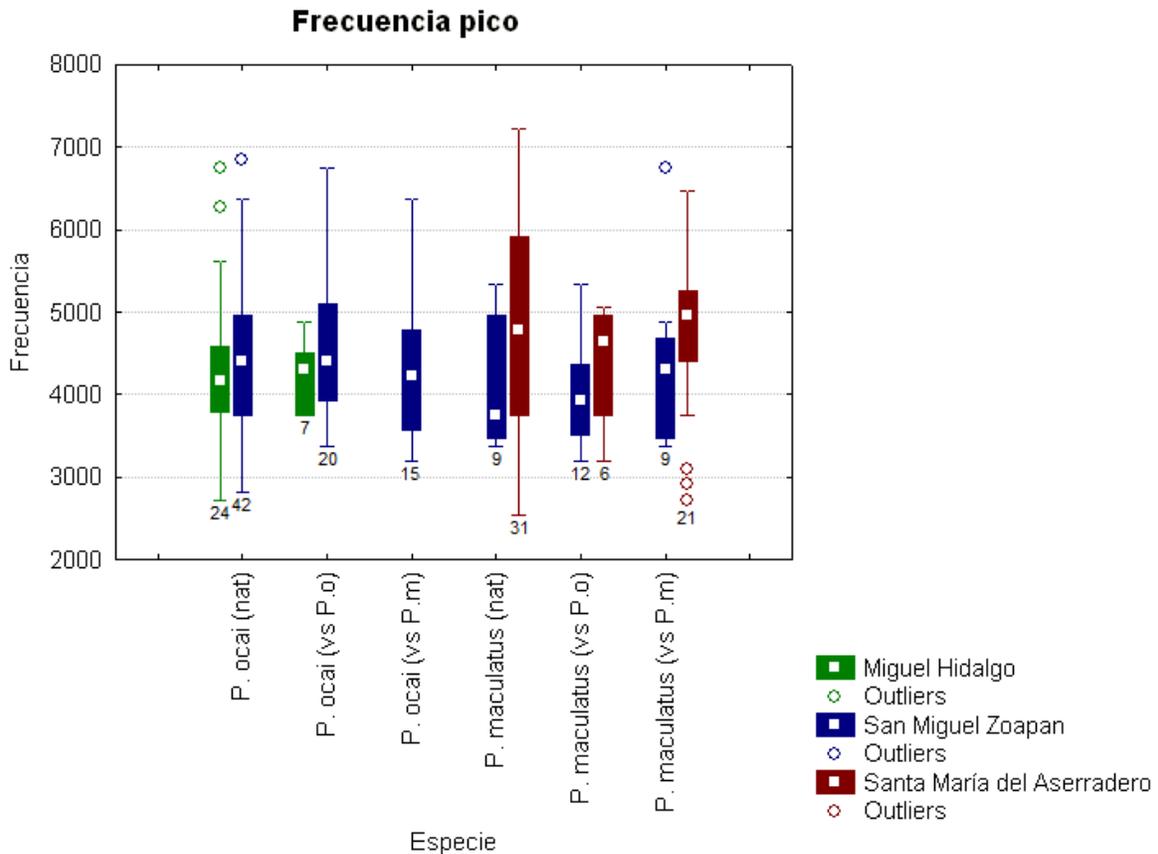


Figura 22.- Diagramas de caja y bigote representando la frecuencia pico de los cantos por especie y localidad, así como las condiciones en que se emitió el canto (nat = natural, vs P.o = en respuesta a playback de *P. ocai*, vs P.m = en respuesta a playback de *P. maculatus*). El tamaño de muestra se presenta bajo cada diagrama.

El diagrama de la entropía agregada (Fig. 23) mostró traslape prácticamente total en todos los casos, lo cual indica que ésta es la variable que presenta menor variación, y por lo tanto es poco significativa.

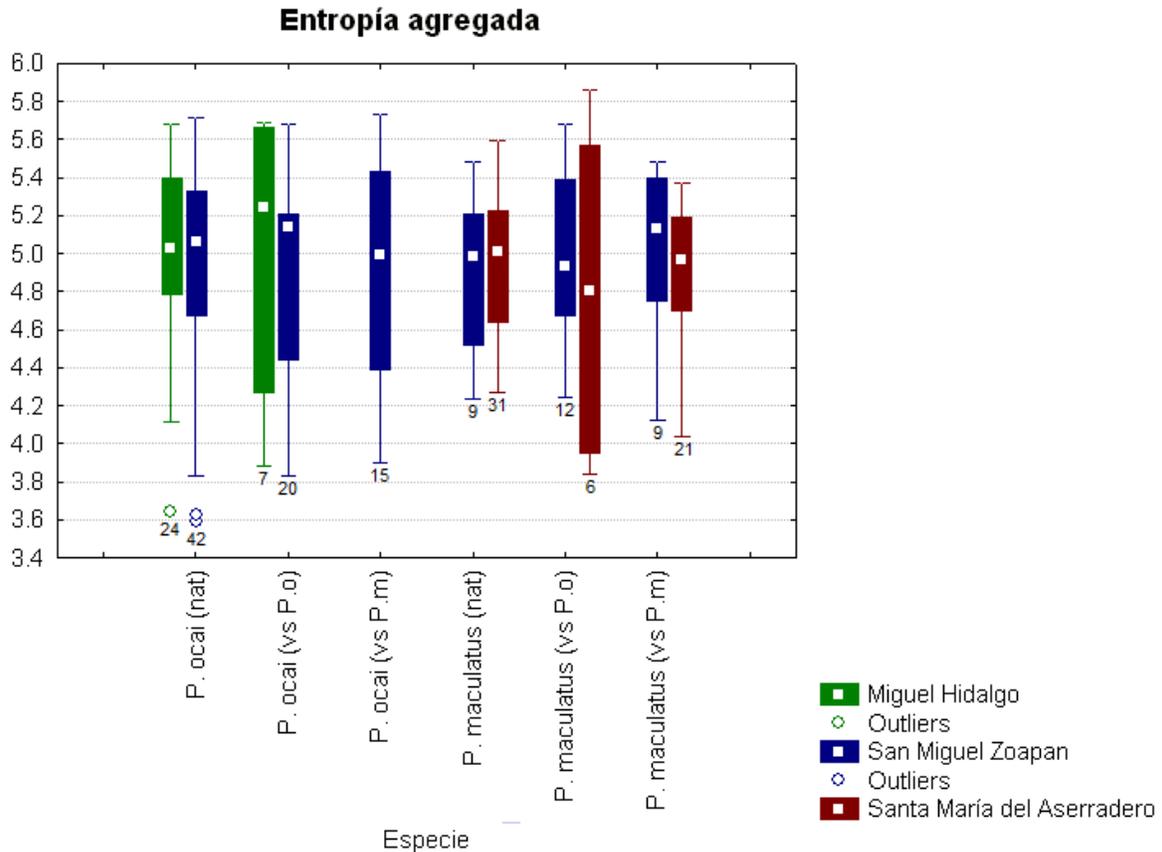


Figura 23.- Diagramas de caja y bigote representando la entropía agregada de los cantos por especie y localidad, así como las condiciones en que se emitió el canto (nat = natural, vs P.o = en respuesta a playback de *P. ocai*, vs P.m = en respuesta a playback de *P. maculatus*). El tamaño de muestra se presenta bajo cada diagrama. No hubo respuesta de *P. ocai* a playback de *P. maculatus* en Miguel Hidalgo, razón por la cual no se muestra.

Los resultados de Kolmogorov-Smirnov para los cantos de *P. ocai* en San Miguel Zoapan y Miguel Hidalgo mostraron no tener diferencias significativas en ninguna de las siete variables, mientras que las *frases del canto* fueron la categoría que más se acercó a mostrar alguna diferencia ($p = 0.064$). Sin embargo, en los cantos de *P. maculatus* en San Miguel Zoapan y Santa María del Aserradero hubo diferencias significativas en cuatro variables. Para la prueba comparando cantos de ambas especies en San Miguel Zoapan,

todas las variables mostraron diferencias relevantes con excepción del *pico de frecuencia* y la *entropía agregada*, que no tuvieron resultados significativos en ninguna de las pruebas realizadas. Cabe destacar que es posible que estas cifras puedan estar afectadas por la poca respuesta de *P. maculatus* en San Miguel Zoapan en todos los casos que las involucran. También se compararon los cantos naturales en las localidades de Miguel Hidalgo y Santa María del Aserradero, y los resultados coinciden con la prueba anteriormente mencionada, con la excepción del *ancho de banda*, que no muestra evidencia de diferencias significativas (ver Tabla 5).

Tabla 5.- Resultados de las pruebas Kolmogorov-Smirnov involucrando las siete características observadas en los cantos. *P.o.*: *Pipilo ocai*, *P.m.*: *Pipilo maculatus*, SMZ: San Miguel Zoapan, MH: Miguel Hidalgo, SMA: Santa María del Aserradero.

	Frecuencia mínima	Frecuencia máxima	Ancho de banda	Duración	Frases	Pico de frecuencia	Entropía agregada
<i>P.o.</i> , MH y SMZ	0.76	0.705	0.649	0.231	0.064	0.264	0.649
<i>P.m.</i> , SMA y SMZ	0.001*	0.023*	0.739	0.038*	0.004*	0.126	0.898
<i>P.o.</i> , y <i>P.m.</i> , SMZ	0.013*	0.0002*	0.02*	0.000003*	0.0008*	0.425	0.976
<i>P.o.</i> , MH y <i>P.m.</i> , SMA	0.09	0.049*	0.202	0.000003*	0.019*	0.125	0.295

Comparando las características del canto de ambas especies en respuesta ante el canto de *P. ocai* en San Miguel Zoapan, así como las respuestas ante *P. maculatus* (ver Tabla 6), en ambos casos la *frecuencia máxima* y la *duración del canto* mostraron diferencias significativas, mientras que la *frecuencia mínima*, el *pico de frecuencia* y la *entropía agregada*, fueron las características que consistentemente no mostraron resultados significativos para estas dos pruebas. Por otro lado, para la comparación de las respuestas de *P. ocai* ante el playback de ambas especies solo mostró diferencias en la *duración del canto* y las *frases del canto*. Los resultados para la misma prueba al realizarse con *P. maculatus* no mostraron disimilitudes para ninguna característica del canto. Para los resultados del canto de una especie en varias localidades, las vocalizaciones de *P. maculatus* en respuesta al playback de su misma especie en las áreas donde se encuentra presente se encontraron poca similitud, pues únicamente la variable *duración del canto* no

mostró diferencias significativas; cabe mencionar que la *frecuencia mínima* tuvo un valor muy cercano a 0.05. La misma prueba, pero realizada con playback de *P. ocai*, no mostró gran disparidad entre los cantos en respuesta en ninguna característica, excepto por la *frecuencia máxima*; el resultado de la *frecuencia mínima* fue un valor muy aproximado a 1. Realizando la misma prueba en las localidades en las que se encontró a *P. ocai*, y en respuesta al playback de *P. ocai*, se demostró que hubo alta variación en las características del canto con respecto a la presencia de diferencias significativas en cada una. Como se mencionó anteriormente, esta prueba solo pudo ser repetida con *P. ocai* para la respuesta al playback de *P. ocai*, pues en Miguel Hidalgo no se escuchó respuesta al canto de *P. maculatus* (ver Tabla 6).

Tabla 6.- Resultados de las pruebas Kolmogorov-Smirnov involucrando las siete características observadas en los cantos. *P.o*: *Pipilo ocai*, *P.m*: *Pipilo maculatus*, SMZ: San Miguel Zoapan, MH: Miguel Hidalgo, SMA: Santa María del Aserradero

	Frecuencia mínima	Frecuencia máxima	Ancho de banda	Duración	Frases	Pico de frecuencia	Entropía agregada
<i>P.m</i> y <i>P.o</i> ; playback <i>P.o</i> , SMZ	0.825	0.005*	0.067	0.00004*	0.00004*	0.17	0.589
<i>P.m</i> y <i>P.o</i> ; playback <i>P.m</i> , SMZ	0.121	0.019*	0.007*	0.0005*	0.254	0.998	0.908
<i>P.o</i> ; playback ambos, SMZ	0.295	0.678	0.763	0.032*	0.002*	0.591	0.678
<i>P.m</i> ; playback ambos, SMZ	0.525	0.852	0.75	0.637	0.852	0.978	0.75
<i>P.m</i> ; playback <i>P.m</i> , SMZ y SMA	0.0499*	0.003*	0.031*	0.405	0.019*	0.097	0.405
<i>P.m</i> ; playback <i>P.o</i> , SMZ y SMA	0.9994	0.01*	0.19	0.67	0.384	0.384	0.384
<i>P.o</i> ; playback <i>P.o</i> , SMZ y MH	0.294	0.023*	0.74	0.038*	0.004*	0.126	0.899

La prueba Kolmogorov-Smirnov realizada con la respuesta de *P. maculatus* al playback de ambas especies en Santa María del Aserradero solo mostró diferencias significativas en las *frases del canto*, con una *p* de 0.043 (ver Tabla 7).

Tabla 7.- Resultados de las pruebas Kolmogorov-Smirnov involucrando las siete características observadas en los cantos. *P.o*: *Pipilo ocai*, *P.m*: *Pipilo maculatus*, SMZ: San Miguel Zoapan, MH: Miguel Hidalgo, SMA: Santa María del Aserradero.

	Frecuencia mínima	Frecuencia máxima	Ancho de banda	Duración	Frases	Pico de frecuencia	Entropía agregada
<i>P.m</i>; playback ambos, SMA	0.409	0.492	0.989	0.216	0.043*	0.271	0.492

Al realizar el análisis de funciones discriminantes (AFD) aplicado a los cantos naturales, los resultados mostraron mayor congruencia con los que involucran los cantos de *P. maculatus*, pues clasificó la mayoría de éstos correctamente. A pesar de que los cantos de *P. ocai* en San Miguel Zoapan fueron agrupados correctamente, los de Miguel Hidalgo fueron los más pobremente asignados, siendo clasificado un mayor porcentaje de éstos en San Miguel Zoapan e incluso como cantos de *P. maculatus* en Santa María del Aserradero (ver Tabla 8), lo que podría tener relación con la mayor variación estructural que tienen los cantos de *P. ocai*. La gráfica de dispersión agrupa a los cantos de *P. ocai* con tamaños similares y centroides cercanos, mientras que los cantos de *P. maculatus* tienen una variación en tamaño mucho mayor y centroides más separados. No obstante, esto podría deberse al tamaño de muestra en San Miguel Zoapan. Gran parte de los cantos de *P. maculatus* en Santa María del Aserradero se traslapan con los de *P. ocai*, sugiriendo que en esta localidad hay más variación en las vocalizaciones, y que éstas muestran más plasticidad en *P. maculatus*. (Fig. 23).

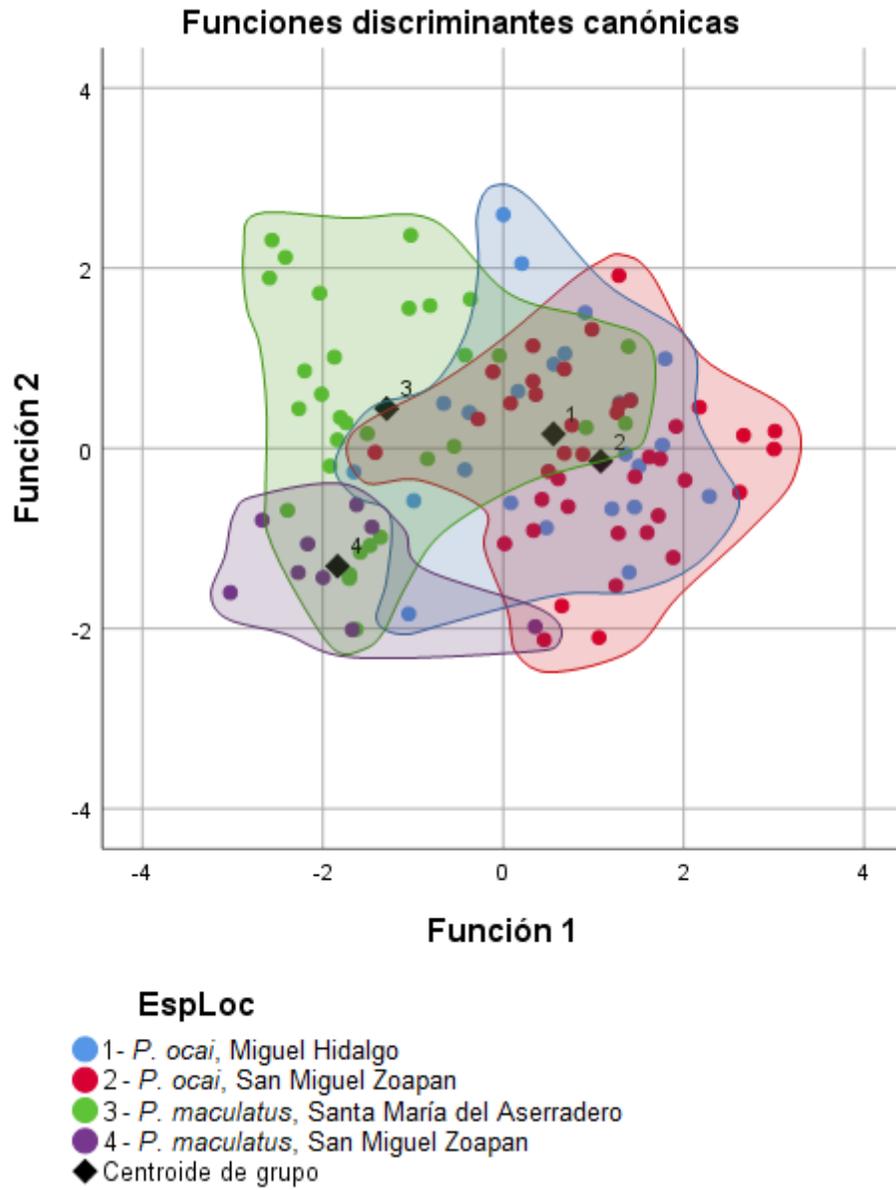


Figura 24.- Gráfica de dispersión mostrando el área ocupada por los cantos naturales de cada especie en las localidades.

Tabla 8.- Tabla de clasificación de cantos incluyendo playback para el análisis de funciones discriminantes.

Resultados de clasificación^a

Original	Recuento	EspLoc	Pertenenencia a grupos pronosticada				Total
			1	2	3	4	
		1	4	14	5	1	24
		2	3	34	3	0	40
		3	1	3	23	4	31
		4	0	1	3	5	9
	%	1	16.7	58.3	20.8	4.2	100.0
		2	7.5	85.0	7.5	.0	100.0
		3	3.2	9.7	74.2	12.9	100.0
		4	.0	11.1	33.3	55.6	100.0

a. 63.5% de casos agrupados originales clasificados correctamente.

El porcentaje de cantos bien clasificados obtenidos de los análisis de funciones discriminantes con todos los cantos (naturales y en respuesta a playback) fue esencialmente igual que el de cantos naturales. Los cantos de *P. ocai* en Miguel Hidalgo fueron, clasificados en su mayoría en San Miguel Zoapan. Los cantos de *P. maculatus* fueron asignados en las categorías correctas en su mayoría (Tabla 9). La gráfica de dispersión muestra un incremento en el área ocupada por cada grupo, así como un mayor grado de traslape, indicando que los cantos en respuesta a playback muestran valores distintos en las distintas características. Los centroides de cada grupo permanecieron en posiciones similares, incluso con el aumento en el tamaño de muestra para *P. maculatus* en San Miguel Zoapan. Esto paraleliza los resultados de las pruebas Kolmogorov-Smirnov, que mostraban mucha similitud en los cantos de *P. ocai* entre localidades, pero no en los de *P. maculatus*. Los grupos correspondientes a *P. ocai* en San Miguel Zoapan y *P. maculatus* en Santa María del Aserradero se traslaparon en gran parte con los grupos de la otra especie; en el caso del primero, que no mostró este traslape en los cantos naturales, esto es evidencia de que hubo cambios en la respuesta a algún playback, posiblemente más que en *P. maculatus* (Fig. 24).

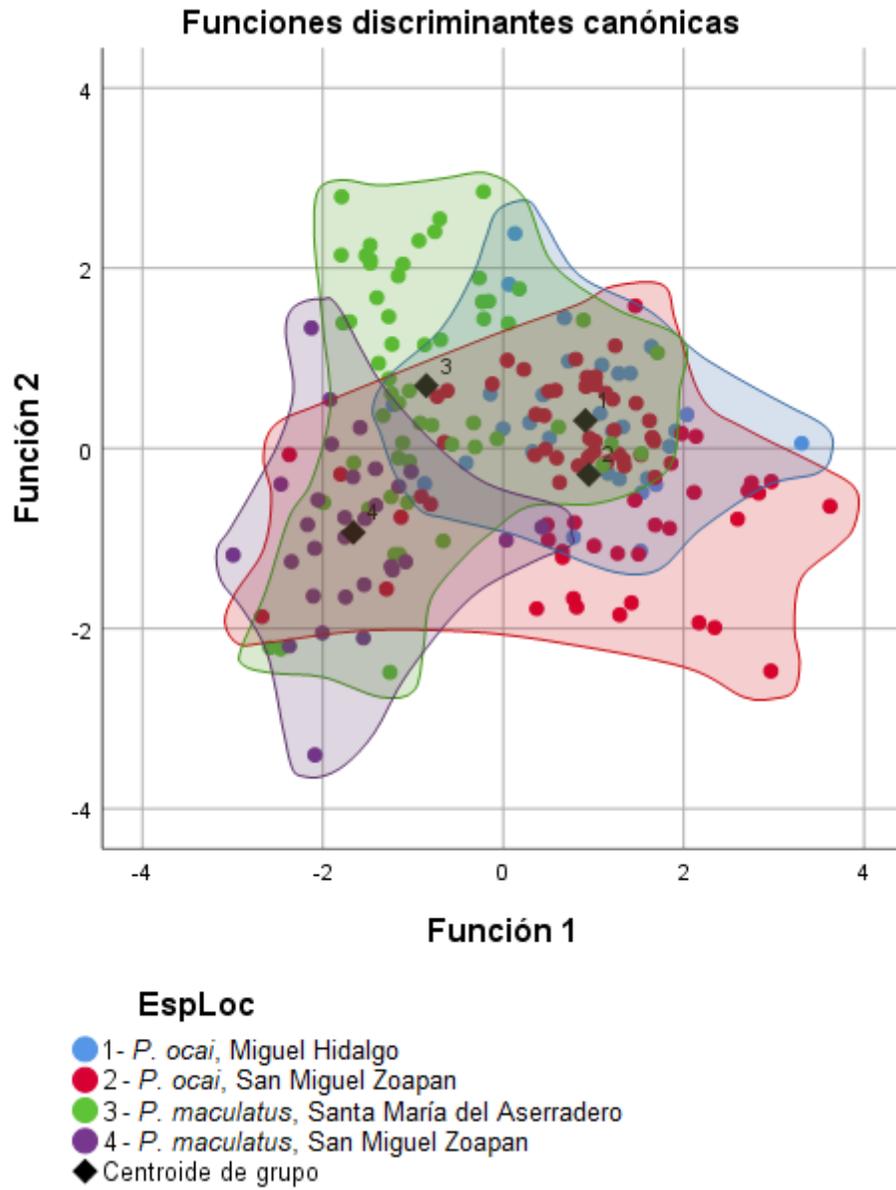


Figura 25.- Gráfica de dispersión mostrando el área ocupada por los cantos naturales y en respuesta a playback de cada especie en las localidades.

Tabla 9.- Tabla de clasificación de cantos incluyendo playback para el análisis de funciones discriminantes.

Resultados de clasificación^a

		Pertenenencia a grupos pronosticada					
		EspLoc	1	2	3	4	Total
Original	Recuento	1	3	22	6	0	31
		2	0	62	9	4	75
		3	1	7	40	10	58
		4	0	2	8	20	30
	%	1	9.7	71.0	19.4	.0	100.0
		2	.0	82.7	12.0	5.3	100.0
		3	1.7	12.1	69.0	17.2	100.0
		4	.0	6.7	26.7	66.7	100.0

a. 64.4% de casos agrupados originales clasificados correctamente.

DISCUSIÓN

Las condiciones de hibridación de *Pipilo ocai* y *Pipilo maculatus* son bien conocidas y aspectos como su morfología, diferenciación genética y la ubicación de sus zonas de contacto han sido bien estudiadas. Inicialmente se observaron individuos a lo largo de la distribución de ambas especies y se identificaron así las zonas con hibridación (Sibley, 1950; 1954; Sibley y West, 1958; Sibley y Sibley, 1964). Estudios recientes de diferenciación genética entre las poblaciones en las diferentes zonas de contacto secundario en México demostraron que la conectividad entre los hábitats ayuda a la conservación de las especies parentales a pesar de las condiciones de hibridación (Kingston, 2012; Kingston et al., 2014). Si bien hay otros complejos de hibridación en los cuales se ha observado la estructura del canto y la respuesta de las poblaciones (Baker y Baker, 1990; den Hartog et al., 2007; Dingle et al., 2010), en la revisión de literatura para este estudio no se encontraron estudios de esa índole con *P. ocai* y *P. maculatus*. Por lo tanto, este estudio, al ser el primero en tomar este enfoque, podría establecer la base para futuras investigaciones que analicen la estructura del canto a través de la distribución completa de las especies, y de esa manera definir si la hibridación tiene algún efecto sobre el canto. Los resultados de este estudio parecen sugerir que los cantos de las especies tienden hacia la divergencia en San Miguel Zoapan, donde poblaciones de ambas conviven en el mismo ambiente, y que el canto de *P. maculatus* muestra mayor plasticidad y por consiguiente más facilidad para el cambio.

Repertorio del canto

El repertorio de tipos de canto identificado para cada especie fue similar a las cifras que han reportado otros investigadores para *P. erythrophthalmus*, como Ewert y Kroodsma (1994) que identificó de seis a 11. Borrer (1975) encontró individuos de *P. erythrophthalmus* con repertorios de 18 a 22 tipos de canto, y grabó individuos que se distribuyen al oeste de Estados Unidos, que ahora son considerados parte del complejo *P. maculatus*, identificando un menor número de repertorios (el máximo fue 9). Sin embargo, dicho estudio no menciona los criterios usados para diferenciarlos. Para comparar con otra especie de la

misma familia, un estudio realizado por Searcy (1984) con *Melospiza melodia* concluyó que producen aproximadamente de 5 a 13 tipos de canto. Teniendo en cuenta estos ejemplos, el repertorio de tipos de canto de *P. ocai* y *P. maculatus* corresponde al tamaño usual del repertorio dentro de la familia Passerellidae.

El número total de cantos grabados en San Miguel Zoapan se diferenció mucho de los totales en las otras dos localidades, y el dramático aumento obtenido como respuesta al playback puede ser indicador de que las especies se encuentran en fuerte competencia por territorio en esa localidad (Dingle et al., 2010). El repertorio de vocalizaciones demostrado por cada especie en sus poblaciones individuales sugiere que es el contacto entre éstas lo que ocasiona la disparidad en la cantidad de cantos de cada una, siendo *P. ocai* la especie cuyo repertorio se dispara, en el canto natural y en la respuesta al playback.

La ausencia de respuesta (los individuos, además de no cantar, en la mayoría de las situaciones tampoco se acercaban a la bocina) de *P. ocai* en Miguel Hidalgo hacia el canto de *P. maculatus*, podría significar que *P. ocai* no reconoce dicho canto y por lo tanto no lo considera como una señal de posible competencia al tratarse de la localidad en donde esta última especie no se encuentra presente. Esto incrementaría el éxito de *P. maculatus* de establecer territorios en Miguel Hidalgo (Dingle et al., 2010). No obstante, los resultados de la respuesta ante el canto de *P. ocai* fueron los más bajos en todas las localidades, por lo que es posible que esta señal se deba a otros factores. Por ejemplo, las reverberaciones que generan las frecuencias relativamente altas en sus cantos podrían no ser apropiados para zonas de vegetación densa como lo es el bosque de oyamel presente en la localidad (Naguib y Haven Wiley, 2001; Marler y Slabbekoorn, 2004; Barker, 2008; Priyadarshani et al., 2017). Sin embargo, no se realizaron pruebas para confirmar esta posibilidad. El número de cantos de *P. maculatus* en Santa María del Aserradero respondiendo al playback de *P. ocai* es notablemente menor al canto conspecífico, lo que señala que *P. maculatus* en su población alopátrica también es más agresivo ante la presencia de su propia especie. La presencia de cantos en respuesta hacia *P. ocai* podría indicar que los cantos de ambas especies se asemejan suficientemente para que *P. maculatus* considere a *P. ocai* posible competencia.

La respuesta en San Miguel Zoapan fue abundante por parte de ambas especies y ante los dos playbacks diferentes. Esto contrasta con las respuestas de cada especie ante el playback ajeno en Miguel Hidalgo y Santa María del Aserradero, e indica que, posiblemente, *P. maculatus* y *P. ocai* consideran a la otra especie como competencia en esta localidad, sugiriendo que cada especie intenta desplazar a la otra de su territorio. No obstante, esto no tuvo gran impacto sobre la estructura del canto de ambas especies.

Estructura

La mayor variedad y complejidad de frases en los cantos de *P. ocai*, observada en el número de notas y trinos que los componen, es posiblemente la causante de la mayor duración de éstos en comparación con los cantos de *P. maculatus*, particularmente debido a la presencia de notas largas, que en *P. maculatus* están ausentes en su mayor parte. Estas notas, por lo tanto, podrían ser uno de los principales elementos que diferencian el canto entre las especies. *P. ocai* habita en ambientes menos abiertos que *P. maculatus*, y su canto tendrá notas más largas e intervalos más prolongados, para evitar mayor reverberación (Barker, 2008).

Las ausencia de diferencias significativas en el *pico de frecuencia* y la *entropía agregada* en los resultados de las pruebas Kolmogorov-Smirnov coinciden con los resultados observados en los diagramas de caja y bigote, en donde estas dos características fueron las que más se traslaparon. Estos datos podrían indicar que la *frecuencia máxima* y las *frases del canto* están entre los principales factores que diferencian el canto de cada especie. Respecto al número de *frases del canto*, debido a la muy limitada cantidad de variables (en este estudio solo hubo cantos con 2, 3 o 4 frases), las diferencias son evidentes desde un inicio. Al estar compuestos en su mayoría por dos frases, los cantos de *P. maculatus* muestran similitud con los de su especie hermana, *Pipilo erythrophthalmus* (DaCosta et al., 2009), cuyos cantos comparten la misma estructura (Borrer, 1975). *Pipilo chlorurus*, que posiblemente esté más cercanamente emparentado con *P. ocai* (DaCosta et al., 2009), tiene cantos que comparten el patrón de dicha especie (Sibley, 1955).

Las diferencias en las características del canto de ambas especies en San Miguel Zoapan, así como en las demás localidades (canto de *P. ocai* en Miguel Hidalgo y de *P. maculatus* en Santa María del Aserradero), sugieren que en simpatria, y posiblemente en hibridación, las características del canto no tienden hacia la convergencia. Sin embargo, las diferencias en el canto de *P. maculatus* en las dos localidades donde se grabó podrían indicar que tiene mayor plasticidad y como consecuencia, se podría modificar con mayor facilidad debido a la presencia de la otra especie o la diferencia de ambiente acústico (Haavie et al., 2004), al contrario de *P. ocai*, que en su canto natural no mostró tener una variación notable entre San Miguel Zoapan y Miguel Hidalgo. La plasticidad de los cantos de *P. maculatus* puede promover apareamiento selectivo (Dingle et al., 2010), lo cual puede potencialmente actuar en contra de la hibridación, promoviendo aislamiento reproductivo (Schumer et al., 2017). Sin embargo, sin observarse la respuesta de las hembras de ambas especies ante los playbacks no se puede confirmar el apareamiento selectivo. Aunque es posible que esta divergencia en los cantos también se deba al desplazamiento de caracteres, no está bien esclarecida la relación que pueda tener este fenómeno con caracteres heredados culturalmente (Dingle et al., 2010; Pfennig y Pfennig, 2012).

La similitud del canto de *P. maculatus* en respuesta al playback de cada especie en San Miguel Zoapan podría ser indicador de que considera a ambas como competencia, y posiblemente confunde a *P. ocai* (Sosa-López et al., 2015; Freeman y Montgomery, 2017), lo cual concuerda con el semejante número de cantos emitidos en respuesta a cada especie. Otra explicación es la interacción entre las dos especies por los mismos recursos (Sosa-López et al., 2015). No obstante, la similitud de los resultados al realizarse la misma prueba (comparando respuesta a playback de ambas especies) en Santa María del Aserradero, donde no había presencia de *P. ocai*, sugiere que las diferencias en la respuesta en cada localidad podrían deberse a otras características que no fueron analizadas en este estudio. El intervalo entre frases en el canto puede ser un ejemplo, y en *P. erythrophthalmus* ha demostrado ser un factor discriminatorio (Ewert, 1980). Podría también tratarse del número de cantos por individuo emitidos en respuesta en cada localidad, dado que un repertorio amplio es un rasgo con selección sexual (Marler y Slabbekoorn, 2004). En otros grupos de aves, como papamoscas de la familia Muscicapidae (Haavie et al., 2004) o en el gorrión

Zonotrichia leucophrys (Searcy, 1984), las hembras prefieren machos con repertorios más amplios. Dado que *P. maculatus* emitió más cantos en Santa María del Aserradero, podría significar que la competencia interespecífica sea más fuerte en esta localidad, donde *P. ocai* no está presente. No se pudo realizar una comparación similar con *P. ocai*, debido a que en Miguel Hidalgo no hubo respuesta al playback de *P. maculatus*, y de esa forma concluir si la respuesta de *P. ocai* al canto de las dos especies es equivalente a la respuesta de *P. maculatus*.

Las respuestas de *P. maculatus* al playback de *P. maculatus* en San Miguel Zoapan y Santa María del Aserradero fueron altamente diferentes, al contrario de sus respuestas al canto de *P. ocai*. Esto puede estar relacionado con los resultados anteriores que demostraron que el canto natural de *P. maculatus* tiene diferencias entre las mismas localidades, y por consiguiente es posible que este resultado sea consecuencia de dicha variación. En aves con pocos tipos de canto y que comparten sus repertorios con los individuos de su población, es común encontrar diferencias en el canto en diferentes áreas en su distribución, debido a la poca interacción que tienen con otras poblaciones (Catchpole y Slater, 2008). Dado que las poblaciones de *P. maculatus* en las localidades estudiadas están aisladas altitudinalmente y por los tipos de vegetación en el área, es posible que se observe este fenómeno a menor escala.

Efecto de la hibridación sobre el canto

Por los resultados del análisis discriminante, es evidente que en condiciones naturales los cantos de cada especie están bien diferenciados. Esto sugeriría que la respuesta abundante a ambos playbacks en San Miguel Zoapan no se debe a que las aves reconozcan el canto heteroespecífico y lo confundan debido a características que presentan convergencia (Randler, 2002; Haavie et al., 2004), lo cual es corroborado por la disparidad de las respuestas en las otras localidades. Sin embargo, algunos cantos naturales de *P. maculatus* en Santa María del Aserradero se parecen más al rango que caracteriza las vocalizaciones de *P. ocai*. Esto puede ser la causa de las diferencias entre cantos naturales de *P. maculatus*, y sugiere que la posible plasticidad del canto de esta especie puede haber resultado en la

diferenciación de cantos en San Miguel Zoapan. Esta plasticidad es el resultado del aprendizaje del canto mediante imitación de otros individuos (Dingle et al., 2010). Varios cantos en respuesta a playback de ambas especies en esta última localidad mostraron, en el análisis discriminante que incluyó las respuestas a playback, traslaparse con el rango de características del canto de la otra especie, demostrando así que las vocalizaciones de ambas especies se ven alteradas al responder al playback, posiblemente del canto heteroespecífico. Esta diferencia en respuesta en muchos casos se debe a relaciones filogenéticas cercanas o alta similitud en el canto (Sosa-López et al., 2015). Un estudio realizado por Tobias y Seddon en 2009 con aves del género *Hypocnemis* concluye que las respuestas de las aves son más fuertes hacia cantos que se asemejan más, incluso si se trata de especies menos cercanamente emparentadas. Similarmente, *P. ocai* y *P. maculatus* no son especies hermanas, pero sus cantos se asemejan.

Los resultados sugieren un cambio divergente en las características del canto natural de ambas especies, lo que llevaría a los cantos a diferenciarse cada vez más (Lipshutz et al., 2017). Esto puede ser evidencia de que, si se encuentran híbridos presentes en la población de San Miguel Zoapan, la selección está actuando en contra de ellos favoreciendo señales que facilitan el reconocimiento de conoespecíficos, de esa forma propiciando el aislamiento reproductivo o posiblemente la separación ecológica de las especies. Es posible también que la competencia entre las especies por un mismo recurso sea causante de esta divergencia (de Kort et al., 2002), algo que podría confirmarse con un estudio en un ambiente diferente dentro del área de simpatria. Los caracteres divergentes también pueden ser consecuencia de una distinción en tamaño que pone a alguna de las dos especies en desventaja durante la producción del canto (Secondi et al., 2003), pero es poco probable que la divergencia se deba a esto considerando el tamaño similar de las dos especies. Teniendo en cuenta que el área de estudio se encuentra en una de las zonas con mayor hibridación (Kingston et al., 2014), y con altos niveles de perturbación, las aves podrían competir por el mismo territorio o recurso y la selección promovería una separación ecológica (de Kort et al., 2002). Esta divergencia implica que la población analizada, a pesar de estar en una zona que actúa como núcleo de hibridación, posiblemente tiene un

índice muy bajo de hibridación, que se vería reducido con el paso del tiempo, y las especies parentales tenderían hacia diferenciarse más con el paso del tiempo (Haavie et al., 2004).

LITERATURA CITADA

Baker, M.C. y A.E.M. Baker. 1990. Reproductive behavior of female buntings: isolating mechanisms in a hybridizing pair of species. *Evolution* 44(2):332-338

Barker, N.K. 2008. Bird song structure and transmission in the Neotropics: trends, methods, and future directions. *Ornitología Neotropical* 19:175-199.

Benites, P., L. Campagna y P.L. Tubaro. 2015. Song-based species discrimination in a rapid Neotropical radiation of grassland seedeaters. *Journal of Avian Biology* 46:55-62

Bioacoustics Research Program. 2014. Raven Pro: Interactive Sound Analysis Software Versión 1.5 (Software de computadora). Ithaca, NY: The Cornell Lab of Ornithology. Disponible en <http://www.birds.cornell.edu/raven>

Borrer, D.J. 1975. Songs of the rufous-sided towhee. *The Condor* 77:183-195

Cadena, C.D. y Cuervo, A.M. 2010. Molecules, ecology, morphology and songs in concert: how many species is *Arremon torquatus* (Aves: Emberizidae)? *Biological Journal of the Linnean Society* 99:152-176

Catchpole, C.K. y P.J.B. Slater. 2008. Bird song: biological themes and variations. Cambridge University Press, Gran Bretaña. 248 pp

Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP). 2012. Borrador del Programa de Manejo del Parque Nacional Pico de Orizaba

Da Costa, J.M., G.M Spellman, P. Escalante y J. Klicka. 2009. A molecular systematic revision of two historically problematic songbird clades: *Aimophila* and *Pipilo*. *Journal of Avian Biology* 40:206-216

Dingle, C., J.W. Poelstra, W. Halfwerk, D.M. Brinkhuizen y H. Slabbekoorn. 2010. Assymmetric response patterns to subspecies-specific song differences in allopatry and parapatry in the gray-breasted wood-wren. *Evolution* 64 (12):3537-3548

- Ewert, D.N. 1980. Recognition of conspecific song by the rufous-sided towhee. *Anim. Behav.* 28:379-386
- Ewert, D.N. y D.E. Kroodsma. 1994. Song Sharing and Repertoires among Migratory and Resident Rufous-Sided Towhees. *The Condor* 96:190–196
- Freeman, B.G. y G.A. Montgomery. 2017. Using song playback experiments to measure species recognition between geographically isolated populations: A comparison with acoustic traits analyses. *Auk* 134:857–870
- Freeman, B.G., G.A. Montgomery y D. Schluter. 2017. Evolution and plasticity: Divergence of song discrimination is faster in birds with innate song than in song learners in Neotropical passerine birds. *Evolution* 71 (9):2230-2242
- Goller, M. y D. Shizuka. 2018. Evolutionary origins of vocal mimicry in birds. *Evolution Letters* 2:417-426
- Gompert, Z., L.K. Lucas, C.C. Nice, J.A. Fordyce, M.L. Forister y C.A. Buerkle. 2012. Genomic regions with a history of divergent selection affect fitness of hybrids between two butterfly species. *Evolution* 66 (7):2167–2181
- Grant, P.R. y B.R. Grant. 1992. Hybridization of Bird Species. *Science* 256 (5054):193-197
- Haavie, J., T. Borge, S. Bures, L.Z. Garamszegi, H.M. Lampe, J. Moreno, A. Qvarnström, J. Török y G.-P. Sætre. 2004. Flycatcher song in allopatry and sympatry – convergence, divergence and reinforcement. *Journal of Evolutionary Biology* 17:227-237
- Halfwerk, W., C. Dingle, D.M. Brinkhuizen, J.W. Poelstra, J. Komdeur y H. Slabbekoorn. 2016. Sharp acoustic boundaries across an altitudinal avian hybrid zone despite assymmetric introgression. *Journal of Evolutionary Biology* 29:1356-1367
- Hammer, Ø., Harper, D.A.T., Ryan, P.D. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1): 9pp
- IBM Corp. Lanzado 2017. IBM SPSS Statistics para Windows, Versión 25.0. Armonk, NY: IBM Corp

- Kenyon, H.L., D.P.L. Toews y D.E. Irwin. 2011. Can song discriminate between McGillivray's and mourning warblers in a narrow hybrid zone? *The Condor* 113:655-663
- Kingston, S.E. 2012. Genome-wide analysis of divergence and introgression in towhee hybrid zones. Tesis de doctorado. Faculty of the Graduate School, University of Maryland
- Kingston, S.E., A.G. Navarro, E.A. García-Trejo, H. Vázquez-Miranda, W.F. Fagan y M.J. Braun. 2014. Genetic differentiation and habitat connectivity across towhee hybrid zones in Mexico. *Evol. Ecol.* 28:277-297
- de Kort, S.R., P.M. den Hartog y C. ten Cate. 2002. Diverge or merge? The effect of sympatric occurrence on the territorial vocalizations of the vinaceous dove *Streptopelia vinacea* and the ring-necked dove *S. capicola*. *Journal of Avian Biology* 33:150-158
- den Hartog, P.M., S.R. de Kort y C. ten Cate. 2007. Hybrid vocalizations are effective within, but not outside, an avian hybrid zone. *Behavioral* 18:608-614
- Kroodsma, D.E. 1989. Suggested experimental designs for song playbacks. *Anim. Behav.* 37:600-609
- Laiolo, P. 2012. Interspecific interactions drive cultural co-evolution and acoustical convergence in syntopic species. *Journal of Animal Ecology* 81:594-604
- Lipshutz, S.E., I.A. Overcast, M.J. Hickerson, R.T. Brumfield, y E.P. Derryberry. 2017. Behavioural response to song and genetic divergence in two subspecies of white-crowned sparrows (*Zonotrichia leucophrys*). *Molecular Ecology*
- Marler, P. y H. Slabbekoorn. 2004. Nature's Music: The Science of Birdsong. Elsevier Academic Press. Estados Unidos. 504 pp
- Martínez-Vázquez, J., R.M. González-Monroy y D. Díaz-Díaz. 2010. Hábitos alimentarios del Coyote en el parque nacional Pico de Orizaba. *THERYA*. Vol.1 (2):145-154
- Mortega, K.G., H. Flinks y B. Helm. 2014. Behavioural responses of a migratory songbird to geographic variation in song and morphology. *Frontiers in Zoology*. 11:85

- Naguib, M y R. Haven Wiley. 2001. Estimating the distance to a source of sound: mechanisms and adaptations for long-range communication. *Anim. Behav.* 62:825-837
- Pfennig, D.W. y K.S. Pfennig. 2012. Development and evolution of character displacement. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 1256(1): 89-107
- Podos, J. y P.S. Warren. 2007. The evolution of geographic variation in birdsong. *Adv. Stud. Behav.* 37:403-458
- Priyadarshani, N., I. Castro y S. Marsland. The impact of environmental factors in bird song acquisition using automated recorders. *Ecol Evol.* 2018;001:1-18
- Qvarnström, A., J. Haavie, S.A. Sæther, D. Eriksson y T. Pärt. 2006. Song similarity predicts hybridization in flycatchers. *Journal of Evolutionary Biology* 19:1202-1209
- Randler, C. 2002. Avian hybridization, mixed pairing and female choice. *Anim. Behav.* 63:103-119
- Randler, C. 2006. Behavioural and ecological correlates of natural hybridization in birds. *Ibis* 148:459-46
- Ratcliffe, L.M. y P.R. Grant. 1985. Species recognition in Darwin's finches (*Geospiza*, Gould). III. Male responses to playback of different song types, dialects and heterospecific songs. *Anim. Behav.* 33:290-307
- Rieseberg, L.H., J. Whitton y K. Gardner. 1999. Hybrid Zones and the Genetic Architecture of a Barrier to Gene Flow Between Two Sunflower Species. *Genetics* 152(2): 713-727
- Rising, J. (2017). Collared Towhee (*Pipilo ocai*). En: del Hoyo, J., Elliott, A., Sargatal, J., Christie, D.A. y de Juana, E. (eds.). *Handbook of the Birds of the World Alive*. Lynx Edicions, Barcelona. (obtenido de <https://www.hbw.com/node/62009> el 22 de noviembre de 2017)
- Rising, J. (2017). Spotted Towhee (*Pipilo maculatus*). En: del Hoyo, J., Elliott, A., Sargatal, J., Christie, D.A. y de Juana, E. (eds.). *Handbook of the Birds of the World Alive*. Lynx Edicions, Barcelona. (obtenido de <https://www.hbw.com/node/62011> el 22 de noviembre de 2017)

- Schumer, M., D.L. Powell, P.J. Delclós, M. Squire, R. Cui, P. Andolfatto, G. G. Rosenthal. 2017. Assortative mating and persistent reproductive isolation in hybrids. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. Vol. 114 No. 41
- Searcy, W.A. 1984. Song repertoire size and female preferences in song sparrows. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 14:281-286
- Searcy, W.A. y E.A. Brenowitz. 1988. Sexual differences in species recognition of avian song. *Nature* 332:152-154
- Secondi, J., V. Bretagnolle, C. Compagnon y B. Faivre. 2003. Species-specific song convergence in a moving hybrid zone between two passerines. *Biological Journal of the Linnean Society* 80:507-517
- Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos (SARH). 1993. Compendio Estadístico de la Producción Forestal 1993. Subsecretaría de Planeación, Dirección General de Información Agropecuaria, Forestal y de Fauna Silvestre. Veracruz
- Seehausen, O. 2004. Hybridization and adaptative radiation. *TRENDS in Ecology and Evolution* Vol.19 No. 4
- Sibley, C.G. 1950. Species formation in the red-eyed towhees of Mexico. University of California Press. Estados Unidos. 106-180
- Sibley, C.G. 1954. Hybridization in the red-eyed towhees of Mexico. *Evolution* 8:252-290
- Sibley, C.G. 1955. The Generic Allocation of the Green-Tailed Towhee. *Auk* 72:420-423
- Sibley, C.G. y D.A. West 1958. Hybridization in the red-eyed towhees of Mexico: the eastern plateau populations. *The Condor* 60:85-104
- Sibley, C.G. y F.C. Sibley. 1964. Hybridization in the red-eyed towhees of Mexico: the populations of the southeastern plateau region. *Auk* 81:479-504
- Sosa-López, J.R., J.E. Martínez Gómez y D.J. Mennill. 2015. Divergence in mating signals correlates with genetic distance and behavioural responses to playback. *Journal of Evolutionary Biology* 29:306-318

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* 44:027-038

Sosa-López, J.R., D.J. Mennill. 2014. The vocal behavior of the Brown-throated Wren (*Troglodytes brunneicollis*): song structure, repertoires, sharing, syntax, and diel variation. *Journal of Ornithology* 155:435-446

StatSoft Inc. 2004. STATISTICA (Sistema de software de análisis de datos), versión 7. www.statsoft.com

Tobias, J.A. y N. Seddon. 2009. Signal design and perception in *Hypocnemis* antbirds: evidence for convergent evolution via social selection. *Evolution* 63 (12):3168-3189