



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELO

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**VARIACIÓN GEOGRÁFICA EN LOS PULSOS DE ECOLOCALIZACIÓN DE
COLONIAS DE MATERNIDAD DEL MURCIÉLAGO *Myotis velifer***

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
B I Ó L O G O
P R E S E N T A:
DIANA LIZBETH MORALES VENCES

DIRECTOR: DR. JOSÉ ANTONIO GUERRERO ENRÍQUEZ

CUERNAVACA, MORELOS

NOVIEMBRE, 2021

AGRADECIMIENTOS

A mis padres Graciela y Luis, por siempre darme su apoyo incondicional, por motivarme a superarme y siempre seguir adelante. Por enseñarme la importancia del trabajo duro y la constancia en el estudio. Porque a lo largo de mi vida me han brindado las herramientas para alcanzar mis metas. Gracias por todo su amor.

A mi director de tesis, el Dr. José Antonio Guerrero, por darme la oportunidad de trabajar con él y guiarme académicamente durante la etapa más importante de mi carrera universitaria, por todas sus enseñanzas y su paciencia.

A mis sinodales, el M. en C. A. Luis Gerardo Avila, por sus contribuciones y correcciones a mi escrito, y a la Dra. Areli Rizo, por sus recomendaciones y sus enseñanzas en el ámbito de la ecolocalización.

A la Biól. Blanca Natividad y la M. en B.I.B. y C. Montserrat Monter por revisar mi trabajo final, por sus comentarios y sugerencias y por formar parte de mi jurado evaluador.

Al proyecto Sonozots por compartir las grabaciones y los datos de los murciélagos de las colonias de los estados de Durango y Zacatecas para este proyecto.

A Émery, Yadira y Miguel por acompañarme y apoyarme en mis muestreos, por todo el conocimiento que me compartieron en campo y los buenos momentos que pasamos.

A Gerardo Dirzo por apoyarme en la elaboración del mapa de las ubicaciones de las colonias.

A mis hermanos; Yesi por incentivar me en mis momentos de desidia y bloqueo a seguir con mi escrito, y Jorge y Mishelle por ayudarme a relajarme en mis momentos de más estrés.

A mis amigos más cercanos de la carrera Angel, Chino, Mari y Lalo, porque con ustedes pase momentos inolvidables, y gracias a ustedes mi vida universitaria fue legendaria.

A mis amigos; Kari, Stanli, Gil y Zuri, que a pesar de no estudiar juntos la universidad, siempre estuvieron ahí apoyándome y compartiendo buenos momentos conmigo.

Y recuerden que nada de lo que hagas en esta vida será legendario si tus amigos no están ahí para verlo. -B.S.-

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN	2
Ecolocalización.....	2
Estudio y análisis de la ecolocalización.....	3
Variación en los pulsos de ecolocalización.....	3
Variación geográfica en los pulsos de ecolocalización	5
ANTECEDENTES.....	7
Variación en respuesta a la zona de forrajeo	7
Variación por la ontogenia	8
Variación como firmas específicas	8
Variación geográfica	9
<i>Myotis velifer</i>	10
JUSTIFICACIÓN.....	11
HIPÓTESIS	11
OBJETIVOS	12
Objetivo general	12
Objetivos específicos.....	12
METODOLOGÍA.....	13
Sitios de estudio y grabaciones acústicas.....	13
Método de captura, liberación y grabación de los ejemplares.....	14
Análisis de las grabaciones	15
Medición y caracterización de los pulsos	16
Análisis estadísticos de los pulsos	17
RESULTADOS.....	19
DISCUSIÓN	26
CONCLUSIÓN	31
LITERATURA CITADA.....	32

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación de las colonias de maternidad de <i>Myotis velifer</i> que se estudiaron....	14
Figura 2. Visualización en el espectrograma de una secuencia representativa de <i>Myotis velifer</i>	16
Figura 3. Visualización de cómo se midieron los pulsos en el espectrograma; duración (a), intervalo (b), frecuencia inicial (c), frecuencia intermedia (d), frecuencia final (e), ancho de banda (f), y en el espectro de poder; frecuencia de máxima amplitud (g).....	17
Figura 4. Comparación de medias para la frecuencia inicial entre las 5 colonias de maternidad estudiadas.....	20
Figura 5. Comparación de medias para la frecuencia final entre las 5 colonias de maternidad estudiadas.....	21
Figura 6. Comparación de medias para la frecuencia a la mitad del pulso entre las 5 colonias de maternidad estudiadas.....	21
Figura 7. Comparación de medias para la frecuencia de máxima amplitud entre las 5 colonias de maternidad estudiadas.....	22
Figura 8. Comparación de medias para la duración entre las 5 colonias de maternidad estudiadas.....	23
Figura 9. Comparación de medias para el intervalo entre las 5 colonias de maternidad estudiadas.....	23
Figura 10. Análisis discriminante para las colonias de maternidad.....	24
Figura 11. Comparación visual de los pulsos representativos de <i>M. velifer</i> de los estados de Morelos (a), Zacatecas (b) y Durango (c) en el espectrograma.....	29

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Individuos y pulsos medidos por colonia de maternidad.....	19
Tabla 2. Promedios de los parámetros de la estructura de las llamadas de ecolocalización de cada colonia de maternidad y valores de F y P resultantes de los ANOVA.....	19
Tabla 3. Valores de F de color azul, y valores de P de color marrón, resultantes del análisis multivariado y prueba discriminante.....	24
Tabla 4. Distancias cuadradas de Mahalanobis de color azul, y distancias geográficas (en km) entre las colonias de maternidad de color marrón.....	25

RESUMEN

La ecolocalización como sistema de orientación es utilizada por diferentes grupos dentro del reino animal, sin embargo, los murciélagos han desarrollado este mecanismo de manera que les permite orientarse y el acceder a su alimento, además de poder mantener cierta comunicación entre ellos. La amplia distribución en ambientes contrastantes que tienen los murciélagos ha llevado a generar pulsos distintivos entre especies, así como variaciones en sus pulsos de ecolocalización dentro de una misma especie en diferentes zonas geográficas. Tales variaciones pueden complicar la identificación al usar herramientas acústicas como los detectores ultrasónicos. Esto hace necesario identificar las potenciales variaciones que puede presentar determinada especie a lo largo de su área de distribución. Tal es el caso de *Myotis velifer*, una especie gregaria con un amplio rango de distribución a lo largo de la república Mexicana que además conforma numerosas colonias de maternidad con organismos procedentes de varias localidades. Este trabajo buscó determinar si existe variación entre colonias de maternidad separadas geográficamente, además identificó si esta variación tendría como factor principal el rango de separación geográfico entre colonias. Para esto se estudiaron cinco colonias de maternidad con tres escalas de separación denominadas; *pequeña* (30 km aproximadamente), en la que no se encontró diferenciación significativa, *mediana* (500 km aproximadamente) y *grande* (más de 1000 km), las que sí mostraron variación significativa. A pesar de encontrar variación a diferentes escalas, los resultados de nuestros análisis refutan nuestra hipótesis de la influencia de la separación geográfica en la variación. Esto permite plantearnos nuevas hipótesis sobre los posibles factores influyentes que podrían explicar con mayor peso la variación de los pulsos de ecolocalización de *M. velifer*, como firmas específicas entre colonias como mejora en la comunicación entre los miembros o posible divergencia por falta de interacción entre las colonias. Sin embargo, para afirmar cualquiera de estas hipótesis es necesario realizar mayores estudios tomando en cuenta otros factores que en este proyecto no se consideraron, tales como análisis moleculares de ADN y morfología geométrica.

INTRODUCCIÓN

Eclocalización

La ecolocalización es un sistema de orientación espacial mediante ondas sonoras ultrasónicas, el cual consiste en la emisión de ondas y la recepción de los ecos causados por estas ondas al impactar alguna superficie, seguida del análisis y discriminación de los ecos para tener un panorama del entorno circundante (Schnitzler y Kalko, 2001). Este sistema de biosonar es utilizado por diferentes animales, como cetáceos (Au, Penner y Turl, 1987; Bullock y Ridgway, 1972; Whitlow y Simmons, 2007) y murciélagos (Altringham, 2011) para determinar la posición y características de las formas que los rodean, pero no en todos los casos se ha desarrollado de la misma manera, aunque el principio sigue siendo el mismo (Whitlow y Simmons, 2007; García y López, 2018).

La ecolocalización en los animales se ha especializado de manera diferente de acuerdo al hábitat en el que se desarrollen. Por ejemplo, un delfín emite señales como silbido debido a la modificación de su fosa nasal, mientras que un murciélago emite sonidos de alta frecuencia que son transmitidos a través de la laringe, donde el aire pasa por sus cuerdas vocales, las hace vibrar y por medio de las contracciones de los músculos de la laringe tensan las cuerdas vocales cambiando la frecuencia del sonido (Altringham, 2011). Además, a diferencia de los delfines, los murciélagos han desarrollado variaciones en su sonido haciendo señales más complejas (Altringham, 2011; Whitlow y Simmons, 2007) debido a su amplia distribución que los lleva a ocupar diferentes ambientes y estrategias de forrajeo (Wang et al., 2014; Russo, Ancillotto y Jones, 2017; Jiang, Wu y Feng, 2015; Van Den Bussche y Hooper, 2004).

Los murciélagos, con énfasis en las especies que se alimentan de insectos, no solo han desarrollado la ecolocalización como mecanismo de orientación (Jensen, Moss y Surlykke, 2005), sino también para la detección, caracterización y la captura efectiva de presas durante el forrajeo (Griffin, 1958; Schnitzler y Kalko, 2001), así como para la comunicación entre individuos de la misma especie o entre poblaciones (Jiang, Wu y Feng, 2015; Pearl y

Fenton, 1996). Las especies que han perfeccionado su sistema de ecolocalización utilizan una gran variedad de señales, también conocidas como pulsos de ecolocalización (sonido de corta duración) que difieren en sus características estructurales y de componentes, tales como el ancho de banda, su duración y sus frecuencias (García y López, 2018). Esto hace que determinadas familias y especies de murciélagos insectívoros emitan pulsos únicos y característicos, o por el contrario pulsos con características similares entre ellos, lo que facilita o dificulta según sea el caso, la identificación a diferentes niveles taxonómicos como puede ser el específico (Jones y Holderied, 2007; Russo, Ancillotto y Jones, 2017).

Estudio y análisis de la ecolocalización

Los detectores de ultrasonidos son instrumentos que permiten captar y transformar los sonidos emitidos por murciélagos a frecuencias audibles para las personas y así determinar su presencia en diferentes ambientes (Cortés-Calva, 2013; Rizo-Aguilar et al., 2015). Existen diferentes sistemas de grabación y análisis computacional de los pulsos de ecolocalización de los murciélagos (detalles en Rizo-Aguilar et al., 2015) que ha generado un gran avance en los estudios bioacústicos del grupo, pues las herramientas de grabación y análisis nos permiten analizar cualitativa y cuantitativamente las características específicas de cada pulso y así obtener medidas comparativas entre individuos, especies, o como el caso de este trabajo, analizar la posible variación en los pulsos en diferentes regiones geográficas. Por tanto, el desarrollo de herramientas tecnológicas para la detección, grabación y análisis de los pulsos de ecolocalización de murciélagos, hoy nos permite poder conocer a detalle la gran variación intra e interespecífica de los pulsos de ecolocalización en murciélagos.

Variación en los pulsos de ecolocalización

En los murciélagos, los pulsos de ecolocalización varían en primera instancia, de acuerdo a la especie; al variar entre especies, se dice que la variación es interespecífica, y cuando la variación ocurre dentro de una misma especie a escalas espaciales y temporales diferentes, la variación se denomina intraespecífica (Jones y Holderied, 2007).

La variación interespecífica está dada por diferentes factores como la filogenia, la zona de caza, las estrategias de forrajeo, el tipo de alimento consumido y el hábitat (Jiang, Wu y Feng, 2015; Jones y Holderied, 2007; Russo, Ancillotto y Jones, 2017; Teeling et al., 2005; Van Den Bussche y Hooper, 2004). En buena medida, estos factores determinan la tasa de repetición de los pulsos, es decir, los pulsos emitidos por segundo, dando lugar a ciclos de trabajo altos (pulsos de mayor duración separados por un intervalo corto de silencio), o ciclos de trabajo bajos (pulsos de corta duración separados por un intervalo largo de silencio) (García y López, 2018; Russo, Ancillotto y Jones, 2017). Así como la intensidad, duración y frecuencia de las señales de ecolocalización, esto genera especificidad en los pulsos para cada especie emisora (Rizo-Aguilar et al., 2015).

Además, la historia evolutiva y las adaptaciones que separan a las especies conllevan también a desarrollar características anatómicas y morfológicas particulares que pueden influir en las características de los pulsos de ecolocalización y con ello permitir identificar especies de murciélagos insectívoros mediante el análisis de sus pulsos de ecolocalización (Russo, Ancillotto y Jones, 2017; Van Den Bussche y Hooper, 2004).

La variación intraespecífica puede deberse a factores extrínsecos como la estructura del hábitat, el gradiente de vegetación y la presencia o ausencia de cuerpos de agua (Wang et al., 2014). Así como los efectos de pulsos emitidos simultáneamente por individuos de la misma especie que pueden causar una superposición de las señales al compartir espacios de vuelo o zonas de caza, es decir evitar la competencia intraespecífica en el área de forraje o alimento (Jiang, Wu y Feng, 2015; Wang et al., 2014).

Los efectos en las características de los pulsos a nivel individual e intraindividual en cada organismo, tales como cambios en las frecuencias, el intervalo o la duración de estos, influyen en las variaciones estructurales de los pulsos dentro de las especies, ya que pueden variar por factores intrínsecos como la ontogenia y sexo (Varela-Boydo et al., 2019). Los individuos también pueden modificar sus pulsos como respuesta al ruido ambiental, a las interacciones sociales y a las tareas sensoriales específicas, como sucede durante la búsqueda de una presa (fase de búsqueda), durante la persecución (fase de aproximación)

o captura de la misma (fase de captura), llevando al murciélago a ajustar sus pulsos constante y continuamente a lo largo de estas fases, para así tener mayor eficacia en el éxito de captura de presas (Kraker et al., 2018; Russo, Ancillotto y Jones, 2017).

Además de los factores extrínsecos e intrínsecos, existen otros factores que pueden llegar a generar variaciones al momento de analizar los pulsos de ecolocalización. Los factores que se deben de tomar en cuenta son las características del equipo de grabación, como el rango de detección y sensibilidad del micrófono, ya que existen diferentes tipos de detectores ultrasónicos con características específicas y de importancia al momento de realizar un estudio. Algunas veces las diferencias en los equipos de detección puede generar variaciones que produzcan confusión al momento de visualizar, analizar y medir los pulsos (Britzke, Gillam y Murray, 2013; Parsons, Boonman y Obrist, 2000).

Variación geográfica en los pulsos de ecolocalización

Dentro de una misma especie, las poblaciones separadas geográficamente pueden expresar diferencias significativas en sus pulsos (Jiang, Wu y Feng, 2015; Xie et al., 2017). Tales variaciones se han explicado como una respuesta al aislamiento genético y la interacción grupal de la especie (Jiang, Wu y Feng, 2015). Este tipo de variación dada por el aislamiento geográfico funciona para que los murciélagos tengan una mejor comunicación entre los miembros de sus colonias o poblaciones y discriminen entre los pertenecientes a su grupo (Pearl y Fenton, 1996; Russo, Ancillotto y Jones, 2017; Voigt-Heucke et al., 2010).

Existen diversos factores que intervienen en este tipo de variación entre los pulsos de ecolocalización de los murciélagos, entre ellos, algunos procesos evolutivos como la selección ecológica, es decir, la adaptación de los pulsos de ecolocalización de los murciélagos de acuerdo al ambiente en el que habitan; la selección social, que se da entre los miembros de una colonia para discriminar entre los miembros familiares y no familiares (Voigt-Heucke et al., 2010); y la deriva genética y cultural (Jones y Van Parijs, 1993; Xie et al., 2017), es decir, que al haber una divergencia en la población, pueden ocurrir pérdida genética, errores o deficiencias en el aprendizaje de las llamadas que generen alteraciones

en la estructura de los pulsos de ecolocalización (Jiang, Wu y Feng, 2015; Knörnschild et al., 2009). Por lo tanto, esto tiene gran fuerza en la divergencia de las características de los pulsos de ecolocalización (Jiang, Wu y Feng, 2015).

La separación poblacional de murciélagos entre refugios distantes geográficamente, promueve los procesos antes mencionados, provocando que dentro de una misma especie, sus diferentes poblaciones presenten características específicas entre ellas, es decir, variaciones entre sus poblaciones (Veselka et al., 2013), lo cual supone en algunos casos complicaciones o confusiones al caracterizar los pulsos de una especie en regiones geográficas diferentes (Luszcz et al., 2016), por ello la importancia de generar información que sirva de referencia a diferentes regiones geográficas para poder llevar a cabo identificaciones más precisas y menos complicadas.

ANTECEDENTES

La flexibilidad que tienen los murciélagos para modificar sus pulsos de ecolocalización en condiciones específicas como durante el desplazamiento, el desarrollo de crías a adultos o el forrajeo, hace que existan factores que influyan en la variación intraespecífica, por ejemplo, la estructura del hábitat, la ontogenia o la influencia de conespecíficos. Dentro del género *Myotis* se han realizado trabajos con diferentes especies que demuestran la variación de sus pulsos de acuerdo a diversos factores, como los factores extrínsecos de su hábitat, factores ontogénicos, la separación de las colonias y factores de distancia geográfica. A continuación, se presentan algunos trabajos que respaldan la variación en los pulsos de ecolocalización por estos factores.

Variación en respuesta a la zona de forrajeo

El ajuste que los individuos realizan en sus pulsos de acuerdo al tipo de hábitat en el que llevan a cabo sus actividades de vuelo les permite tener una mayor eficacia al momento del forrajeo, tal como lo confirman Wang y colaboradores en 2014 con su trabajo sobre *Myotis macrodactylus*, donde realizan un estudio del ajuste dinámico de la estructura de los pulsos de esta especie en respuesta a diferentes tipos de hábitats ribereños de ambientes fluviales, importantes como áreas de forrajeo para especies de murciélagos insectívoros, con diferentes niveles de saturación de la vegetación. Demostrando que *M. macrodactylus* realiza cambios en la estructura detallada de sus pulsos, modificando dinámicamente sus frecuencias, tasa de modulación y duración de sus pulsos de ecolocalización, lo cual mejora su respuesta a las distintas características estructurales de la vegetación en sus áreas de forrajeo.

Esta característica de flexibilidad que tienen los murciélagos en sus pulsos, se ve reforzada también por la investigación de Kraker y colaboradores en 2018, que evalúan el efecto de factores extrínsecos en la ecolocalización de *Myotis nigricans*, tomando como factor extrínseco el tipo de ambiente acústico (espacio abierto vs vegetación de fondo). Este trabajo demostró que la especie también modifica características en sus pulsos de

ecolocalización, acortando el intervalo entre ellos para tener una mejor respuesta en un entorno cerrado a través del retorno rápido de los ecos, permitiéndole una respuesta rápida y precisa a los obstáculos que se le presenten.

Variación por la ontogenia

El cambio en las características de los pulsos de ecolocalización de acuerdo a factores intrínsecos también se ha registrado dentro de este género, y especialmente en nuestra especie de interés, gracias a un trabajo realizado por Varela-Boyd y colaboradores (2019) que se centró en las vocalizaciones durante el desarrollo post natal de *Myotis velifer*. Este estudio demuestra un notable cambio en la estructura de los pulsos conforme al crecimiento de las crías, aumentando la frecuencia inicial y a la mitad del pulso, además de la reducción en la duración y el intervalo en relación a la talla de los individuos. Esto podría deberse al desarrollo de los órganos vocales y del sistema auditivo o al aprendizaje de las crías que se desarrolla conforme a la edad (Kraker et al., 2018; Pearl y Fenton, 1996).

Variación como firmas específicas

Otro papel importante en la variación de la ecolocalización es la condición social de los grupos que se forman en los refugios. Algunas especies de murciélagos forman colonias que en algunos casos tienen integrantes permanentes, como algunas colonias de maternidad (Fitch et al., 1981). La separación de estas colonias puede llevar a que los miembros de cada colonia generen una firma particular que ayude a los individuos a regresar a su refugio después del forrajeo y a discriminar entre los miembros de su grupo y los que no lo son, así lo demuestran Pearl y Fenton (1996) con su trabajo realizado en Nueva York con *Myotis lucifugus*, en el que se estudiaron colonias cercanas entre ellas. Concluyendo que sí existe variación entre las colonias de maternidad de *M. lucifugus*, y que las firmas específicas que generan los individuos entre los grupos les permiten mejor comunicación entre los integrantes de cada grupo, esta caracterización puede ser el resultado de una transferencia cultural de aprendizaje de los adultos hacia las crías, por lo que, al ir creciendo la cría, las características de sus pulsos van modificándose hasta asemejarse a los pulsos de un adulto.

Variación geográfica

Debido a que existen diferentes factores que influyen en la variación intraespecífica de la ecolocalización, se consideró importante conocer qué tanto influye la separación geográfica de las poblaciones.

Veselka y colaboradores (2013) realizaron un estudio sobre la variación espacial en las llamadas de ecolocalización de *Myotis lucifugus*, controlando factores que pueden causar variación intraespecífica como el hábitat, la ontogenia, la presencia de conoespecíficos, técnicas de grabación y factores ambientales, para tratar de evaluar solamente el nivel de variación por la escala de separación espacial. Para esto se consideraron tres escalas: pequeña escala (separación de hasta 1 km; entre sitios), escala intermedia (separación de 2 a 500 km; grupo de sitios) y escala continental grande (separación de más de 1000 km; ubicaciones).

Para controlar la interferencia de otros factores de variación realizaron la grabación de murciélagos que se alimentan en aguas tranquilas y lejos de la vegetación, sin climas tempestuosos y durante principios del verano, para evitar la interferencia de juveniles recién voladores. Al realizar el análisis estadístico se observó que a pequeña escala hubo una variación significativa, posiblemente debido a firmas específicas de alojamiento y actividades de forrajeo grupal. Sin embargo, a escala intermedia no se encontró un efecto espacial en las características de los pulsos, esto tal vez es debido a la presencia de individuos de varios grupos que forrajean juntos o que estos sitios constituyen una gran población reproductora.

En cuanto a la escala continental, es posible que la variación se deba a una baja probabilidad de mezcla genética, lo que lleva a una diferencia en la estructura de los pulsos. Con esto concluyeron que la variación espacial es un factor importante que debe estudiarse en la ecolocalización de los murciélagos para una mejor comprensión de los factores que influyen en las variaciones intraespecíficas de los pulsos de ecolocalización.

Por lo tanto, al tener en cuenta que la variación en los pulsos de ecolocalización no se relaciona con un solo factor, es necesario que se lleven a cabo más investigaciones a nivel especie que ayuden a la comprensión de estos factores y las implicaciones que tienen al momento de utilizar la ecolocalización como método de investigación e identificación (Russo, Ancillotto y Jones, 2017; Varela-Boydo et al., 2019; Jiang, Wu y Feng, 2015; Wang et al., 2014).

Myotis velifer

El murciélago *Myotis velifer* es una especie insectívora de la familia Vespertilionidae. Se alimenta principalmente de Coleópteros, Lepidópteros, Hemípteros, Dípteros, entre otros (Kunz, 1974). Se distribuye desde El Salvador y Honduras en Centroamérica hasta Estados Unidos en Norteamérica, por buena parte de México (exceptuando las Penínsulas de Yucatán y Baja California) (Fitch et al., 1981). Se ha registrado en ambientes como bosques, y ocupa como refugios principalmente las cuevas. Se encuentra en una categoría de riesgo bajo (LR) con preocupación menor (lc) según la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (Fitch et al., 1981; Solari, 2019).

Es una especie cavernícola que forma colonias desde cientos hasta miles de individuos dependiendo la temporada. A principios de abril forman colonias de maternidad, donde las hembras se reúnen en refugios con ciertas características específicas como humedad y temperatura que les favorece y garantiza los recursos necesarios para parir y criar a sus crías. Estas colonias tienen una duración aproximada de seis meses, desde que arriban las hembras hasta la marcha de las crías adultas. A partir de las seis semanas de edad las crías son capaces de volar, de emitir pulsos de ecolocalización y buscar su alimento (Fitch et al., 1981; Fuentes, 2011; Varela-Boydo et al., 2019).

JUSTIFICACIÓN

Las variaciones intraespecíficas en los pulsos de ecolocalización que se deriva de la separación geográfica entre colonias de la misma especie de murciélagos, pueden generar confusiones o complicaciones para la identificación y clasificación durante el análisis de los pulsos grabados en ambientes libres y/o no controlados (Kraker et al., 2018; Veselka et al., 2013). Una de las causas es la falta de información sobre las variaciones que pueden existir dentro de una misma especie, ya sea por efectos ambientales, geográficos, ecomorfológicos o la combinación de estos (Guillén y Ibáñez, 2007).

El avance de los equipos electrónicos para transformar, registrar y analizar los ultrasonidos emitidos por los murciélagos (Mac Aodha et al., 2018; Parsons, Boonman y Obrist, 2000) y debido a que cada vez se utilizan más frecuentemente los parámetros de ecolocalización para el estudio y monitoreo de los murciélagos (Barlow et al., 2015; Russo, Ancillotto y Jones, 2017) es importante realizar investigaciones sobre las variaciones geográficas entre colonias de la misma especie, para poder generar y ampliar la información y el conocimiento de aspectos claves (como aspectos evolutivos) relacionados con variables geográficas (Jiang, Wu y Feng, 2015; Van Den Bussche y Hooper, 2004), que permitan la correcta identificación de especies particulares a lo largo de su rango de distribución.

HIPÓTESIS

El distanciamiento geográfico entre los refugios de percha de colonias de maternidad del murciélago *Myotis velifer*, provocará una diferenciación de las características de los pulsos de ecolocalización como una forma de especificidad entre los miembros de cada colonia.

OBJETIVOS

Objetivo general

Identificar la variación y diferenciación en los pulsos de ecolocalización en cinco colonias de maternidad del murciélago *Myotis velifer* separadas geográficamente a diferentes escalas espaciales.

Objetivos específicos

Comparar las características y variación de los pulsos de ecolocalización de cinco colonias de maternidad de *M. velifer*.

Determinar si la variación en los pulsos de ecolocalización de las cinco colonias de maternidad está asociada al aislamiento geográfico *per se*.

METODOLOGÍA

Sitios de estudio y grabaciones acústicas

Las grabaciones provienen de tres regiones geográficas del país; Noroeste, Altiplano y Centro-Sur, y se obtuvieron a partir de capturas en cinco colonias de maternidad (Figura 1). De la región Noreste se estudió la colonia ubicada en el estado de Durango en el municipio de San Bernardo en la localidad de Matalotes, con coordenadas UTM 0427473 y 2919259 (sistema WGS84) a una altitud de 1875 m s. n. m., Cuenta con pastizal natural en los alrededores del refugio (Sonozots-AMMAC-CONABIO 2018). En el Altiplano se estudiaron individuos de la colonia ubicada en el estado de Zacatecas en el municipio de Tabasco, con coordenadas UTM 0715616 y 2419381 (sistema WGS84) a una altitud de 1500 m s. n. m., en sus alrededores podemos encontrar agricultura de riego. Y una colonia que se forma en un refugio ubicado también en el estado de Zacatecas, en el municipio de Jalpa, con coordenadas UTM 0709843 y 2393756 (sistema WGS84) a una altitud de 1363 m s. n. m., donde en los alrededores se puede encontrar agricultura de riego (Sonozots-AMMAC-CONABIO 2018).

Finalmente, de la zona Centro-Sur se estudiaron dos cuevas, la cueva “El Salitre” ubicada en el municipio de Tlaltizapán, en la localidad de Tetecalita, con coordenadas UTM 0479987 y 2073194 (sistema WGS84) a una altitud de 1100 m s. n. m, cuenta con fragmentos alterados de vegetación de selva baja caducifolia, campos de cultivo agrícolas y ganaderos y unidades habitacionales cercanas. Y la cueva “Agua Fría” ubicada en el municipio de Tlaquiltenango, con coordenadas UTM 500090 y 2050198 (sistema WGS84) a una altitud de 1139 m s. n. m. Esta cueva se encuentra a 150 m de la presa Agua Fría, en los alrededores se puede encontrar vegetación de selva baja caducifolia perturbada y campos de cultivo (Fuentes, 2011).

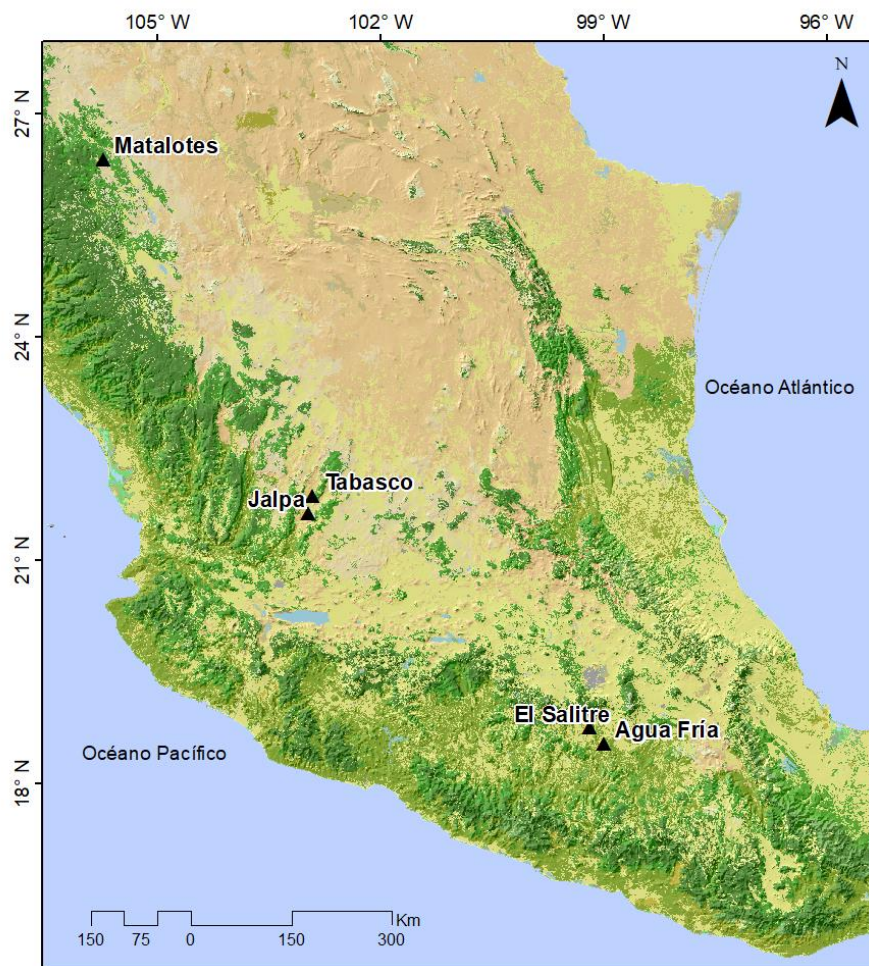


Figura 1. Ubicación de las colonias de maternidad de *Myotis velifer* que se estudiaron.

Método de captura, liberación y grabación de los ejemplares

Las grabaciones de los murciélagos de las colonias de los estados de Zacatecas y Durango se obtuvieron en el mes de agosto del año 2016 a partir del proyecto “Compilación de la fonoteca de referencia de los murciélagos insectívoros de México: Fase I” (Sonozots-AMMAC-CONABIO 2018). Tanto las capturas, liberación de ejemplares y las grabaciones fueron realizadas siguiendo el protocolo diseñado para dicho proyecto (detalles en Zamora-Gutiérrez et al., 2020). Este consistió en capturar ejemplares con redes de niebla o de mano en los refugios, identificación taxonómica a nivel de especie, determinación del sexo, condición reproductiva y edad relativa de cada ejemplar capturado, registro de las medidas

morfológicas habituales como la longitud del antebrazo, longitud de oreja y trago, así como el peso, asignando un código de identidad a cada ejemplar.

Posteriormente los ejemplares fueron grabados con un detector Avisoft modelo USG 116H conectado a la unidad de grabación LapTop Dell Inspiron, usando el método de liberación de mano y en una configuración de hábitat similar a la que usa normalmente la especie para forrajear (Fitch et al., 1981; Zamora-Gutierrez et al., 2020).

Mientras que las grabaciones del estado de Morelos se realizaron en el mes de septiembre del año 2019, utilizando un detector ultrasónico Song Meter SM4 (Wildlife Acoustics), colocándolo a una distancia de tres a cuatro metros aproximadamente del punto de liberación del murciélago. Para cada colonia se capturaron 20 individuos utilizando redes de mano y transportándolos al exterior en sacos de manta. Posteriormente se colocaron en sacos individuales. De cada organismo se midió la longitud del antebrazo utilizando un vernier electrónico, el sexo, la edad (juvenil, adulto) y el estado reproductivo (inactivo, lactante, post lactante) para futuras referencias. A cada individuo se le asigno un código de identidad para posteriormente ser liberados manualmente uno a uno en un espacio abierto cerca de su cueva, donde se les indujo el vuelo levantándolos y soltándolos en lo alto, siguiendo su trayectoria de vuelo con el micrófono del detector hasta perderlo de vista y esperando un pequeño período antes de liberar el siguiente.

Análisis de las grabaciones

Sin considerar los métodos de captura, liberación y grabación, para los análisis de los sonidos se utilizó el programa BatSound Pro v.3.31, a una velocidad de muestreo de 44100, con un tiempo de expansión de 10, transformaciones de Fourier de 512 puntos con una ventana tipo Hanning y un 95% de superposición entre ventanas sucesivas; para lograr que los pulsos se definieran de la mejor manera para su medición se modificó el umbral y el contraste hasta lograr el objetivo (Rizo-Aguilar, 2008). De cada individuo grabado se seleccionaron los pulsos consecutivos de mejor calidad, con poco ruido de fondo y donde se visualizará con claridad la estructura del pulso; aunque se trató de que fueran secuencias

de diez pulsos (figura 2), en algunas grabaciones esto no fue posible, pues en el espectrograma se marcaba demasiado ruido o los pulsos no tenían la suficiente potencia y no se visualizaba el pulso completo.

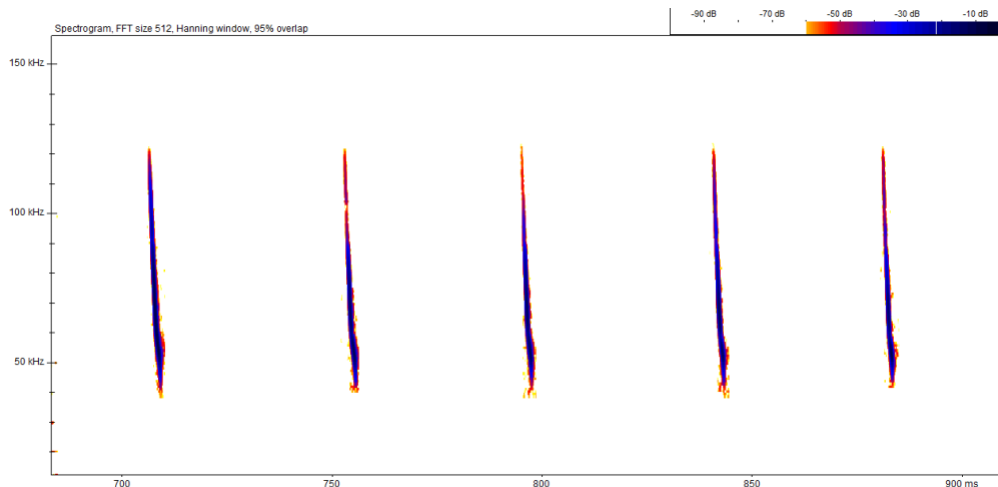


Figura 2. Visualización en el espectrograma de una secuencia representativa de *Myotis velifer*.

Medición y caracterización de los pulsos

Para caracterizar los pulsos de ecolocalización y hacer las comparaciones entre individuos de las colonias se consideraron dos parámetros de tiempo, medidos en milisegundos (ms); y cinco parámetros de frecuencia, medidos en kilohertzios (kHz), utilizando el protocolo propuesto por Rizo-Aguilar (2008). Los parámetros de tiempo fueron: Duración (DUR), midiendo el intervalo de tiempo en el que inicia el pulso y en el que termina (Figura 3, a), intervalo (INTERV), se midió el lapso entre el inicio de un pulso y el inicio del siguiente (Figura 3, b). Los parámetros de frecuencia fueron: Frecuencia inicial (FINI), donde se tomó el valor de la frecuencia donde inicia el pulso (Figura 3, c). La frecuencia Final (FFNI), para ello se tomó el valor de la frecuencia donde termina el pulso (Figura 3, e). Así como la frecuencia intermedia (FT/2), tomando el valor de la frecuencia a la mitad del recorrido temporal del pulso (Figura 3, d). Además del ancho de banda (DIFMAXMIN), en el que se midió la diferencia entre la frecuencia máxima (FINI) y la frecuencia mínima (FFNI) del pulso

(Figura 3, f). La frecuencia de máxima amplitud (FMAXAM), medida en el espectro de potencia, donde se tomó el valor en el punto en que el pulso alcanza su máxima energía (Figura 3, g).

El análisis de las mediciones las realizó una misma persona para evitar variaciones o sesgos de apreciación al momento de analizar y medir los pulsos. Y todos los datos obtenidos de las mediciones de las grabaciones junto con la información de cada individuo fueron almacenados en una base de datos de Excel, que posteriormente se utilizó para realizar los análisis estadísticos.

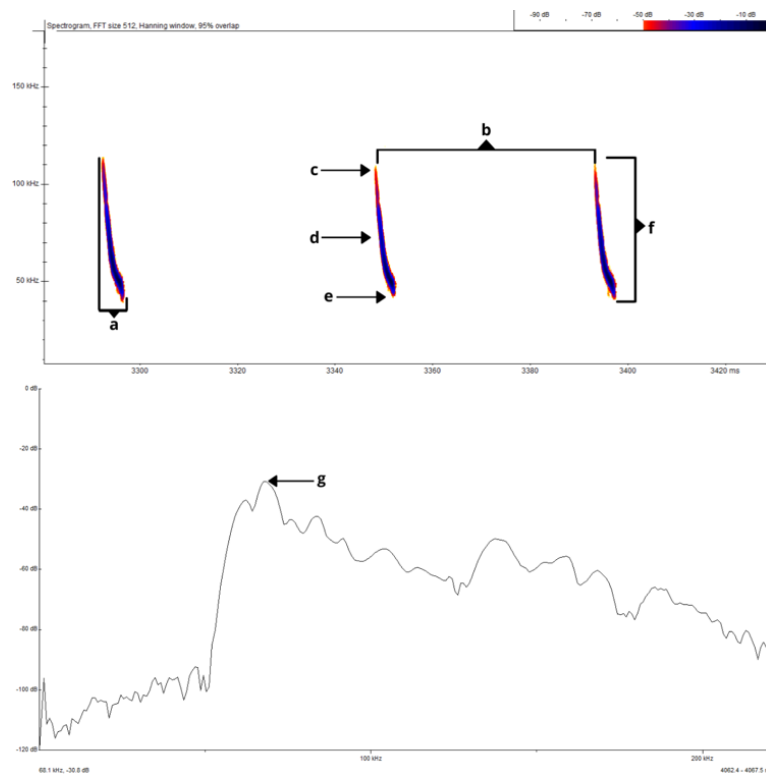


Figura 3. Visualización de cómo se midieron los pulsos en el espectrograma; duración (a), intervalo (b), frecuencia inicial (c), frecuencia intermedia (d), frecuencia final (e), ancho de banda (f), y en el espectro de poder; frecuencia de máxima amplitud (g).

Análisis estadísticos de los pulsos

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía para determinar si existen diferencias significativas entre los promedios de los parámetros de los pulsos entre las colonias de

maternidad, es decir, variación geográfica. Cada uno de los parámetros de tiempo y frecuencia se consideraron como una variable independiente. Se utilizó un α de 0.05, lo que nos asegura un 95% de confianza en nuestros resultados (Beaver, Beaver y Mendenhall, 2010). Para cada parámetro que el ANOVA arrojó diferencias significativas, se procedió a realizar un análisis *a posteriori* mediante una prueba de comparaciones múltiples de Bonferroni, para comparar los promedios de cada colonia y saber cuáles son diferentes (Thomás, 2009).

También se utilizó un análisis multivariado de varianza, utilizando todos los parámetros medidos (la duración, el intervalo, la frecuencia inicial, la frecuencia final, la frecuencia intermedia, la máxima amplitud y el ancho de banda), seguido de un análisis discriminante, para ilustrar qué tanta diferencia existe entre los grupos (Thomás, 2009). Estos análisis estadísticos fueron realizados con el programa Statistica 7 (Stat Soft, 2004).

Para evaluar si existe un efecto de aislamiento por distancia entre los pulsos de ecolocalización se calcularon las distancias de Mahalanobis como una medida de disimilitud de los pulsos entre las colonias; además se midieron las distancias geográficas en kilómetros entre las colonias de maternidad utilizando Google Earth Pro (2020). Con ambas matrices de distancias se realizó una prueba de Mantel para estudiar la asociación entre las disimilitudes de los pulsos y las distancias geográficas de las colonias, utilizando el paquete Vegan en el programa R (R Core Team, 2019).

RESULTADOS

De un total de 73 grabaciones únicamente 58 fueron viables de analizar, 13 de la región Altiplano, 14 del Noroeste y 31 de la zona Centro-Sur, pues no en todas las grabaciones se encontraron pulsos óptimos para su medición, las 58 grabaciones analizadas arrojaron un total de 442 pulsos medidos (Tabla 1).

Tabla 1. Individuos y pulsos medidos por colonia de maternidad.

COLONIAS DE MATERNIDAD	No. DE GRABACIONES	No. DE PULSOS
Tabasco	6	41
Jalpa	7	39
Matalotes	14	112
Agua Fría	15	119
Salitre	16	131
Total	58	442

De acuerdo con el ANOVA realizado, los parámetros que mostraron diferencia entre las colonias de maternidad fueron la frecuencia inicial, la frecuencia final, la frecuencia intermedia, la duración, el intervalo y la frecuencia de máxima amplitud (Tabla 2). El único parámetro que no mostró diferencias significativas entre los promedios de las colonias fue el ancho de banda ($F=1.25$, $p=0.30$).

Tabla 2. Promedios de los parámetros de la estructura de las llamadas de ecolocalización de cada colonia de maternidad y valores de F y P resultantes de los ANOVA.

COLONIAS DE MATERNIDAD	FI	FF	F1/2P	DUR	INT	DIFMAXMIN	FMAXAM
Tabasco	138.7	69.25	92.79	1.54	37.1	69.44	83.7
Jalpa	132.38	67.42	89.63	1.47	46.28	64.95	80.71
Matalotes	122.19	57	73.16	3.39	63.8	65.99	73.68
Agua Fría	99.28	42.53	59.9	2.96	54.31	57.68	55.35
Salitre	111.97	41.81	62.15	3.52	56.24	70.13	57.87
	P=0.000006	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.000003	P=0.300271	P=0.00

Las pruebas de Bonferroni, mostraron que para la frecuencia inicial la colonia de Tabasco presenta mayor diferenciación con respecto a las otras colonias, presentando las frecuencias iniciales más altas, con una media de 138.7 kHz, mientras que Agua Fría tiene la frecuencia inicial más baja de 99.28 kHz. Las frecuencias iniciales de Matalotes y Jalpa muestran valores intermedios de 122.19 y 132.38 kHz en promedio (Figura 4).

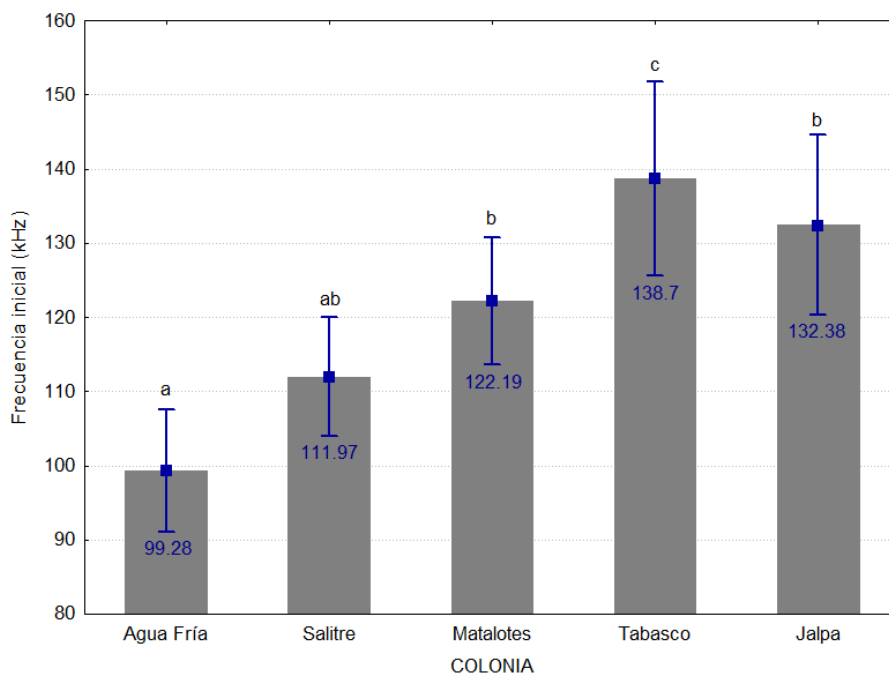


Figura 4. Comparación de medias para la frecuencia inicial entre las 5 colonias de maternidad estudiadas.

En cuanto a la frecuencia final, las colonias de Tabasco y Jalpa presentan las frecuencias más elevadas de 69.25 y 67.42 kHz en promedio, mientras que las del Salitre y Agua Fría tienen las frecuencias más bajas de 42.53 y 41.81 kHz, y la de Matalotes un promedio intermedio (Figura 5).

La frecuencia a la mitad del pulso presentó resultados similares a la frecuencia final (Figura 6), siendo Agua Fría y El Salitre las frecuencias más bajas, entre 59.9 y 62.15 kHz y Tabasco y Jalpa las frecuencias más altas de 92.79 y 86.63 kHz. La colonia de Matalotes tuvo frecuencias intermedias (Figura 6).

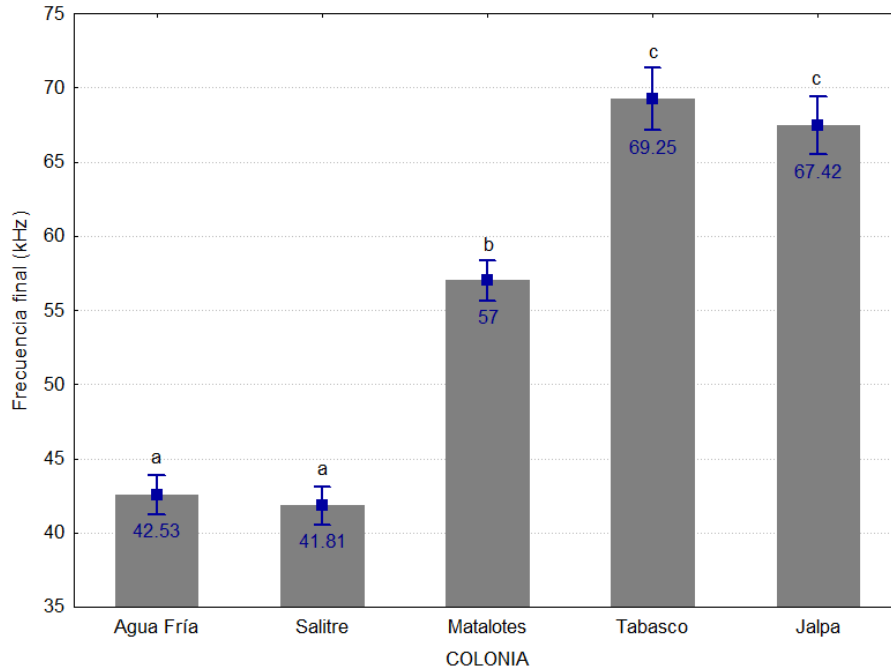


Figura 5. Comparación de medias para la frecuencia final entre las 5 colonias de maternidad estudiadas.

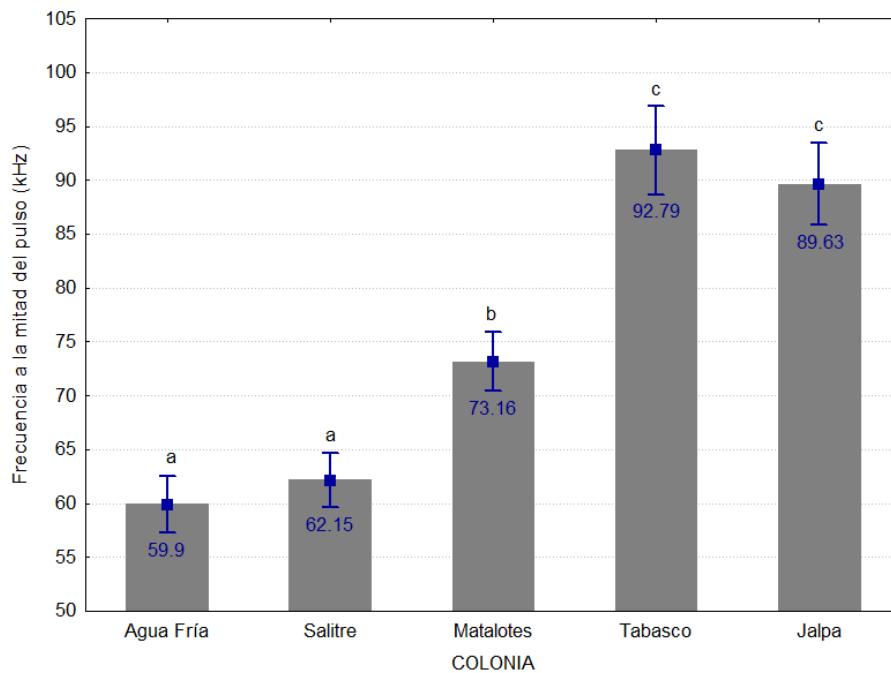


Figura 6. Comparación de medias para la frecuencia a la mitad del pulso entre las 5 colonias de maternidad estudiadas.

Del mismo modo, la frecuencia de máxima amplitud también nos muestra este patrón de diferenciación entre las colonias (Figura 7).

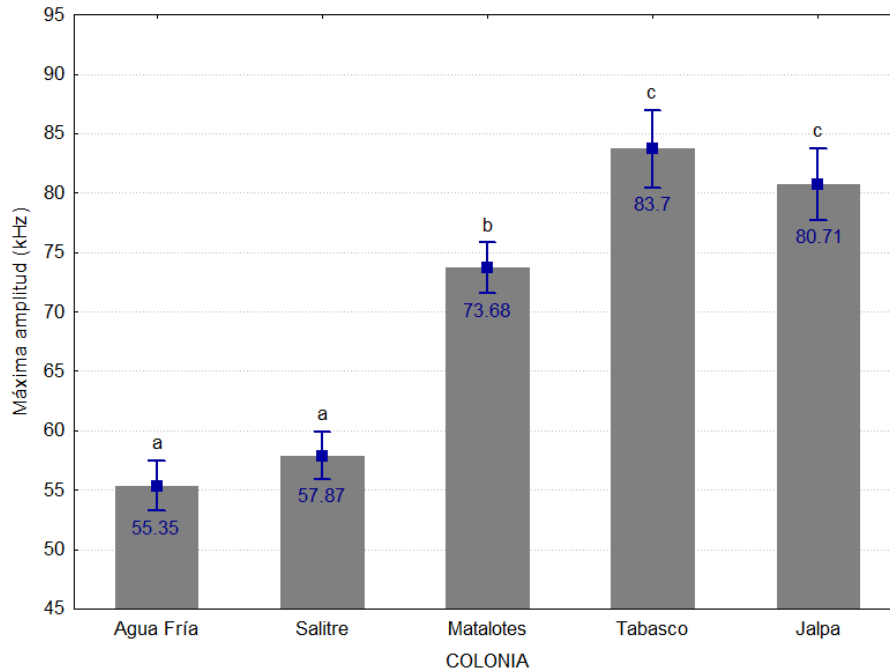


Figura 7. Comparación de medias para la frecuencia de máxima amplitud entre las 5 colonias de maternidad estudiadas.

Por otro lado, los parámetros de tiempo muestran un patrón distinto. Para la duración, solo se forman dos grupos de promedios; uno formado por las colonias de Agua Fría, el Salitre y Matalotes, que tienen promedios de 2.96, 3.52 y 3.39 ms, respectivamente, mientras que las de Tabasco y Jalpa tienen una duración significativamente más baja, siendo Jalpa el menor con 1.57 ms (Figura 8).

En el caso del intervalo podemos observar que la colonia de Matalotes es la de mayor diferenciación presentando un intervalo entre pulsos más alto de 63.8 ms, seguida de Agua Fría y El Salitre, que tienen un intervalo entre 54.31 y 56.24 ms, mientras que la de Tabasco presenta un intervalo de 37.1 ms, siendo el menor de todas las colonias (Figura 9).

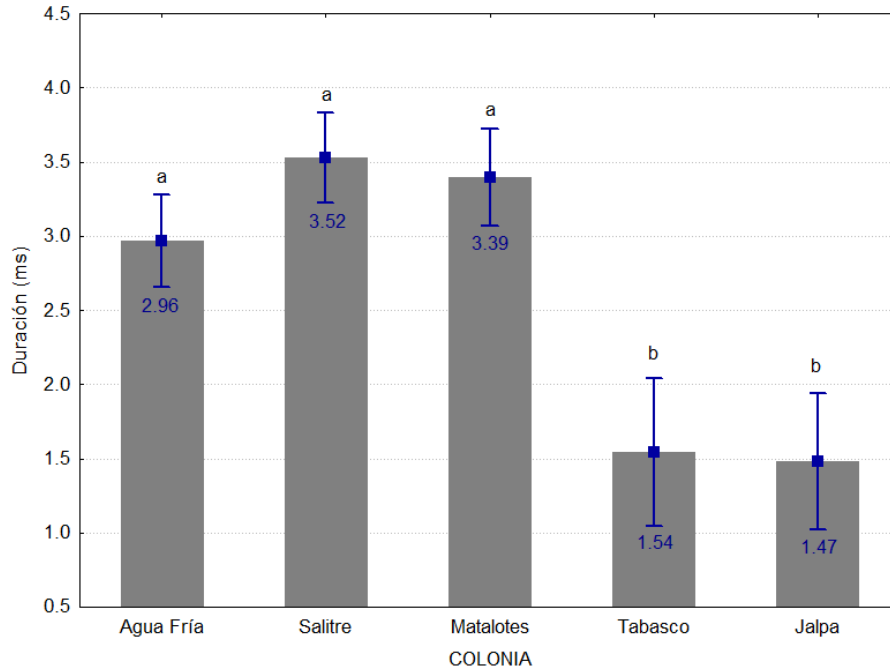


Figura 8. Comparación de medias para la duración entre las 5 colonias de maternidad estudiadas.

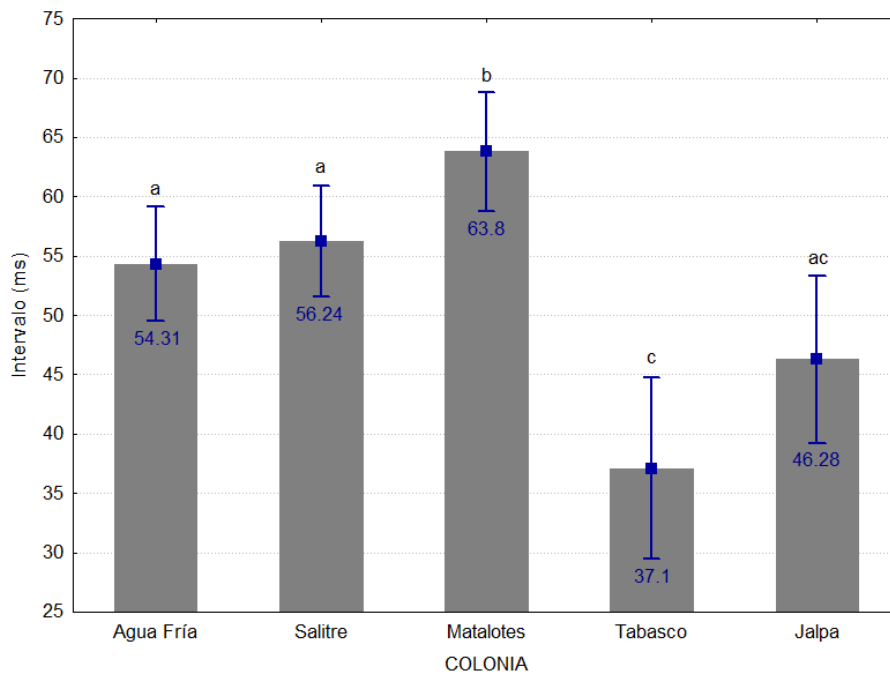


Figura 9. Comparación de medias para el intervalo entre las 5 colonias de maternidad estudiadas

Al realizar el análisis multivariado de varianza se observó una diferencia significativa entre las colonias de las regiones geográficas ($P < 0.05$), sin embargo, la diferencia entre los pulsos de las colonias de Agua Fría y El Salitre no fue significativa ($F = 1.66$, $P = 0.14$), así como las colonias de Tabasco y Jalpa ($F = 0.76$, $P = 0.62$) (Tabla 3). Esto también se ve reflejado en el análisis discriminante que mostró una diferenciación entre las colonias y una relación entre las colonias de Agua Fría y El Salitre, y entre Tabasco y Jalpa (Figura 10).

Tabla 3. Valores de F de color azul, y valores de P de color marrón, resultantes del análisis multivariado y prueba discriminante.

	Agua Fría	Salitre	Matalotes	Tabasco	Jalpa
Agua Fría		1.66	48.1	72.84	72.585
Salitre	0.14		45.86	74.8	75.15
Matalotes	0.00	0.00		21.89	20.21
Tabasco	0.00	0.00	0.00		0.76
Jalpa	0.00	0.00	0.00	0.62	

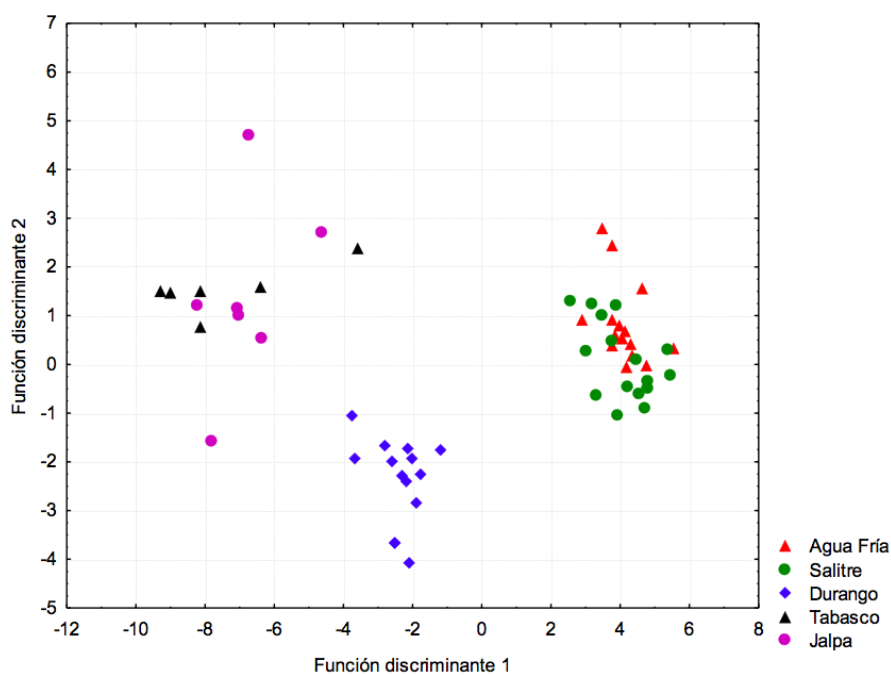


Figura 10. Análisis discriminante para las colonias de maternidad.

Al obtener las distancias de Mahalanobis podemos observar que las colonias que muestran más disimilitud en sus pulsos son Tabasco y El Salitre, con una distancia de 135.3. Por otro lado, las más similares son la de Agua Fría y el salitre, con una distancia de 1.7. Mientras que geográficamente las colonias más alejadas son la de Matalotes con Agua Fría, con 1108 km de separación, y las más cercanas son Jalpa y Tabasco con 26.07 km (Tabla 4). El resultado de la prueba de Mantel reveló que no hay una asociación significativa entre las diferencias acústicas en las señales de ecolocalización y las distancias geográficas que separan a los sitios de percha de las colonias de maternidad ($r= 0.25$, $P= 0.14$).

Tabla 4. Distancias cuadradas de Mahalanobis de color azul, y distancias geográficas (en km) entre las colonias de maternidad de color marrón.

	Agua Fría	Salitre	Matalotes	Tabasco	Jalpa
Agua Fría		1.7	52.43	134.17	120.04
Salitre	30.57		48.48	135.31	121.83
Matalotes	1108.43	1082.72		41.14	34.18
Tabasco	549.78	519.89	576.27		1.86
Jalpa	539.37	508.15	596.05	26.07	

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este trabajo mostraron una clara variación en los pulsos de ecolocalización del murciélago *M. velifer*, entre las colonias a escala mediana, es decir, separadas por más de 500 km de distancia. Tal variación se reflejó en todos los parámetros medidos a excepción del ancho de banda que no presentó una diferencia significativa entre las colonias. Esto puede indicar que *M. velifer* cuenta con gran flexibilidad en sus pulsos, a diferencia de lo observado en otra especie de murciélago vespertilionido como *Corynorhinus townsendii*, que no presenta diferenciación en sus pulsos de ecolocalización a causa de la geografía, ni por otros factores como el sexo o la configuración del hábitat (Estañol, 2021).

Nuestros resultados son similares a lo observado en *M. lucifugus*, cuya ecolocalización presenta variaciones significativas, aunque atribuibles a factores diversos (Pearl y Fenton, 1996; Veselka et al., 2013). Pearl y Fenton (1996) reportan variaciones en los pulsos de *M. lucifugus* como una forma de especificidad que mejora la comunicación entre los miembros de cada colonia, puesto que las colonias estaban separadas por tan solo 500 metros.

En cuanto a la variación de pulsos a mayor escala (más de 500 m), Veselka y colaboradores (2013) estudiaron la influencia de la distancia entre colonias de *M. lucifugus* registrando variación a una distancia mayor a 1000 km de separación entre las colonias. Este trabajo reporta algo similar con *M. velifer*, especie que también presentó variación en sus pulsos a escala grande (distancia mayor a 1000 km de separación). Esto lo observamos entre las colonias del estado de Morelos y la colonia de Durango (separadas por alrededor de 1100 km). Sin embargo, hay cierta discordancia al comparar los resultados de la escala mediana que se definió en el trabajo de Veselka y colaboradores (2013), pues su escala iba desde los 2 hasta los 500 km, lo cual abarca nuestras dos escalas menores que son entre los estados de Morelos y Zacatecas, con una distancia de poco más de 500 km, y dentro de las colonias ubicadas dentro de dichos estados con alrededor de 30 km de separación.

Pese a estas observaciones, parte de los resultados se contradicen, pues los datos de variaciones entre los estados de Zacatecas y Morelos, con una separación un poco mayor a 500 km muestran que si existe una diferenciación en los pulsos de *M. velifer*.

Estos resultados contrastantes para *M. lucifugus* (Veselka et al., 2013) y los encontrados en este trabajo para *M. velifer* (entre Morelos y Zacatecas), podrían deberse a que el factor que impulsa la variación en los pulsos en estas dos especies no sea el mismo, porque aunque haya variación entre colonias separadas geográficamente, el factor influyente no es necesariamente la distancia que separa las colonias. Como el caso de *Tadarida brasiliensis*, una especie de la familia Molossidae, que a pesar de presentar diferencias significativas en sus llamadas entre colonias separadas dentro del rango de distribución de esta especie en Estados Unidos, la variación en sus pulsos no se asoció a la distancia geográfica, ni a las condiciones ambientales locales, pero sí se sabe que la flexibilidad individual de los murciélagos de esta especie en respuesta a la interferencia del ruido ambiental en su entorno puede ser el factor que impulsa tal variación (Gillam y McCracken, 2007). Por lo que a pesar de haber obtenido variación entre nuestras colonias, es necesario un estudio más detallado que permita identificar las posibles causas de la variación encontrada, con análisis acústicos complementarios al espacio de vuelo en las zonas de forraje de esta especie.

La diferenciación geográfica encontrada en este estudio puede atribuirse a cuatro factores:

1) *La distancia y/o aislamiento geográfico*. Sin embargo, al realizar la prueba de Mantel y comparar las distancias cuadradas de Mahalanobis y las distancias geográficas, nuestros estadísticos muestran que $r = 0.25$ y $P = 0.14$, lo que refuta nuestra hipótesis sobre la variación de los pulsos y su relación a la distancia entre colonias de *M. velifer*.

2) *Tipo de hábitat*. En algunas especies el entorno de vuelo de los individuos es un factor influyente en la estructura de los pulsos de ecolocalización (Jiang, Wu y Feng, 2015; Russo, Ancillotto y Jones, 2017), ya que dependiendo de la saturación de la vegetación o la presencia de cuerpos de agua, algunas especies como *M. nigricans* (Kraker et al., 2018) y *M.*

macrodactylus (Wang et al., 2014), pueden ajustar dinámicamente sus pulsos para mejorar la respuesta a los desafíos del entorno y ser más eficientes a los desafíos. Ya que en este trabajo no se consideró la complejidad del área de vuelo, y la descripción del hábitat donde se encuentra cada colonia fue escasa, no es posible concluir si el tipo de hábitat es realmente influyente en la variación de los pulsos de nuestra especie. Por este motivo, se sugiere que se realicen estudios posteriores donde se tome en cuenta este componente.

3) *Firmas vocales de cada colonia o región.* La ecolocalización también juega un papel comunicativo importante, ayudando al reconocimiento social de los individuos pertenecientes a una colonia, como lo sugieren Voigt-Heucke, Taborsky y Dechmann (2010), y responden de manera diferente al interactuar con individuos pertenecientes a su colonia y los individuos ajenos a ella (Chen et al., 2016), generando firmas específicas entre miembros de una misma colonia que ayudan a la interacción social entre miembros de cada colonia, como en el caso de *M. lucifugus* (Pearl y Fenton, 1996). Por lo que es posible que *M. velifer* haya generado sus propias firmas específicas ayudando así a que mejoren la comunicación entre los miembros de cada colonia, ya que entre las colonias más cercanas (dentro del mismo estado por ejemplo) hay mayor similitud que entre colonias distantes geográficamente, es decir, entre colonias alejadas entre estados.

Si bien, algunos autores sugieren que no es necesaria una separación geográfica para que se genere especificidad en la ecolocalización de grupos de murciélagos (Chen et al., 2016; Voigt-Heucke, Taborsky y Dechmann, 2010), sino el hecho de que pertenezcan a grupos sociales diferentes (Chen et al., 2016; Pearl y Fenton, 1996; Voigt-Heucke, Taborsky y Dechmann, 2010), por lo que a pesar de que no se tiene la certeza de que entre las colonias más cercanas no haya una interacción entre los miembros de las colonias una vez estando disueltas estas colonias, es posible que generen firmas específicas entre ellas como entre estados. Pero a pesar de que entre estas colonias no se haya generado especificidad no se descarta la posibilidad de que la variación en *M. velifer* sea motivada como un distintivo de los miembros de cada colonia.

4) *Estructura genética y filogeográfica, historia evolutiva y especies crípticas*. La divergencia en las frecuencias de los pulsos de ecolocalización puede deberse a la presencia de especies hermanas o de una divergencia evolutiva, como en el caso de *Pipistrellus pipistrellus* (Jones y Van Parijs, 1993) que se consideró una misma especie distribuida en toda Europa, pero al mostrar que sus pulsos caen dentro de dos tipos de frecuencia; una alta frecuencia (cerca de 55 kHz) y otra baja frecuencia (cerca de 46 kHz), se sugirió que *Pipistrellus pipistrellus* en realidad correspondía a dos especies hermanas crípticas (Jones y Van Parijs, 1993).

En el caso de *M. velifer*, que es claro que presenta tres tipos de frecuencias de máxima amplitud; frecuencias bajas, cercanas a 55 en el estado de Morelos; frecuencias intermedias, cercanas a 70 en Durango; y frecuencias altas, cercanas a 80 en Zacatecas (figura 11), puede sugerir una divergencia genética en la especie por la falta de interacción y flujo genético entre las colonias, ya que las frecuencias no solo caen en los extremos con frecuencias altas y frecuencias bajas, sino que también presenta frecuencias intermedias. Aunado a esto, la duración y el intervalo tienen una disimilitud considerable entre los tres rangos de separación. Como ocurre con *P. pipistrellus* que se sugiere que la causa de la bimodalidad en su ecolocalización puede ser una selección disruptiva causada por el tipo de alimentación o por una selección sexual (Jones y Van Parijs, 1993).

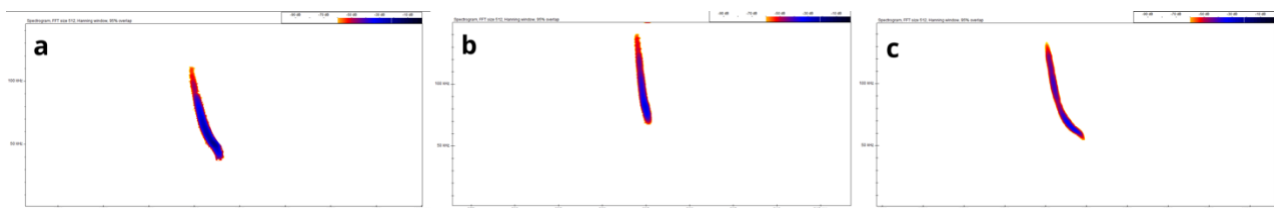


Figura 11. Comparación visual de los pulsos representativos de *M. velifer* de los estados de Morelos (a), Zacatecas (b) y Durango (c) en el espectrograma.

Otro caso similar fue el de *Hipposiderus larvatus*, en el que con una diferencia en sus frecuencias pico de más de 10 kHz y poca diferencia morfológica se describieron dos especies crípticas, con una divergencia genética de 12 – 13% (Thabah et al., 2006). No obstante, se sugiere que la variación en la ecolocalización no es un indicador

suficientemente confiable para asegurar una divergencia genética y de la historia evolutiva (Audet, Engstrom y Fenton, 1993; Jones y Van Parijs, 1993; Thabah et al., 2006).

Por ello, en el caso de *M. velifer*, se requiere de un análisis molecular para corroborar si existe estructuración y diferenciación genética de las poblaciones que habitan en las regiones del país muestreadas, y si esta diferenciación es suficiente para reconocer especies distintas. Existen otros casos como el de *Rhinolophus sinicus* donde a pesar de haber presentado variaciones significativas en su ecolocalización no se correlacionó con una divergencia genética, sino que es posible que se deba a una deriva cultural (Xie et al., 2017).

CONCLUSIÓN

De las cinco colonias muestreadas en este trabajo a diferente escala geográfica, se identificaron tres rangos de frecuencia a los que ecolocaliza *M. velifer*; a una frecuencia baja cercana a 55 kHz en las colonias de Morelos, a frecuencia intermedia cercana a 70n kHz en la colonia de Durango y a una frecuencia alta cercana a 80 kHz en las colonias de Zacatecas.

Se observó que la separación entre colonias influye en la ecolocalización de esta especie, mas no por la distancia en sí misma, como se había supuesto en un principio, sino que es el aislamiento entre poblaciones lo que podría estar generando la divergencia en los pulsos, como resultado de una mejora en la comunicación entre miembros de una colonia, o en su defecto, de un proceso evolutivo de divergencia como se ha documentado en otras especies (Jones y Van Parijs, 1993; Thabah et al., 2006). Sin embargo, para poner a prueba esta hipótesis es necesario realizar estudios más profundos utilizando análisis moleculares de ADN y morfología geométrica para identificar el principal factor influyente en la divergencia de la ecolocalización de *M. velifer*.

LITERATURA CITADA

- ALTRINGHAM, J., 2011. Echolocation and other senses. *Bats. From evolution to conservattion*. Second. Oxford, New York: Oxford University Press, pp. 63-96.
- AU, W., PENNER, R. y TURL, C., 1987. Propagation of beluga echolocation signals. *Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 82, pp. 807-813.
- AUDET, D., ENGSTROM, M. y FENTON, M., 1993. Morphology, karyology, and echolocation calls of *Rhogeessa* (Chiroptera: Vespertilionidae) from the Yucatan Peninsula. *Journal of Mammalogy*, vol. 74, pp. 498-502.
- BARLOW, K., BRIGGS, P., HAYSOM, K., HUTSON, A., LECHIARA, N., RACEY, P., WALSH, A. y LANGTON, S., 2015. Citizen science reveals trends in bat populations: The National Bat Monitoring Programme in Great Britain. *Biological Conservation*, vol. 182, pp. 14-26.
- BEAVER, B., BEAVER, R. y MENDENHALL, W., 2010. *Introducción a la probabilidad y estadística*. 13 ed. Cengage Learning Editores, S.A. de C.V
- BRITZKE, E., GILLAM, E. y MURRAY, K., 2013. Current state of understanding of ultrasonic detectors for the study of bat ecology. *Acta Theriologica*, vol. 58, pp. 109-117.
- BULLOCK, T. y RIDGWAY, S., 1972. Neurophysiological findings relevant to echolocation in marine animals. *Animal Orientation and Navigation*, pp. 373-395.
- CHEN, Y., LIU, Q., SU, Q., SUN, Y., PENG, X., HE, X. y ZHANG, L., 2016. 'Compromise' in echolocation calls between different colonies of the intermediate leaf-nosed bat (*Hipposideros larvatus*). *Plos One*, vol. 11, pp. 1-10.
- CORTÉS-CALVA, P., 2013. Ecolocalización (una visión a los quirópteros). *Therya*, vol. 4 pp. 9-14.
- ESTAÑOL, Y., 2021. *Variación en los pulsos de ecolocalización del murciélago *Corynorhinus townsendii**. Tesis de licenciatura. Universidad autonoma del estado de Morelos.
- FITCH, J., SHUMP, K. y SHUMP, A., 1981. *Myotis velifer*. *Mammalian Species*, vol. 149, pp. 1-5.
- FUENTES, L., 2011. *Tamaño y composición de dos colonias de maternidad del murciélago *Myotis velifer* en el estado de Morelos*. Tesis de licenciatura. Universidad autónoma del estado de Morelos.
- GARCÍA, Á. y LÓPEZ, C., 2018. Vidsupra visión científica. [en línea] [Consulta: 31 marzo 2019]. Disponible en: www.ciirdurango.ipn.mx.
- GILLAM, E.H. y MCCRACKEN, G.F., 2007. Variability in the echolocation of *Tadarida*

- brasiliensis*: effects of geography and local acoustic environment. *Animal Behaviour*, vol. 74, pp. 277-286.
- GOOGLE EARTH PRO (2020). Data SIO, NOAA, U.S. Navy, NGA, GEBCO US Dept of State Geographer © 2020 Google GeoBasis-DE/BKG.
- GRIFFIN, D., 1958. Listening in the dark. The Acoustic orientation of bats and men. *Science, New Series*, vol. 128, pp. 766.
- GUILLÉN, A. y IBÁÑEZ, C., 2007. Unusual echolocation behavior in a small molossid bat, *Molossops temminckii*, that forages near background clutter. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, vol. 61, pp. 1599-1613.
- JENSEN, M., MOSS, C.F. y SURLYKKE, A., 2005. Echolocating bats can use acoustic landmarks for spatial orientation. *Journal of Experimental Biology*, vol. 208, pp. 4399-4410.
- JIANG, T., WU, H. y FENG, J., 2015. Patterns and causes of geographic variation in bat echolocation pulses. *Integrative Zoology*, vol. 10, pp. 241-256.
- JONES, G. y HOLDERIED, M.W., 2007. Bat echolocation calls: Adaptation and convergent evolution. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, vol. 274, pp. 905-912.
- JONES, G. y VAN PARIJS, S., 1993. Bimodal echolocation in pipistrelle bats: Are cryptic species present. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, vol. 251, pp. 119-125.
- KNÖRNSCHILD, M., NAGY, M., METZ, M., MAYER, F. y VON HELVERSEN, O., 2009. Complex vocal imitation during ontogeny in a bat. *Biology Letters*, vol. 6, pp. 156-159.
- KRAKER, C., SANTOS, A., LORENZO, C. y MACSWINEY CRISTINA, 2018. Effect of intrinsic and extrinsic factors on the variability of echolocation pulses of *Myotis nigricans* (Schinz, 1821) (Chiroptera: Vespertilionidae). *Bioacoustics*, vol. 4622, pp. 1-15.
- KUNZ, T.H., 1974. Feeding Ecology of a Temperate Insectivorous Bat (*Myotis Velifer*). *Ecology*, vol. 55, pp. 693-711.
- LUSZCZ, T., RIP, J., PATRIQUIN, K., HOLLIS, L., WILSON, J., CLARKE, H., ZINCK, J. y BARCLAY, R., 2016. A Blind-Test Comparison of the reliability of using external morphology and echolocation-call structure to differentiate between the little brown bat (*Myotis lucifugus*) and Yuma Myotis (*Myotis yumanensis*). *Northwestern Naturalist*, vol. 97, pp. 13-23.
- MAC AODHA, O., GIBB, R., BARLOW, K., BROWNING, E., FIRMAN, M., FREEMAN, R., HARDER, B., KINSEY, L., MEAD, G.R., NEWSON, S.E., PANDOURSKI, I., PARSONS, S., RUSS, J., SZODORAY-PARADI, A., SZODORAY-PARADI, F., TILOVA, E., GIROLAMI, M., BROSTOW,

- G. y JONES, K.E., 2018. Bat detective—Deep learning tools for bat acoustic signal detection. *PLoS Computational Biology*, vol. 14, pp. 1-19.
- PARSONS, S., BOONMAN, A. y OBRIST, M., 2000. Advantages and disadvantages of techniques for transforming and analyzing chiropteran echolocation calls. *Journal of Mammalogy*, vol. 81, pp. 927-938.
- PEARL, D.L. y FENTON, M.B., 1996. Can echolocation calls provide information about group identity in the little brown bat (*Myotis lucifugus*)? *Canadian Journal of Zoology*, vol. 74, pp. 2184-2192.
- R CORE TEAM (2019). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- RIZO-AGUILAR, A., 2008. *Descripción y análisis de los pulsos de ecolocación de 14 especies de murciélagos insectívoros aéreos del estado de Morelos*. Tesis de maestría. Instituto de ecología, A. C.
- RIZO-AGUILAR, A., AVILA-TORRESAGATON, L.G., FUENTES, L., LARA, A., FLORES, G. y ALBINO, S., 2015. Técnicas para el estudio de los murciélagos. En: *Manual de técnicas del estudio de la fauna* (Gallina-Tessaro, S. ed.). Instituto de Ecología A.C. Xalapa, México. Pp. 163-188.
- RUSSO, D., ANCILLOTTO, L. y JONES, G., 2017. Bats are still not birds in the digital era: echolocation call variation and why it matters for bat species identification. *Canadian Journal of Zoology*, vol. 96, pp. 63-78.
- SCHNITZLER, H. y KALKO, E., 2001. Echolocation by insect-eating bats. , vol. 51, pp. 557-569.
- SOLARI, S., 2019. *Myotis velifer*. *The IUCN Red List of Threatened Species* [en línea]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2019-1.RLTS.T14208A22063586.en>.
- SONOZOTZ-AMMAC-ConABio (Sonozotz-Asociación Mexicana de Mastozoología-Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad). 2018. Informe final del proyecto Compilación de fonoteca de referencia de murciélagos insectívoros de México: Fase I. Informe no publicado. AMMAC, CONABIO. Ciudad de México, México.
- STAT SOF. INC. (2004). STATISTICA (data analysis software system). version 7. www.statsoft.com.
- TEELING, E., SPRINGER, M., MADSEN, O., BATES, P., O'BRIEN, S. y MURPHY, W., 2005. A molecular phylogeny for bats illuminates biogeography and the fossil record. *Science*, vol. 580, pp. 580-584.

- THABAH, A., ROSSITER, S., KINGSTON, T., ZHANG, S., PARSONS, S., MYA, K.M., AKBAR, Z. y JONES, G., 2006. Genetic divergence and echolocation call frequency in cryptic species of *Hipposideros larvatus* s.l. (Chiroptera: Hipposideridae) from the Indo-Malayan region. *Biological Journal of the Linnean Society*, vol. 88, pp. 119-130.
- THOMÁS, J., 2009. Pruebas paramétricas. *Fundamentos de bioestadística y análisis de datos para enfermería*. Barcelona: Servei de Publicacions, pp. 89-94.
- VAN DEN BUSSCHE, R. y HOOFFER, S., 2004. Phylogenetic relationships among recent chiropteran families and the importance of choosing appropriate out-group taxa. *Journal of Mammalogy*, vol. 85, pp. 321-330.
- VARELA-BOYDO, F., ÁVILA-TORRESAGATÓN, L.G., RIZO-AGUILAR, A. y GUERRERO, J.A., 2019. Variation in echolocation calls produced by *Myotis velifer* (Chiroptera: Vespertilionidae) during postnatal development. *Therya*, vol. 10, pp. 55-58.
- VESELKA, N., MCGUIRE, L.P., DZAL, Y.A., HOOTON, L.A. y FENTON, M.B., 2013. Spatial variation in the echolocation calls of the little brown bat (*Myotis lucifugus*). *Canadian Journal of Zoology*, vol. 91, pp. 795-801.
- VOIGT-HEUCKE, S., TABORSKY, M. y DECHMANN, D., 2010. A dual function of echolocation: Bats use echolocation calls to identify familiar and unfamiliar individuals. *Animal Behaviour*, vol. 80, pp. 59-67.
- WANG, L., LUO, J., WANG, H., OU, W., JIANG, T., LIU, Y., LYLE, D. y FENG, J., 2014. Dynamic adjustment of echolocation pulse structure of big-footed myotis (*Myotis macrodactylus*) in response to different habitats. *Acoustical Society of America*, vol. 135, pp. 928-932.
- WHITLOW, A. y SIMMONS, J., 2007. Echolocation in dolphins and bats. *Physics Today*, vol. 60, pp. 40-45.
- XIE, L., SUN, K., JIANG, T., LIU, S., LU, G., JIN, L. y FENG, J., 2017. The effects of cultural drift on geographic variation in echolocation calls of the Chinese rufous horseshoe bat (*Rhinolophus sinicus*). *Ethology*, vol. 123, pp. 532-541.
- ZAMORA-GUTIERREZ, V., ORTEGA, J., AVILA-FLORES, R., AGUILAR-RODRÍGUEZ, P.A., ALARCÓN-MONTANO, M., AVILA-TORRESAGATÓN, L.G., AYALA-BERDÓN, J., BOLÍVAR-CIMÉ, B., BRIONES-SALAS, M., CHAN-NOH, M., CHÁVEZ-CAUICH, M., CHÁVEZ, C., CORTÉS-CALVA, P., CRUZADO, J., CUEVAS, J.C., DEL REAL-MONROY, M., ELIZALDE-ARELLANO, C., GARCÍA-LUIS, M., GARCÍA-MORALES, R., GUERRERO, J.A., GUEVARA-CARRIZALES, A.A., GUTIÉRREZ, E.G., HERNÁNDEZ-MIJANGOS, L.A., IBARRA-LÓPEZ, M.P., IÑIGUEZ-DÁVALOS, L.I., LEÓN-MADRAZO, R., LÓPEZ-GONZÁLEZ, C., LÓPEZ-TÉLLEZ, M.C., LÓPEZ-VIDAL, J.C., MARTÍNEZ-BALVANERA, S., MONTIEL-REYES, F., MURRIETA-GALINDO, R., OROZCO-LUGO, C.L., PECH-CANCHÉ, J.M., PÉREZ-PÉREZ, L., RAMÍREZ-MARTÍNEZ, M.M., RIZO-AGUILAR, A., ROBREDO-ESQUIVELZETA, E., RODAS-MARTÍNEZ, A.Z., ROJO-CRUZ, M.A., SELEM-SALAS, C.I., URIBE-BENCOMO, E., VARGAS-

CONTRERAS, J.A. y MACSWINEY G., M.C., 2020. The Sonozotz project: Assembling an echolocation call library for bats in a megadiverse country. *Ecology and Evolution*, vol. 10, pp. 4928-4943.

Cuernavaca, Morelos a 11 de octubre de 2021

DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE
DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES
P R E S E N T E.

Por este conducto, los catedráticos suscritos comunicamos a Usted, que hemos revisado el documento que presenta la Pasante de Biólogo: **DIANA LIZBETH MORALES VENCES**, con el título del trabajo: **Variación geográfica en los pulsos de ecolocalización en colonias de maternidad del murciélago *Myotis velifer*.**

En calidad de miembros de la comisión revisora, consideramos que el trabajo reúne los requisitos para optar por la Modalidad de Titulación **por Tesis** como lo marca el artículo 4° del Reglamento de Titulación Profesional vigente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

A T E N T A M E N T E
Por una humanidad culta

JURADO REVISOR

FIRMA

PRESIDENTE: DRA. ARELI RIZO AGUILAR

SECRETARIO: M EN BIBYC. MONTSERRAT MONTER ROSALES

VOCAL: DR. JOSÉ ANTONIO GUERRERO ENRÍQUEZ

SUPLENTE: M EN C. A. LUIS GERARDO ÁVILA-TORRESAGATÓN

SUPLENTE: BIÓL. BLANCA NATIVIDAD GONZÁLEZ ZARIÑANA



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

MONTERRAT MONTER ROSALES | Fecha:2021-10-12 14:11:33 | Firmante

iPpv33edl5G5dm4sChn0atYVsQcfDdAgoBWlevOqeRvZsRoQJpTHOMhpPGmrrh6YF2WNTBvvcEoqnE15U+9BRLGu7F9VxmD+dhBoLYBzfvVngfXaP7mOFaSRsKPZooYpUE6GqxfaPcXXug1frHJjAiKkID1ilsXGaJ1pgMpv9vYf4ZuNdfq/Fr1ORbu4tGQ0NLfbN/8mppXWsbQwJ4nMENaTEYghN3aMTSaSnLteWqDeofBayD6saEQHhdsZN4qhXydpqvZqcZyBc/0begporB8l5pwbJ0psAVLlxQRu6JZavW6eU+o96r42y9ZP6YR2sgC/2x3sehVebLzT+Q==

JOSE ANTONIO GUERRERO ENRIQUEZ | Fecha:2021-11-01 12:54:14 | Firmante

CZfq1Qy/hoYWhB2W+YGal3ChgaP8K8EZiOHeueLDSSU+R0VH/9RCN5iVnuDrs3Nbp1G94O6iNjyOU5X1C9Phy7gp3emew7Zt2kwNtzAEKYAYqhMK+TJuGSUgudN5Vi/o1gB6iWgjj3Zt5GTk6OW/DLnC6/hbNfKi44wVqmMMODU4VLY0qkuBCfCnN3rKdw2U3NndmUUCNqaSVXLkjXCz0cljA9Y+wPJrLp20NzYyUBe8QKmntxHPThjsAYkLPEQkf1ABjYl2Nwuit9z305/6RcGq5vGaFuBEqYZye0j9fP6iXdx0+2v4Ebh3i/65d2+nnVkiCN9W+f8hXe0C5A==

ARELI RIZO AGUILAR | Fecha:2021-11-03 17:44:57 | Firmante

fZomChwilkMGHX0TPuGftwNj6jA3d6MHQE178hWkMBGuBOs73bj2u98rR+/BTFYFsoVfggQvAGpVF8EyyVhU/CnRteITnkfK36sHjfyqLAtgz4UIUxp5q60vr7I0duLEXhe1hGfqsB8jt74bgYvIliRuC4PwPv33dKt16MVMekDIMYGqWqWfKQ5WoubFMoLo8hiwuhAbwl/txw811Hjy+KWGyRxs1D43wXZ2mSNMHoCJhL9qNae/+f1sScgLnqne8wVT8VtJExjeQmPNAa/wj/Uiu8l63/yIYEjYzCOOid6BEtdZWMLcDW2EYsBc9e6Xl1WHp7KhmIj9YF5+w==

LUIS GERARDO AVILA TORRESAGATON | Fecha:2021-11-05 13:28:50 | Firmante

K3F3xKEju2cPoaLqnAjXc8+2rYXBMF+aFJ+yZVK9qgUBVdvZt0hnhqej34UwgaupOMVP+8TBkVosAgSkZ9V7oHFjoyHaiJk9vJYwSDGoDwjR5Nxi0PytboiMxHL1QWEh5dg7pMEGuFF0zrFBjQ6IMBAZjbaouYL4S8DjHXiuLkrih6gjmX8+NUcG7NteKpwRHRSEm42jBX7wYplCy4sP236Z/BFdsNfLOi+0lj0ouY65VljRWwhVItl21phnA5Rrx3hvNscJEhZY0GOv gURLhcxwSFfOWhxEHAYjvV8+6mG0kk3q1op40le61jtl5zVJz5/0Lkdn1Cq3x0gxqw==

BLANCA NATIVIDAD GONZALEZ ZARIÑANA | Fecha:2021-11-05 15:40:23 | Firmante

Np+x2FTJhmkKdNmgXjo9PFFaTYuGopCKS6bL2Y2m9Z5xXpXHLcL5rpDnbdv+MuGrEmj7mRgnbEilZlwoE0B/hnF052E3jkDMtzNdZGk1Lsz2zoNDOQTC4t1HoE1kKUB24P5iC Kc8YoZyl9yzi7PugMWVc45fy+bYPEyp3jZRI9loyJXhJMh2a7bJTnNyc4bAkZH8maUg2rZWZ5gGDNLXIYukrSobkQF18NGwuu25fPOotd4e0DPZ7AAdvYtl4hYRuejySzhxpG84MH z1b9p3V0ppet1FrQ1zxF2Un3xgSQtNSKQIIHwERwYJ7xN235P17KyD6zilT7pHlDhOH19yA==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



85e1Tx9H

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/FXq1NA89VaLiJMaqwkhlwvcJL01FKXB3>

