Biblioteca Digital
F C E N - U B A

BIBLIOTECA CENTRAL LUIS F LELOIR
BIBLIOTECA CENTRAL LELOIR
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES UBA

Tesis Doctoral

Flexibilidad comportamental del Tordo Renegrido (Molothrus bonariensis) al parasitar diferentes hospedadores

Tuero, Diego Tomás

2010

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:
Tuero, Diego Tomás. (2010). Flexibilidad comportamental del Tordo Renegrido (Molothrus bonariensis) al parasitar diferentes hospedadores. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Cita tipo Chicago:
Tuero, Diego Tomás. "Flexibilidad comportamental del Tordo Renegrido (Molothrus bonariensis) al parasitar diferentes hospedadores". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2010.

EXACTAS UBA
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

UBA
Universidad de Buenos Aires

Dirección: Biblioteca Central Dr. Luis F. Leloir, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. Intendente Güiraldes 2160 - C1428EGA - Tel. (++54 +11) 4789-9293

Contacto: digital@bl.fcen.uba.ar

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

DEPARTAMENTO DE ECOLOGÍA, GENÉTICA Y EVOLUCIÓN

FLEXIBILIDAD COMPORTAMENTAL DEL TORDO RENEGRIDO (MOLOTHRUS BONARIENSIS) AL PARASITAR DIFERENTES HOSPEDADORES.

Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires en el área Ciencias Biológicas por

DIEGO TOMÁS TUERO

Director: Dr. Juan Carlos Reboreda

Consejero de estudios: Dr. Juan Carlos Reboreda

Lugar de trabajo: Laboratorio de Ecología y Comportamiento Animal, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.

Buenos Aires – 2010

FLEXIBILIDAD COMPORTAMENTAL DEL TORDO RENEGRIDO (MOLOTHRUS BONARIENSIS) AL PARASITAR DIFERENTES HOSPEDADORES.

Resumen

Se estudió la flexibilidad comportamental de un parásito de cría generalista, el Tordo Renegrido (Molothrus bonariensis), mediante experimentos a campo y en laboratorio. Se utilizaron dos hospedadores frecuentes de esta especie, la Calandria Grande (Mimus saturninus) de mayor tamaño corporal que el parásito, y la Ratona Común (Troglodytes aedon) de menor tamaño que éste. Las características estudiadas fueron: 1) la inversión maternal medida como el tamaño y peso de los huevos, la concentración de testosterona en yema, y la proporción primaria de sexos; 2) el comportamiento de pedido de alimento de los pichones; y 3) el comportamiento de picadura de huevos de las hembras adultas. Las hembras de tordo pusieron huevos más grandes cuando parasitaron nidos de calandria que cuando parasitaron nidos de ratona. Sin embargo, no ajustaron la inversión de testosterona en yema ni la ni proporción primaria de sexos según el hospedador utilizado. Los experimentos a campo realizados para estudiar el comportamiento de pedido de alimento de los pichones mostraron que éstos tienen un comportamiento más intenso y de mayor duración cuando son criados en nidos de calandria que cuando lo son en nidos de ratona. Este comportamiento no dependió de otros factores como edad, peso o estado nutricional del pichón. Además, experimentos de translocación de huevos entre hospedadores mostraron que este comportamiento es plástico y depende del hospedador donde es criado el pichón. Los resultados obtenidos en experimentos con hembras adultas durante la época reproductiva mostraron que una misma hembra puede modificar su comportamiento de picadura de huevos dependiendo del contenido del nido. Las hembras mostraron un comportamiento de picaduras más intenso ante nidos que tenían un huevo del hospedador de mayor tamaño corporal (calandria) y un huevo de tordo que ante nidos con un huevo de un hospedador de menor tamaño corporal (ratona) y un huevo de tordo. Además, en el experimento con un huevo de calandria y uno de tordo las hembras picaron (y perforaron) preferencialmente los huevos de calandria. Los resultados obtenidos indican que el Tordo Renegrido presenta diferencias en su comportamiento parasitario según las características del hospedador utilizado. Para algunos de los caracteres estudiados estas diferencias parecerían tener una base genética mientras que para otros se trataría de plasticidad fenotípica.

Palabras claves: begging, comportamiento de pedido de alimento, comportamiento de picadura de huevos, inversión maternal, Molothrus bonariensis, parasitismo de cría, testosterona.

BEHAVIOURAL FLEXIBILITY OF SHINY COWBIRDS (MOLOTHRUS BONARIENSIS) PARASITIZING DIFFERENT HOSTS

Abstract

I studied the behavioral flexibility of a generalist brood parasite, the Shiny Cowbird (Molothrus bonariensis) by carrying out field and laboratory experiments. I used two common hosts of this parasite, the Chalk-browed Mockingbird (Mimus saturninus) a host larger than the cowbird and the House Wren (Troglodytes aedon) a host smaller than the cowbird. The characters analyzed were: 1) maternal investment measured as size and weight of the egg, concentration of testosterone in the yolk, and primary sex ratio; 2) begging of cowbird chicks and 3) puncture egg behavior of cowbird females. I found that cowbird females laid bigger eggs in mockingbird than in wren nests. However, they did not adjust the concentration of testosterone in the yolk or the primary sex ratio depending on the host used. Field experiments performed to study begging behaviour showed that cowbird nestlings raised in mockingbird nests had a shorter latency, a higher begging intensity and longer begging bouts than cowbird nestlings raised in wren nests. This behaviour did not depend on age, weight or condition of the chick. Besides, experiments of egg translocation between hosts showed that begging was plastic and depended on the host where the parasite chick was raised. The results of the experiments conducted with adult females during the reproductive season showed that they change her egg puncture behaviour depending on nest content. Females showed more intense puncture behaviour in nests with one host egg larger than that of the parasite (mockingbird) and one cowbird egg than in nests with one host egg smaller than that of the parasite (wren) and one cowbird egg. Also, in the experiment with one mockingbird and one cowbird egg females pecked (and punctured) preferentially mockingbird eggs. These results show that Shiny Cowbirds present differences in their parasitic behaviors depending on the host they use. For some of the characters studied these differences appear to have a genetic basis while for others they would be the result of behavioral flexibility.

Keywords: begging, egg puncture behavior, parental investment, Molothrus bonariensis, brood parasitism, testosterone.

Agradecimientos

En primer lugar a mi director de tesis, Juan Carlos Reboreda. Por tolerarme varios años más luego de sufrirme como director de mi tesis de licenciatura.

A CONICET por permitirme dedicarme a este divertido juego de entender la naturaleza.

A la FCEN-UBA, por instruirme como lo hizo sin exigirme nada a cambio.

A los ayudantes de campo que tuve durante estos años que sin ellos todo esto hubiese sido varios millones de veces más complicado. Sobre todo Dieguito el mejor buscador de nidos de la Argentina.

Al laboratorio 40 por compartir casi todos los días del año conmigo y aguantarme cuando me vuelvo pesadito. Sobre todo a Caro, Manu y Ceci que siempre puedo contar con ellas. También a Ros que labura en el campo que da miedo y siempre dispuesta a ayudar con todo. Además de su amistad claro esta.

A Nora Ceballos por permitirme hacer los análisis en su laboratorio, instruirme en algo que fue completamente nuevo para mi y por su enorme paciencia conmigo. También a las chicas del laboratorio 18 que siempre me ayudaron con los miles tubitos que use.

A amigos facultativos: Nacho, Tito y Rulo. Que mediante esas tardes de diseño de experimentos me inspiraron muchas ideas.

A mi familia por supuesto. Cuan lejos puede uno llegar sin ellos….

A la Fundación Elsa Shaw de Pearson por permitirme realizar el trabajo de campo en la Reserva privada Flora y Fauna autóctona “El Destino”. A Juana y Miguel, Alejandra, Jorge gracias por esos asados de cordero a la cruz, a Cacho por su conocimiento campestre. A María Luisa Pique y Juan Shaw por apoyarnos en nuestros proyectos.

Pero sobre por sobre todas las cosas a quienes me hacen feliz cada mañana. Mis pequeños y mi mujer.

A Vani, Gael y Antúan.

Índice

Capítulo 1: Introducción general

1.1 Parasitismo de cría interespecifico ……....…1

1.2 El grupo de los tordos ……...2

1.3 Objetivos Generales ……....…4

Referencias bibliográficas ……..…5

Capítulo 2: Metodología general

2.1 Área de Estudio ……...…9

2.2 La Calandria Grande: búsqueda y monitoreo de nidos ……9

2.3 La Ratona Común: búsqueda y monitoreo de nidos ……..…11

2.4 Biología reproductiva del Tordo Renegrido …..……..…14

2.5 Mediciones de huevos y pichones ……..…17

2.6 Determinación del sexo de huevos y pichones de Tordo Renegrido …..…..……17

Referencias bibliográficas ……..…18

Capítulo 3: Diferencia en el tamaño de huevo del Tordo Renegrido en dos hospedadores que difieren en tamaño corporal

3.1 Introducción ……..21

3.2 Metodología ……..24

3.2.1 Recolección de datos ……24

3.2.2 Tamaño de huevos y crecimiento de los pichones de tordo……...25

3.2.3 Diseño de los experimentos en nidos de calandria y de ratona ……..25

3.2.4 Análisis estadísticos ……..……..28

3.3 Resultados ……28

3.3.1 Tamaño de los huevos de Tordo Renegrido en nidos de calandria y ratona ……28

3.3.2 Tamaño de los pichones de Tordo Renegrido en nidos de calandria y ratona 29
3.3.3 Tasa de crecimiento y peso asintótico de los pichones de Tordo Renegrido en nidos de calandria y ratona 32
3.3.4 Relación entre el tamaño del huevo y el crecimiento de los pichones de Tordo Renegrido 34
3.4 Discusión 35
3.4.1 Diferencias en el tamaño de los huevos puestos en nidos de calandria y de ratona 35
3.4.2 Relación entre el tamaño del huevo y el crecimiento de los pichones de tordo 37
3.4.3 Crecimiento de los pichones de Tordo Renegrido 38
3.5 Conclusión 39
Referencias bibliográficas 39

Capítulo 4: Asignación de nutrientes, testosterona en yema y desvío en la proporción primaria de sexos en huevos de Tordo Renegrido
4.1 Introducción 45
4.1.1 Inversión Maternal 45
4.1.2 Deposición de Testosterona en yema y sus efectos 46
4.1.3 Inversión maternal en el contenido del huevo 51
4.1.4 Desviación adaptativa en la proporción primaria de sexos.....52
4.2 Metodología 54
4.2.1 Recolección de huevos 54
4.2.2 Determinación de la concentración de Testosterona en yema 55
4.2.3 Cálculo de la proporción primaria de sexos 56
4.2.4 Análisis estadísticos 56
4.3 Resultados 57

4.3.1 Concentración de testosterona en huevos de tordo puestos en nidos de calandria y ratona……57
4.3.2 Peso de la yema y clara en huevos puestos en nidos de calandria y ratona ……..59
4.3.3 Proporción primaria de sexos ……60
4.4 Discusión ……61
4.4.1 Inversión maternal en el huevo ……...61
4.4.2 Inversión maternal de testosterona en yema ……..62
4.4.3 Proporción primaria de sexos ……..……63
4.5 Conclusión ……...64
Referencias bibliográficas ……65

Capítulo 5: Variación del comportamiento de pedido de alimento de los pichones del Tordo Renegrido en distintos hospedadores
5.1 Introducción ……75
5.2 Metodología ……80
5.2.1 Recolección de datos ……80
5.2.2 Diseño de los experimentos en nidos de calandria y de ratona ……80
5.2.3 Medición de las variables comportamentales ……83
5.2.4 Medición de frecuencia de alimentación, alimento recibido y peso del pichón de tordo …….....……84
5.2.5 Análisis estadísticos ……85
5.3 Resultados ……85
5.3.1 Diferencias entre hospedadores en el comportamiento de pedido de alimento del pichón parásito ……...……85
5.3.2 Diferencias sexuales en el comportamiento de pedido de alimento ……..87
5.3.3 Comportamiento de pedido de alimento y alimento recibido ……..89

5.3.4 Comportamiento de pedido de alimento, crecimiento y condición del pichón ……..90
5.4 Discusión ……..……...92
5.4.1 Diferencias entre hospedadores y entre sexos en el comportamiento de pedido de alimento del pichón parásito ……..……....92
5.4.2 Relación del comportamiento de pedido de alimento y el alimento recibido 94
5.5 Conclusión ……..……95
Referencias bibliográficas ……..……..…95

Capitulo 6: Plasticidad del comportamiento de picadura de huevos
6.1 Introducción ……..……101
6.2 Metodología ……..……105
6.2.1 Experimentos de picaduras en nidos naturales de calandria ……....105
6.2.2 Experimentos de picaduras en condiciones de cautiverio ……..…106
6.2.3 Análisis estadísticos 109
6.3 Resultados ……..……109
6.3.1 Picaduras en nidos naturales ……..……..……109
6.3.2 Picaduras en nidos artificiales: evaluación de preferencias ……..…109
6.3.3 Picaduras en nidos artificiales: evaluación de plasticidad ……..……111
6.4 Discusión ……...…115
6.5 Conclusión ……..117
Referencias bibliográficas ……..……118

Capitulo 7: Conclusiones generales ……..……122
Referencias bibliográficas ……..……125

Capítulo 1

Introducción general

1.1 Parasitismo de cría interespecífico

El parasitismo de cría interespecífico en aves es una estrategia reproductiva en la que un individuo de una especie (el parásito), deposita sus huevos en nidos de otro individuo de otra especie (el hospedador) que se encarga de la incubación de los huevos y de la alimentación de los pichones del parásito. Generalmente, el cuidado parental de los pichones parásitos por parte del hospedador continúa por un tiempo variable luego de que éstos abandonan exitosamente el nido (Davies 2000).

Las especies parásitas de cría interespecíficas poseen una estrategia reproductiva obligada dependiendo completamente de su hospedador para reproducirse (Ortega 1998, Davies 2000). Las hembras parásitas de cría obligada no poseen la habilidad de construir nidos y de incubar huevos, y tampoco pueden alimentar a sus pichones (Sealy y col. 2002). El éxito de los parásitos depende de encontrar nidos para depositar sus huevos. La búsqueda de nidos es realizada por medio de claves comportamentales que proveen los hospedadores en las cercanías de sus nidos (Norman y Robertson 1975, Smith y col. 1984, Grieef y Sealy 2000). El parasitismo suele ocurrir durante la etapa de puesta del hospedador para disminuir la probabilidad de abandono del nido o de rechazo de los huevos parásitos (Briskie y Sealy 1987, Hill y Sealy 1994, Fraga 1998), pero antes de que el hospedador haya iniciado la etapa de incubación, para que su huevo tenga posibilidad de eclosionar tempranamente y su pichón no se encuentre en desventaja competitiva respecto a los pichones del hospedador (Rothstein y Robinson 1998).

Los pichones parásitos presentan características que les permiten competir por el alimento con los pichones del hospedador. Algunas especies poseen patrones de coloración en su boca que imitan al de los pichones de sus hospedadores (Nicolai 1974), otros poseen comportamiento de pedido de alimento más intenso (Lichtenstein y Sealy 1998), y una mayor tasa de crecimiento que la esperable para una especie de su tamaño corporal (Wiley 1986, Soler y Soler 1991, Kattan 1996). Estas últimas adaptaciones pueden en algunos

casos aumentar la probabilidad de muerte por inanición de los pichones del hospedador (Marvil y Cruz 1989).

1.2 El grupo de los tordos

El parasitismo de cría obligatorio es una estrategia reproductiva poco común que está presente sólo en el 1 % de las especies de aves y que ha evolucionado en forma independiente en al menos siete oportunidades dentro del grupo de las aves (Rothstein 1990). Estos eventos ocurrieron en dos subfamilias de cuclillos (Cuculinae y Neomorphinae), en los pinzones parásitos africanos (Anomalospiza imberbis y los viduas dentro de Estrilidae), en los "indicadores de miel" (Indicatoridae), en el Pato de Cabeza Negra Heteronetta atricapilla (Anatidae), y en los tordos (Icterinae) (Payne 1977, Rothstein 1990).

El grupo de los tordos (Icterinae) se distribuye en América (Ortega 1998) y abarca a 5 especies parásitas, todas incluidas dentro del género Molothrus (Lanyon 1992). Los tordos parásitos pueden clasificarse en especialistas o generalistas según utilicen unas pocas o muchas especies hospedadoras. Los parásitos generalistas pueden utilizar un gran número de hospedadores de taxa muy diversos (Ortega 1998). El Tordo Cabeza Marrón (M. ater) y el Tordo Renegrido (M. bonariensis) son especies sumamente generalistas que parasitan a más de 200 hospedadores. El Tordo Bronceado (M. aeneus) parasita alrededor de 70 especies, mientras que el Tordo Pico Corto (M. rufoaxillaris) y el Tordo Gigante (M. oryzivora) son las más especialistas, ya que utilizan tres y siete hospedadores, respectivamente (Ortega 1998, Jaramillo y Burke 1999).

El Tordo Renegrido es la especie de tordo con la distribución más amplia del género (Ortega 1998). Su distribución original incluía buena parte de América del Sur (con la excepción de Patagonia, Chile y la región Amazónica). A partir de comienzos del siglo XX, esta especie comenzó la colonización de las islas del Caribe y hacia fines de dicho siglo invadió el sur de los Estados Unidos de Norte América (Ortega 1998). Durante su expansión, esta especie fue incorporando nuevos hospedadores llegando en la actualidad a tener unos 250 hospedadores (Lowther 2010). Estos hospedadores poseen muy distintas características biológicas por lo que su calidad como hospedadores difiere marcadamente debido a que algunos rechazan huevos parásitos, no poseen una dieta adecuada para el

pichón de tordo, o difieren en las tasas de predación de sus nidos (Mason 1986a, Fiorini y col. 2005). Por otro lado, el patrón de utilización de los hospedadores por parte de las hembras no es aleatorio ya que utilizan con más frecuencia uno o pocos hospedadores por región y, dependiendo de la región geográfica, cambia la identidad de esos hospedadores (De Mársico y col. 2010).

El éxito reproductivo de las hembras de tordo varía según las características del hospedador utilizado (Fiorini y col. 2005) y el tamaño corporal del hospedador relativo al tamaño corporal del tordo es una de estas características. Las diferencias en tamaño entre el hospedador y el parásito se manifiestan tanto en los huevos como en los pichones. El éxito de eclosión de un huevo parásito podría verse reducido si es el huevo más chico de la nidada (Peer y Bollinger 1997). En estos casos, el huevo de tordo no es incubado adecuadamente porque no tiene un buen contacto con el parche de incubación de los padres (Peer y Bollinger 1997, 2000). En aquellos hospedadores de mayor tamaño corporal que el parásito la competencia por el alimento entre los pichones de ambas especies es mayor y en estos casos los pichones del hospedador se imponen a los del parásito resultando en una mayor mortalidad del pichón parásito (Astie y Reboreda 2009, Fiorini y col. 2009). Esto provoca una mayor mortalidad de pichones del parásito en este tipo de hospedadores (Fiorini y col. 2009). Los hospedadores también poseen otras características no asociadas a su tamaño corporal que afectan el éxito reproductivo de las hembras de tordo, como por ejemplo, el rechazo de huevos parásitos y el tipo de nido. Algunas especies hospedadoras rechazan total o parcialmente los huevos parásitos. El Tordo Renegrido presenta un alto polimorfismo en el patrón de manchas y en la coloración de la cáscara de sus huevos (Friedmann 1929, Ortega 1998). Algunos hospedadores (Tyrannus savana, Mason 1986a; Paroaria coronata, Luciano Segura, comunicación personal) rechazan todos los morfos de huevos de Tordo Renegrido, mientras que otros (Mimus saturninus, Mason 1986a; Pseudoleistes virescens, Mermoz y Reboreda 1994) sólo rechazan huevos del morfo inmaculado.

Otro factor que afecta el éxito reproductivo de la hembra de tordo es el tipo de nido que construye el hospedador (abiertos o en cavidades) ya que la tasa de predación de los nidos abiertos es mayor que la de los nidos en cavidades (Martin y Li 1992) y por lo tanto

la probabilidad de producir un pichón exitoso sería mayor en nidos en cavidades (Mason 1986, Fiorini y col. 2005).

Recientemente, se han encontrado evidencias que indicarían cierto grado de especialización en la utilización de hospedadores en las hembras de Tordo Renegrido (Mahler y col. 2007). Estos autores hicieron análisis genéticos del ADNm de pichones de tordo de una misma región pero provenientes de nidos de distintos hospedadores y encontraron que la distribución de frecuencias de haplotipos mitocondriales difiere entre hospedadores. El patrón encontrado es en parte explicado por el tipo de nido que construyen los hospedadores indicando que las hembras parásitas que utilizan hospedadores con nidos abiertos (ej: Calandria Grande, Mimus saturninus; Pecho Amarillo, Pseudoleistes virescens y Chingolo, Zonotrichia capensis) son genéticamente distintas de las que utilizan nidos cerrados (ej: Ratona Común, Troglodytes aedon). En forma paralela, Fiorini y col. (2009) encontraron diferencias en el comportamiento de sincronización de la puesta de huevos entre el hospedador y el parásito, y en el comportamiento de picaduras de huevos entre dos hospedadores que poseen distinto tipo de nido (Calandria Grande y Ratona Común). Estos resultados sugieren la existencia de comportamientos hospedador-específicos en esta especie parásita. Los resultados de Mahler y col. (2007) sugieren que las hembras de tordo podrían tener distintas historias evolutivas asociadas a los distintos hospedadores que explicarían estas diferencias comportamentales observadas.

En especies parasitas de cría generalistas que utilizan hospedadores de distinta calidad es interesante estudiar la evolución de comportamientos hospedador-específico. El Tordo Renegrido es un excelente modelo parásito para estudiar las variaciones comportamentales asociadas al tipo de hospedador parasitado ya que utiliza hospedadores de distintas características donde su éxito reproductivo es marcadamente diferente.

1.3 Objetivos Generales

El objetivo general de esta tesis es estudiar si existen diferencias comportamentales de una especie parásita de cría obligada, el Tordo Renegrido, al utilizar dos hospedadores en los que las hembras parásitas poseen distinto éxito reproductivo, la Calandria Grande y la Ratona Común. Los comportamientos a analizar son: la inversión parental en los huevos, el desvío adaptativo en la proporción primaria de sexos, el comportamiento de pedido de

alimento de los pichones parásitos y el comportamiento de picadura de huevos del hospedador por parte de la hembra parásita.

Objetivos específicos:

a) Estudiar la inversión materna de la hembra de Tordo Renegrido a través del tamaño del huevo, concentración de testosterona en yema y el ajuste adaptativo de la proporción primaria de sexos según el hospedador utilizado.
b) Estudiar el comportamiento de pedido de alimento por parte del pichón de Tordo Renegrido y su relación con las condiciones de competencia presentes en nidos de distintos hospedadores.
c) Estudiar mediante experimentos a campo y en cautiverio la preferencia y plasticidad del comportamiento de picadura de huevos de la hembra de Tordo Renegrido cuando visita y parasita nidos de sus hospedadores.

Referencias bibliográficas

Astié, A. A. y J. C. Reboreda (2009). Function of egg punctures by Shiny Cowbird in parasitized and unparasitized Creamy-bellied Thrush nests. Journal of Field Ornithology 80: 336-343.

Briskie J. V. y Sealy S. G. (1987). Responses of least flycatchers to experimental inter and intraspecific brood parasitism. Condor 89: 899-901.

Davies N. B. (2000). Cuckoos, Cowbirds and other Cheats. Oxford University Press, Oxford.

Davies N. B. y L. Brooke (1988). Cuckoos versus Reed Warblers: adaptations and counteradaptations. Animal Behaviour 36: 262-284.

De Mársico M. C., B. Mahler, M. Chomnalez, A. G. Di Giacomo y J. C. Reboreda (2010). Host use by generalist and specialist brood parasitic cowbirds at population and individual levels. Advances in the Study of Behavior 42: 83-121.

Fiorini V. D., A. A. Astie, D. T. Tuero y J. C. Reboreda (2005). Éxito reproductivo del Tordo Renegrido (Molothrus bonariensis) en hospedadores de distinto tamaño corporal. Hornero 20: 173-182.

Fiorini V. D., D. T. Tuero y J. C. Reboreda (2009). Shiny cowbirds synchronize parasitism with host laying and puncture host eggs according to host characteristics. Animal Behaviour 77: 561-568.

Fraga R. M. (1998). Interactions of the parasitic Screaming and Shiny Cowbirds Molothrus rufoaxilaris and M. bonariensis with a share host, the Bay-Winged Cowbid M. badius. En: Parasitic Birds and their Hosts. Studies in Coevolution. Editores: S. I. Rothstein & S. K. Robinson. Páginas: 173-193. Oxford University Press, New York.

Grieef P. M. y S. G. Sealy (2000). Simulated host activity does not attract parasitism by Brown-Headed Cowbirds (Molothrus ater). Bird Behaviour 13: 69-78.

Hill D. P. y S. G. Sealy (1994). Desertion of nest parasitized by cowbirds: have Clay-Coloured Sparrow evolved an anti-parasite defense? Animal Behaviour 48: 1063-1070.

Jaramillo A. y P. Burke (1999). New World Blackbirds-The icterids. Princeton New Jersey: Princeton University Press.

Kattan G. H. (1996). Growth and provisioning of Shiny Cowbird and House Wren host nestlings. Journal of Field Ornithology 67: 434-441.

Lichtenstein G. y S. G. Sealy (1998). Nestling competition, rather than supernormal stimulus, explains the success of parasitic Brown-Headed Cowbird chicks in Yellow Warbler nests. Proceedings of the Royal Society of London B 265: 249-254.

Lowther P. Lists of victims and hosts of the parasitic cowbirds (artículo en línea). Versión 17-09-2008. Disponible en: http://fm1.fieldmuseum.org/aa/Files/lowther/CBList.pdf (Consulta 2oct. 2010).

Mahler B., V. A. Confalonieri, I. J. Lovette y J. C. Reboreda (2007). Partial host fidelity in nest selection by the shiny cowbird (Molothrus bonariensis), a highly generalist avian brood parasite. Journal of Evolutionary Biology 20: 1918-1923.

Martin T. E. y P. Li (1992). Life history traits of open vs cavity-nesting birds. Ecology 73: 579-592.

Marvil R. E. y A. Cruz (1989). Impact of Brown-Headed Cowbird parasitism on the reproductive success of the Solitary Vireo. Auk 106: 476–480.

Mason P. (1986a). Brood parasitism in a host generalist, the Shiny Cowbird: I. The quality of different species as hosts. Auk 103: 52-60.

Massoni V. y J. C. Reboreda (1999). Egg puncture allows Shiny Cowbirds to assess host egg development and suitability for parasitism. Proceedings of the Royal Society of London B 266: 1871-1874.

Mermoz M. E. y J. C. Reboreda (1994). Brood parasitism of the Shiny Cowbird, Molothrus bonariensis, on the Brown-and-Yellorw Marshbird, Pseudoleistes virescens. Condor 96: 716-721.

Norman R. F. y R. J. Robertson (1975). Nest-searching behavior in the Brown-headed Cowbird. Auk 92: 610-611.

Ortega C. (1998). Cowbirds and other brood parasites. The University of Arizona Press, Tucson.

Payne R. B. (1977). The ecology of brood parasitism in birds. Annual Review of Ecology and Systematics 8: 1-28.

Peer B. D. y E. K. Bollinger (1997). Explanations for the infrequent cowbird parasitism on Common Grackles. Condor 99: 151-161.

Peer B. D. y E. K. Bollinger (2000). Why do female brown-headed cowbirds remove host eggs? A test of the incubation efficiency hypothesis. En: Ecology and Management of Cowbirds and Their Hosts: Studies in the Conservation of North American Passerine Birds. Editores: J. N. M. Smith, T. L. Cook, S. I. Rothstein, S. K. Robinson & S. G. Sealy. Páginas: 187-192. Texas: Smith University of Texas Press.

Rothstein S. I. (1990). A model system for coevolution: avian brood parasitism. Annual Review of Ecology and Systematics 21: 481-508.

Rothstein S. I. y S. K. Robinson (1998). The evolution and ecology of avian brood parasitism. En: Parasitic birds and their hosts, studies in coevolution. Editores: S. I. Rothstein & S. K. Robinson. Páginas: 3-56. Oxford University Press, New York.

Sealy S. G., D. G. McMaster y B. D. Peer (2002). Tactics of obligate brood parasite to secure suitable incubators. En Avian Incubation: Behaviour, Environment and Evolution. Editor: D. C. Deeming. Oxford University Press, Oxford, UK.

Smith J. N. M., P. Arcese y I. G. McLean (1984). Age, experience and enemy recognition by wild Song Sparrows. Behavioral Ecology and Sociobiology 14: 101-106.

Soler M. y J. J. Soler (1991). Growth and development of Great Spotted Cuckoos and their Magpie host. Condor 93: 49-54.

Wiley J. W. (1986). Growth of Shiny Cowbird and host chicks. Wilson Bulletin 98: 126-131.

Capítulo 2

Metodología General

2.1 Área de Estudio

El estudio se realizó en la Reserva Privada Flora y Fauna Autóctona “El Destino” ubicada en el Partido de Magdalena, Provincia de Buenos Aires (35° 08' S, 57° 23' O). La reserva tiene una superficie de 2400 hectáreas y forma parte de la Reserva de la Biosfera Parque Costero del Sur (MAB-UNESCO) y del Refugio de Vida Silvestre (Ley provincial 12016/97, Decreto 2846/97).

El área de estudio está caracterizada por la presencia de cordones de conchilla y arena paralelos o sub-paralelos a la costa del Río de la Plata (figura 2.1). Estos cordones poseen un suelo de alto drenaje donde se asientan parches de bosque cuyas especies dominantes son el Tala (Celtis tala) y Coronillo (Scutia buxifolia). Este estrato arbóreo alcanza una altura de 9 a 10 m (Cagnoni y col. 1996).

Figura 2.1: Parches de Tala y Coronillo en una matriz de pastizal en la Reserva Privada Flora y Fauna Autóctona el Destino. Imagen: Google Earth.

2.2 Búsqueda y monitoreo de nidos de Calandria Grande

La Calandria Grande (Mimus saturninus, de aquí en más calandria, figura 2.2 A) es la especie más grande de su género en la Argentina, con adultos que alcanzan una masa corporal de 75 g. (Sackmann y Reboreda 2003). Esta especie habita zonas semiabiertas, incluyendo ambientes modificados por el hombre (Fraga 1985) y se distribuye en el este de Sudamérica. Se la encuentra desde las sabanas dispersas al norte de la parte más baja del Río Amazonas hasta los 40° de latitud Sur en la Argentina (Fraga 1985). Su rango de distribución está incluido dentro del rango del Tordo Renegrido (Olrog 1979, Ortega 1998). Esta especie es uno de los principales hospedadores del Tordo Renegrido en Argentina (De Marsico y col. 2010).

La Calandria Grande se reproduce desde septiembre hasta enero (Fraga 1985). Los nidos son construidos en arbustos o pequeños árboles con follaje denso (Fraga 1985, figura 2.2 c) a una altura de entre 1 y 3 m. La biología reproductiva de esta especie fue estudiada previamente por Fiorini (2007) en el mismo sitio donde se realizó esta tesis. En ese estudio se determinó que el tamaño de puesta varía entre 3-5 huevos (figura 2.2 B). El tamaño promedio de los huevos es 28 mm. de largo y 21 mm. de ancho y su periodo de incubación de 14 días. Los huevos de calandria poseen manchas marrones sobre un color de fondo verde-celeste (figura 2.2 B). Los pichones permanecen en el nido entre 12 y 14 días.

La frecuencia de parasitismo en el sitio de estudio es del 74% con un promedio de 2.5 huevos por nido parasitado (Fiorini 2007, figura 2.2 B). El éxito reproductivo del tordo en este hospedador es de 0.08 volantones por huevo puesto (Fiorini y col. 2005). Los principales factores que afectan el éxito reproductivo del tordo en este hospedador son la alta tasa de depredación de los nidos (Fiorini y col. 2005) y la mortalidad de los pichones como resultado de la competencia por alimento con los pichones de calandria (Fiorini y col. 2009).

Los nidos se encontraron a partir de la observación de la actividad de los adultos en su territorio y luego mediante una búsqueda exhaustiva en los potenciales sitios de nidificación (Martin y Gueupel 1993). El seguimiento de los nidos en la etapa de construcción avanzada y puesta fue en la mayoría de los casos diario. Durante la etapa de incubación y en la etapa de pichones los nidos fueron visitados cada 1-3 días.

Figura 2.2: A) Adulto de Calandria Grande, B) Nidada de calandria con 3 huevos de calandria (huevos verdosos) y 4 de Tordo Renegrido del morfo manchado (huevos blancos con manchas rosadas), C) Nidada de calandria con 2 pichones de calandria y 1 de tordo de aproximadamente 2 días de edad. Fotos: Diego T. Tuero.

La cantidad de nidos de calandria encontrados en la zona de estudio desde la temporada reproductiva 2004 hasta la 2009 puede verse en la tabla 2.1.

Tabla 2.1: Número de nidos de Ratona Común y de Calandria Grande encontrados entre las temporadas reproductivas 2004 y 2009.

	2004	2005	2006	2007	2008	2009
Calandria	86	90	77	121	147	188
Ratona	59	54	50	51	39	54

2.3 Búsqueda y monitoreo de nidos de Ratona Común

La Ratona Común (Troglodytes aedon, de aquí en adelante ratona, figura 2.3 A), es una especie de pequeño tamaño (13 g; G. Fernández, comunicación personal), cuyo rango de distribución abarca prácticamente todo el continente americano. Su límite norte se encuentra en Canadá y su límite sur es en la zona austral de Argentina, Tierra del Fuego

(Brumfield y Capparella 1996). Su hábitat comprende zonas semiabiertas, bosques abiertos o jardines. Los sitios de nidificación son muy variados pero siempre anidan en cavidades, tanto naturales (cavidades en árboles, nidos abandonados de pájaros carpinteros, etc.) como de origen antrópico (por ejemplo, cavidades en techos de edificaciones, Skutch 1953). Los machos poseen territorios que defienden muy activamente y el sistema de apareamiento de la subespecie de América del Sur es predominantemente monogamia social (Llambías y Fernández 2009). El cuidado parental es compartido pero la incubación es realizada por la hembra (Skutch 1953).

Figura 2.3: A) Adulto de Ratona Común. B) Nidada de ratona en una caja nido con 5 huevos de ratona y 1 de Tordo Renegrido de morfo intermedio. C) Nidada de ratona con 4 pichones de ratona y 1 de tordo de aproximadamente 8 días de edad. Fotos: Diego T. Tuero.

En estudios previos realizados en esta especie, en la misma zona de estudio donde se llevó a cabo esta tesis, se encontró que el tamaño de puesta era de 5 huevos con un rango de 4-6 huevos (Tuero y col. 2007, figura 2.3 B). Los huevos son de color crema con manchas marrón-rojizas (figura 2.3 B). El tamaño promedio de los huevos es 17.5 mm. de

largo y 13.1 mm. de ancho (Tuero y col. 2007). El periodo de incubación es de aproximadamente 15 días y el tiempo de permanencia de los pichones en el nido es de 18 días (Skutch 1953, Tuero y col. 2007).

El parasitismo de cría por parte del Tordo Renegrido es frecuente en esta especie (Tuero y col. 2007, figura 2.3 B y 2.3 C). El 60% de los nidos de ratona son parasitados y la intensidad de parasitismo es de 1.7 huevos por nido parasitado (rango1-4 huevos) (Tuero y col. 2007). La supervivencia de los nidos de este hospedador así como la supervivencia de huevos y pichones de tordo en nidos de este hospedador es alta (Tuero 2004) lo que resulta en un alto éxito reproductivo (0,28 volantones por huevo puesto, Fiorini y col. 2005).

Para facilitar el seguimiento de los nidos y la manipulación de su contenido se utilizaron cajas nido de madera (figura 2.4). Las dimensiones externas de las cajas fueron 25 x 16 x 12 cm (alto, ancho, profundidad), mientras que las dimensiones internas fueron 23 x 14 x 10 cm. La caja nido tenía una entrada circular de 4,5 cm de diámetro y un techo o tapa móvil que permitía revisar fácilmente su contenido.

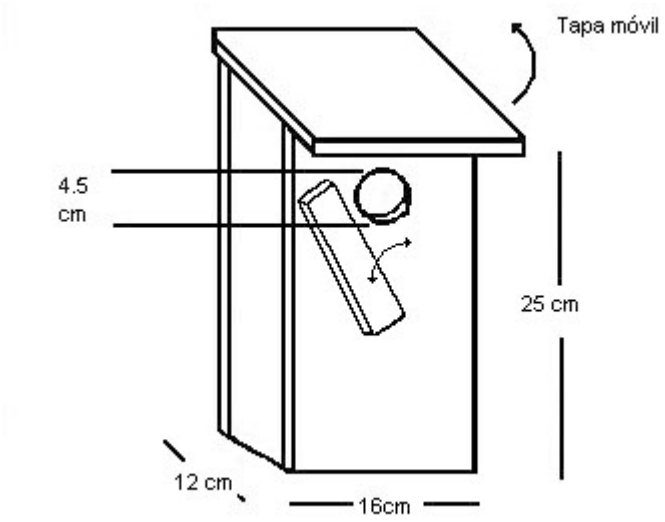

Figura 2.4: Esquema de las cajas nido para Ratona Común utilizadas en este estudio.

En el área de estudio se colocaron 100 cajas nido. Estas se dispusieron dentro y en los bordes de los parches de bosque (figura 2.5). Las cajas estaban separadas entre sí por al menos 30 m. Se adoptó este criterio porque en esta especie los machos defienden territorios, pudiendo picar y destruir huevos puestos en nidos ubicados cerca del nido

(Belles-Isles y Picman 1986). En cada parche de bosque se colocaron tantas cajas como las dimensiones de los mismos lo permitieron (de una a seis cajas por parche). Todas las cajas fueron colocadas en Talas a una altura de entre 1,5 y 2 m.

Figura 2.5: Caja-nido ubicada dentro de uno de los parches de Tala. Foto: Diego T. Tuero.

Las cajas-nido fueron revisadas regularmente desde el momento en que fueron colocadas hasta el final de la temporada reproductiva. El seguimiento de las cajas con nidos en la etapa de construcción avanzada y puesta fue en la mayoría de los casos diario. Durante la etapa de incubación y en la etapa de pichones los nidos fueron visitados cada 1-3 días.

La cantidad de nidos de ratona encontrados en las cajas desde la temporada reproductiva 2004 hasta la 2009 puede verse en la tabla 2.1.

2.4 Biología reproductiva del Tordo Renegrido

El Tordo Renegrido es una especie parásita de cría generalista que presenta un marcado dimorfismo sexual en tamaño y coloración del plumaje (Ortega 1998). Los machos tienen un peso de 50-55 g mientras que el peso de las hembras es de 40-45 g (Reboreda y col. 1996). Los machos tienen un plumaje negro con iridiscencia púrpura y azul-verdosa (Ortega 1998, figura 2.6 A). El plumaje de las hembras es de color marrón ceniciento (Ortega 1998, figura 2.6 B). El centro de distribución del Tordo Renegrido es la zona centro-este de la Argentina alcanzando hacia el sur, el norte y centro de la Patagonia y hacia el norte Venezuela y las islas del Caribe (Ortega 1998). Esta especie habita ambientes abiertos o semiabiertos naturales o transformados con actividad ganadera (Ortega 1998) pero es poco frecuente en zonas no disturbadas de bosques y selvas (Cavalcanti y Pimentel 1988).

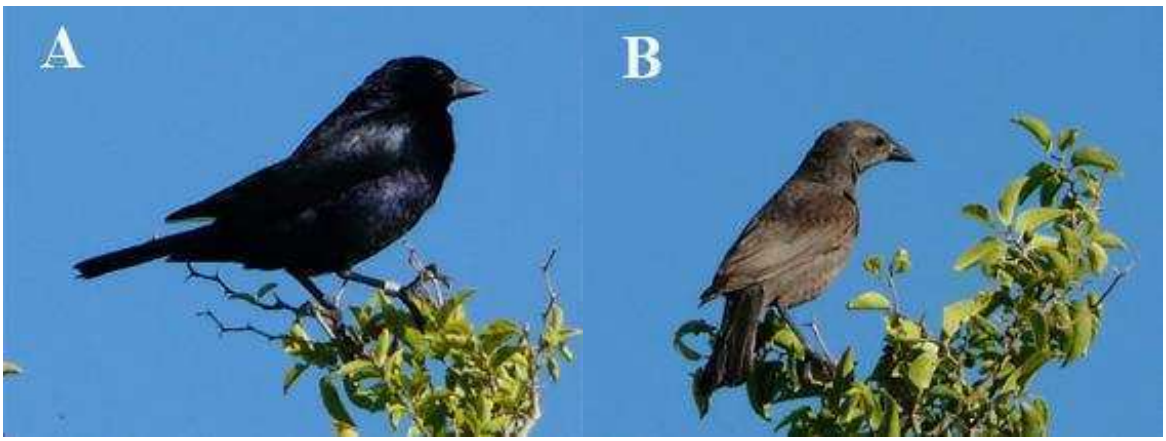

Figura 2.6: A) Macho adulto de Tordo Renegrido, B) Hembra adulta de Tordo Renegrido. Fotos: Diego T. Tuero.

En el área de estudio esta especie se reproduce desde mediados de septiembre hasta fines de enero (Mason 1986, Fiorini y Reboreda 2006, Tuero y col. 2007). El número de huevos que ponen las hembras durante la temporada reproductiva es alto con estimaciones que varían entre 60 (Hudson 1874, Friedmann y Kiff 1985) y 120 (Kattan 1993). Los huevos puestos por las hembras de tordo son altamente polimórficos tanto en la coloración como en el patrón de manchas de la cáscara (figura 2.7, Ortega 1998). La coloración de la cáscara puede ser blanca (figura 2.7 A), rosada (figura 2.7 E), verdosa, azulada, marrón claro o crema (figura 2.7 D, Ortega 1998). El patrón de manchas de la cáscara puede ser uniforme (figura 2.7 E y F), concentradas en un polo del huevo (figura 2.7 C), muy dispersas (figura 2.7 B y D) o carecer de manchas (figura 2.7 A, Ortega 1998). El tamaño

promedio de los huevos es de 23 mm de largo y de 19 mm de ancho y su periodo de incubación es de 13 días (Fiorini 2007, Tuero y col. 2007). Al nacer, los pichones de tordo tienen sus ojos cerrados y poseen la piel de color amarillenta, con franjas de plumón gris claras (figura 2.8 A). Las comisuras de la boca pueden variar entre el blanco y el amarillo, y el interior de la boca posee una intensa coloración roja (Fraga 1985, figura 2.8 B). Los pichones permanecen en el nido del hospedador entre 11 y 15 días (Fraga 1985, Mermoz y Reboreda 2003). Luego de abandonar el nido, permanecen junto a sus padres adoptivos durante varias semanas (Fraga 1985).

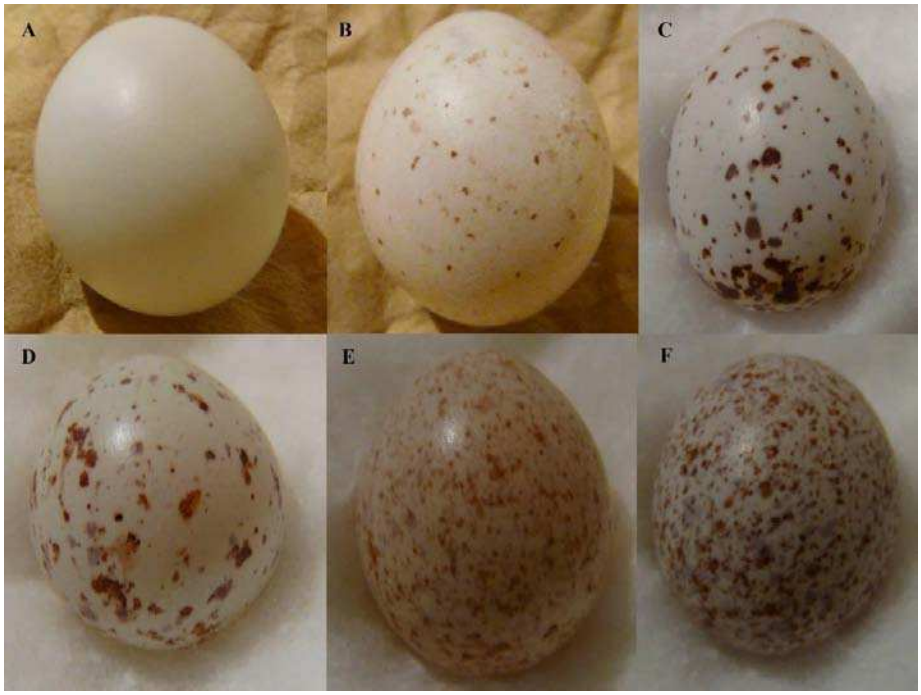

Figura 2.7: Polimorfismo en coloración y patrón de manchas de los huevos de Tordo Renegrido. A) huevo inmaculado, B) huevo con escasas manchas rosadas denominado intermedio, C) huevo con manchas concentradas en un polo y fondo de color blanco, D) huevo con manchas dispersas y fondo de color crema, E) huevo con un patrón de manchas uniforme y fondo rosado y F) huevo con patrón de manchas uniforme y fondo blanco. Fotos: Diego T. Tuero.

Figura 2.8: A) Pichón de Tordo Renegrido de dos días de edad, B) Pichón de Tordo Renegrido mostrando el interior de su boca al desplegar el comportamiento de pedido de alimento en un nido de Calandria Grande junto a dos pichones de calandria. Fotos: Diego T. Tuero.

2.5 Mediciones de huevos y pichones

Las variables medidas en cada visita dependieron de la etapa del ciclo de nidificación en la que se encontraba el nido. Durante la etapa de puesta e incubación se determinó la fecha de puesta de cada huevo del hospedador y del parásito (los huevos fueron rotulados con un marcador indeleble para su posterior identificación individual), sus medidas (eje mayor y menor utilizando un calibre con un error de 0,1 mm) y tipo de morfo de coloración del huevo parásito. En la etapa de pichones se registró la fecha de nacimiento de cada pichón y el peso de los mismos. Cada pichón fue identificado con marcas en sus patas utilizando un marcador indeleble. Los pichones se pesaron cada 1-2 días hasta el día diez, ya que partir de esta fecha las visitas pueden resultar en que los pichones abandonen prematuramente el nido. Para registrar el peso se usaron balanzas marca Pesola de 10, 30 y 60 g (error: 0,1; 0,2 y 0,5 g; respectivamente).

2.6 Determinación del sexo de huevos y pichones de Tordo Renegrido

Los huevos recolectados fueron sexados genéticamente mediante la amplificación de un intrón, variable en tamaño dependiendo del sexo, dentro del altamente conservado gen CHD localizado en los cromosomas sexuales de las aves (Ellegren 1996). Los huevos fueron incubados durante 48-72 hs a 37º C. Posteriormente se procedió a la disección del huevo y se extrajo una muestra de tejido que se colocó en buffer DMSO. En el caso de los pichones, se tomó una muestra de sangre (20-30 µl) a través de la punción de la vena braquial con una aguja 31G. La sangre fue colectada con un capilar heparinizado e inmediatamente mezclada con buffer de lisis (100mM Tris pH 8, 10 mM NaCl, 100mM

EDTA, 2% SDS). El ADN fue extraído usando un protocolo standard (Miller y col. 1988) y amplificado usando primers P2 y P8 (Griffiths y col. 1998). El ADN se amplificó mediante una PCR realizada con 10-µl de volúmenes de reacción usando 50-100 ng de templado de ADN, 0.5 µM primers, 0.25 mM de cada dNTP, 2.5 mM MgCl2 y 0.25 ul de Taq-Polimerasa Invitrogen. La temperatura de annealing fue de 50º C y se repitió por 30 ciclos. El producto de la PCR fue separado en un gel de agarosa al 3% y teñido con GelRed. La presencia de una banda en el gel indicó que el sexo del individuo era macho (ZZ), mientras que dos bandas indicaron que era hembra (ZW).

Referencias bibliográficas

Belles-Isles J. C. y J. Picman (1986). Nesting losses and nest site preferences in House Wrens, Troglodytes aedon. Condor 88: 483-486.

Brumfield R. T. y A. P. Capparella (1996). Genetic differentiation and taxonomy in the House Wren species group. Condor 98: 547-556.

Cagnoni M., A. M. Faggi y A. Ribichich (1996). La vegetación de la Reserva "El Destino" (Partido de Magdalena, Provincia de Buenos Aires). Parodiana 9: 25-44.

Cavalcanti R. B. y T. M. Pimentel (1988). Shiny Cowbird parasitism in central Brazil. Condor 90:40-43.

De Mársico M. C., B. Mahler, M. Chomnalez, A. G. Di Giacomo y J. C. Reboreda (2010). Host use by generalist and specialist brood parasitic cowbirds at population and individual levels. Advances in the Study of Behavior 42: 81-119.

Ellegren H. (1996). First gene on the avian W chromosome (CHD) provides a tag for universal sexing of non-ratite birds. Proceedings of the Royal Society of London B 263: 1635-1644.

Fiorini V. D. (2007). Sincronización de puesta y elección de hospedador en el parásito de cría generalista Molothrus bonariensis (Icterinae, Aves). Tesis de Doctorado, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.

Fiorini V. D. y J. C. Reboreda (2006). Cues used by Shiny Cowbirds (Molothrus bonariensis) to locate and parasitise Chalk-browed Mockingbird (Mimus saturninus) nests. Behavioral Ecology and Sociobiology 60: 379-385.

Fiorini V. D., D. T. Tuero y J. C. Reboreda (2009). Shiny Cowbirds synchronize parasitism with host laying and puncture host eggs according to host characteristics. Animal Behaviour 77: 561–568.

Fiorini V. D., A. A. Astie, D. T. Tuero y J. C. Reboreda (2005). Éxito reproductivo del Tordo Renegrido (Molothrus bonariensis) en hospedadores de distinto tamaño corporal. Hornero 20: 173-182.

Fraga R. M. (1985). Host-parasite interactions between Chalk-browed Mockingbirds and Shiny Cowbirds. En: Neotropical Ornithology (Ed. By P. A. Buckley, M. S. Foster, E. S. Morton, R. S. Ridgely y F. G. Buckey), pp. 829-844. Washington, D. C.: American Ornithological Union.

Friedmann H. y L. F. Kiff (1985). The parasitic cowbird and their hosts. Proceedings of the Western Foundation of Vertebrate Zoology 2: 225-304.

Griffiths R., M. C. Double, K. Orr y R. J. G. Dawson (1998). A DNA test to sex most birds. Molecular Ecology 7: 1071-1075.

Hudson W. H. (1874). Notes on the procreant instincts of the three species of Molothrus found in Buenos Aires. Proceedings of the Zoological Society of London 153-174.

Kattan G. H. (1993). Reproductive strategy of a generalist brood parasite, the Shiny Cowbird, in the Cauca Valley, Colombia. PhD Dissertation, University of Florida, Gainesville.

Kattan G. H. (1996). Growth and provisioning of Shiny Cowbird and House Wren host nestlings. Journal of Field Ornithology 67: 434-441.

Llambías P. y G. J. Fernández (2009). Effects of nestboxes on the breeding biology of Southern House Wrens Troglodytes aedon bonariae in the southern temperate zone. Ibis 151: 113-121.

Martin T. E., y G. R. Geupel. (1993). Nest-monitoring plots: Methods for locating nests and monitoring success. Journal of Field Ornithology 64: 507-519.

Mason P. (1986). Brood parasitism in a host generalist, the shiny cowbird: I. The quality of different species as hosts. Auk 103: 52-60.

Mermoz M. E. y J. C. Reboreda (2003). Reproductive success of shiny cowbird (Molothrus bonariensis) parasitizing the larger brown-and-yellow marshbird (Pseudoleistes virescens) in Argentina. Auk 120: 1128-1139.

Miller S. A., D. D. Dykes y H. F. Polesky (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Res 16:1215.

Olrog C. C. (1979). Nueva lista de la avifauna Argentina. Inst. Lillo, Tucumán, Argentina.

Ortega C. (1998). Cowbirds and other brood parasites. Tucson: University of Arizona Press.

Reboreda J. C., N. S. Clayton y A. Kacelnik (1996). Species and sex differences in hippocampus size between parasitic and non-parasitic cowbirds. NeuroReport 7: 505-508.

Sackmann P. y J. C. Reboreda (2003). A comparative study of Shiny Cowbird parasitism of two large hosts, the Chalk-browed Mockingbird and the Rufous-bellied Thrush. Condor 105: 728-736.

Skutch A. F. (1953). Life history of the southern House Wren. Condor 55: 121-149.

Tuero D. T. (2004). Impacto del parasitismo de cría del Tordo Renegrido (Molothrus bonariensis) sobre el éxito reproductivo de un hospedador de pequeño tamaño, la Ratona Común (Troglodytes aedon). Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.

Tuero D. T., V. D. Fiorini y J. C. Reboreda (2007). Effects of Shiny Cowbird Molothrus bonariensis parasitism on different components of House Wren Troglodytes aedon reproductive success. Ibis 149: 521-527.

Capítulo 3

Diferencias en el tamaño de los huevos de Tordo Renegrido en dos hospedadores que difieren en tamaño corporal

3.1 Introducción

En aves, numerosos estudios demostraron que el valor reproductivo del huevo depende de su tamaño (Mead y col. 1987, Anderson y col. 1997, Müller y col. 2005) por lo que las hembras pueden beneficiar a una descendencia particular aumentando los recursos invertidos en ese huevo (Anderson y col. 1997, Cordero y col. 2000, Magrath 2003).

El tamaño de huevo es un importante componente del éxito reproductivo que correlaciona positivamente con el tamaño del pichón al momento de nacer (Williams 1994), con su crecimiento (Viñuela 1997) y su supervivencia (Williams 1994). Los huevos más grandes contienen más nutrientes (Ankney y Bisset 1976, Ankney 1980, Arnold y Green 2007) y los pichones que nacen de huevos más grandes lo hacen con una mayor reserva de nutrientes (Parsons 1972, Ankney 1980).

El tamaño del huevo per se afecta positivamente al pichón durante los primeros días de vida (Amundsen y col. 1996, Reed y col. 1999, Styrsky y col. 1999) y, en menor medida, su supervivencia (Bolton 1991, Blomqvist y col. 1997, Styrsky y col. 1999). Los huevos más grandes producen pichones más grandes con una mayor probabilidad de sobrevivir al menos durante los primeros días después de la eclosión (Williams 1994, Amundsen 1995). Además, la distribución de recursos en los huevos podría aumentar o disminuir la jerarquía de dominancia dentro del nido, pudiendo compensar las diferencias entre el pichón más pequeño o el más asincrónico del nido y sus hermanos (Anderson y col. 1997, Blanco y col. 2003, You y col. 2009).

En aquellos casos en los que un sexo tenga un mayor éxito reproductivo que el otro, las madres podrían favorecer la descendencia dependiendo de su sexo aumentando los

recursos invertidos en ese huevo (Anderson y col. 1997, Cordero y col. 2000, Magrath 2003).

Por lo antes expuesto, resulta ampliamente aceptado que las hembras podrían invertir diferencialmente recursos, tanto hormonales como nutricionales, en un huevo particular (Eising y col. 2001) para maximizar su éxito reproductivo por unidad de inversión (Williams 1966).

Las especies parásitas de cría, como los tordos, no proveen cuidado parental a su descendencia. El esfuerzo reproductivo de las hembras parásitas sólo está restringido a la búsqueda de nidos para parasitar y a la producción de huevos. Por lo tanto, ofrecen una excelente oportunidad para estudiar la inversión maternal en los huevos en un sistema en el que no existe el compromiso entre producción de huevos y cuidado de los pichones.

Estudios que utilizaron análisis de parentesco genético indican que la fecundidad de las hembras de una especie parásita de cría de América del Norte (Tordo Cabeza Marrón) es relativamente baja (Hahn y col. 1999; Alderson y col. 1999; Strausberger y Ashley 2003; Woolfenden y col. 2003) comparada con estimaciones previamente publicadas (Payne 1976, Scott y Ankney 1980, Jackson y Roby 1992, Kattan 1993). Estos nuevos trabajos estarían indicando que el valor reproductivo de cada huevo de tordo sería mayor de lo previamente supuesto. En este escenario, es esperable que las hembras de tordo hayan experimentado una fuerte presión de selección que favoreciese la evolución de comportamientos que aumenten la supervivencia de sus huevos y sus pichones.

Por otra parte, distintos estudios indican que la producción de huevos en hembras parásitas de cría es costosa. Tanto el costo de los vuelos hacia la zona de alimentación como la dieta limitada en calcio, generan una restricción en la producción de huevos en las hembras de Tordo Cabeza Marrón (Curson y Mathews 2003, Holford y Roby 1993). Además, en esta especie parásita los nutrientes para la producción de los huevos son obtenidos directamente de la dieta ingerida durante la época reproductiva (Ankney y Scott 1980). La disponibilidad de alimento sumado a actividades como los vuelos de forrajeo o la búsqueda de nidos, que compiten por la asignación de los recursos energéticos, podrían producir una restricción en la inversión de recursos en huevos.

El Tordo Renegrido es un parásito de cría extremadamente generalista que utiliza casi 250 hospedadores (Friedmann y Kiff 1985, Ortega 1998, Lowther y Post 1999,

Lowther 2010). Los hospedadores parasitados por esta especie poseen diferentes características (ej. tamaño corporal relativo al parásito, tipo de nido) que afectan su éxito reproductivo (Mason 1986, Fiorini y col. 2005). La supervivencia de los pichones parásitos depende de la calidad del hospedador (la calidad parental del hospedador o una dieta apropiada, Mason 1986), la duración del periodo de incubación de los huevos del hospedador (Lichtenstein 1998, Astié y Reboreda 2009), el número y tamaño de los pichones del hospedador (Fraga 1985, Lichtenstein 1998, Fiorini y col. 2009) y la sincronización del parasitismo con la puesta del hospedador (Mermoz y Reboreda 2003, Fiorini y col. 2009). También la tasa de supervivencia de los nidos afecta la probabilidad de reproducirse del parásito (Mason 1986, Fiorini y col. 2005). Este es un carácter de historia de vida que varía ampliamente entre hospedadores (Mason 1986).

En este escenario, el valor reproductivo de los huevos de tordo difiere dependiendo del hospedador parasitado, debido a que la probabilidad de producir un pichón exitoso es diferente entre hospedadores. Por lo tanto, sería esperable que las hembras de tordo ajusten la inversión reproductiva en sus huevos dependiendo del hospedador utilizado.

En este capítulo, se analizará si la inversión maternal de las hembras de Tordo Renegrido en sus huevos difiere entre dos hospedadores con marcadas diferencias en tamaño corporal. La Calandria Grande (75 g) fue utilizada como modelo de un hospedador de mayor tamaño corporal que el parásito. En este hospedador, los pichones de tordo nacen en promedio sólo 1 día antes que los del hospedador y experimentan una importante competencia por el alimento con sus hermanos adoptivos que además poseen mayor masa corporal al momento de la eclosión (6,1 g vs 4,2 g; Fiorini 2007). La Ratona Común (13 g) fue utilizada como modelo de un hospedador de menor tamaño corporal que el parásito (masa corporal de la hembra de Tordo Renegrido: 40-45g, Reboreda y col. 1996). En este hospedador, los pichones de Tordo Renegrido se enfrentan a una baja competencia por alimento debido a que ellos nacen normalmente dos días antes que los pichones de ratona y tienen una mayor masa corporal al momento de la eclosión (4,2 g vs 1,6 g; Tuero y col. 2007). Como resultado de esto, la probabilidad de producir un pichón exitoso en este hospedador es alta (Fiorini y col. 2005; 2009).

Por otra parte, Weatherhead (1989) sugirió que en especies parásitas con dimorfismo sexual, el sexo de mayor masa corporal (generalmente los machos) podría ser

mejor competidor por alimento en nidos de hospedadores grandes. Por lo tanto, el valor reproductivo de los huevos de tordo podría ser distinto dependiendo del sexo del embrión de ese huevo. Debido a esto, las hembras podrían invertir diferencialmente en sus huevos dependiendo del sexo que se desarrolle en él. En particular, en este capítulo se analizará: 1) si existen diferencias en el tamaño de los huevos puestos por hembras de Tordo Renegrido en nidos de Ratona Común y Calandria Grande controlando por las potenciales diferencias sexuales en este carácter y 2) si el crecimiento de los pichones de tordo tiene un componente materno, es decir si hay un efecto materno sobre el crecimiento asociado con la inversión en el huevo. Para esto último, se realizó un experimento a campo bajo condiciones estandarizadas donde se controló el efecto de la sincronización de la puesta entre el hospedador y el parásito, el número de pichones del hospedador en el nido y el sexo del pichón parásito. Luego, se evaluó si el crecimiento del pichón de tordo estuvo asociado al tamaño del huevo del cual eclosionó. Con este acercamiento no manipulativo y manipulativo se intentó particionar la varianza en el crecimiento del pichón en componentes maternos (tamaño de huevo) y ambientales (hospedador).

Recientemente, Mahler y col. (2007) mostraron que las hembras de Tordo Renegrido que parasitan nidos de ratona son genéticamente diferentes a las que parasitan nidos de calandria. Además, Fiorini y col. (2009) encontraron que el grado de sincronización entre el parasitismo y la puesta del hospedador y el número de huevos del hospedador destruidos por evento de parasitismo difirió cuando las hembras de Tordo Renegrido parasitaban nidos de ratona y calandria. Estos resultados sugieren que las hembras de Tordo Renegrido no parasitan hospedadores al azar y podrían tener razas hospedador-específicas. Estas razas tendrían distintas historias evolutivas con el hospedador que normalmente utilizan y podrían haber evolucionado diferentes comportamientos hospedador-específicos. Por lo tanto, sería esperable que hembras parásitas alcancen distintos óptimos de inversión parental en el tamaño del huevo y que esta sea mayor en el hospedador de mayor masa corporal en el que el tamaño del pichón parásito es importante para la competencia por el alimento con sus hermanos adoptivos.

3.2 Metodología

3.2.1 Recolección de datos

La recolección de datos se realizó en las temporadas reproductivas 2004, 2005 y 2006. Los nidos de las temporadas 2005 y 2006 fueron utilizados para realizar un experimento a campo (ver debajo).

3.2.2 Tamaño de huevos y crecimiento de los pichones de tordo

Para evaluar el tamaño de los huevos parásitos encontrados en nidos de calandria y de ratona se calculó su volumen a partir de la siguiente fórmula:

$$\text{Volumen} = l \times A^2 \times X$$

Donde l es el largo, A es el ancho del huevo y X es una constante especie-específica. El valor usado para esta constante fue 5.15×10^{-4}, que corresponde al valor determinado en el Tordo Cabeza Marrón (Nolan y Thompson 1978).

Los datos de tamaño de los huevos de Tordo Renegrido utilizados en este capítulo fueron agrupados sin tener en cuenta el año en que fueron encontrados ya que no se encontró variación en el tamaño de huevos entre temporadas (ANOVA volumen años 2004, 2005 y 2006, $F_{2, 87} = 2.57$, $P = 0.08$).

La curva de crecimiento de los pichones se estimó ajustando los valores de los pesos diarios a una función logística (Ricklefs 1967). El peso ajustado (W) alcanzado al tiempo t es:

$$W = A / 1 + e^{-K(t-t0)}$$

A partir de esta función se estimó la asíntota de la curva de crecimiento (A), la tasa de crecimiento media (K), y el punto de inflexión de la curva o edad de máximo crecimiento (T_0) de cada pichón de tordo. Se utilizó un modelo no lineal y una estimación de cuadrados mínimos con opción quasi-Newton usando el software SYSTAT (Wilkinson y col. 1992). Se compararon: 1) masa corporal al día 0, 5 y peso asintótico, y 2) tasa de crecimiento ($G_{máx}$) de los pichones parásitos a la edad del máximo crecimiento (T_0), de pichones de tordo renegrido criados en nidos de calandria y de ratona. Los valores de masa corporal se calcularon a partir de la ecuación logística utilizando los parámetros (A, K y T_0) estimados previamente.

3.2.3 Diseño de los experimentos en nidos de calandria y de ratona

Para poder estudiar el crecimiento del pichón de tordo se generaron condiciones constantes intra nido durante la etapa de crecimiento del pichón (manipulación del contenido del nido). Debido a que en ambos hospedadores es frecuente la picadura de huevos por parte de la hembra parásita (Fiorini y Reboreda 2006, Tuero y col. 2007) y esto resulta en una reducción del tamaño de la nidada del hospedador, se crearon grupos experimentales en los que el tamaño de la nidada fue el tamaño modal al final del período de incubación de nidos parasitados en el área de estudio (2 y 4 huevos, en nidos de calandria y ratona respectivamente, figura 3.1 A y B, Fiorini y Reboreda 2006, Tuero y col. 2007). Esta manipulación resultó en nidadas con 2 y 4 pichones en nidos de calandria y ratona, respectivamente (figura 3.2 A y B). Para reducir el tamaño de la nidada se removió el 3º y 4º huevo de calandria y el 4º y 5º de ratona inmediatamente después de su puesta.

Figura 3.1: Nido experimental de calandria con 2 huevos de calandria y 1 de tordo (A), y nido experimental de ratona con 4 huevos de ratona y 1 de tordo (B).

El momento de nacimiento del pichón de tordo relativo al momento de nacimiento del pichón del hospedador puede afectar la supervivencia del pichón parásito (Fiorini y col. 2009). Para controlar este efecto sobre el crecimiento del pichón se manipuló el momento de eclosión del pichón parásito en ambos hospedadores. Los nidos de ratona se parasitaron artificialmente con huevos de tordo naturales frescos provenientes de otros nidos de ratona el 6º día del ciclo de nidificación (el día 0 corresponde a la puesta del primer huevo del hospedador). Dado que el periodo de incubación de los huevos de Tordo Renegrido en nidos de ratona es de 12-13 días, el de los huevos de ratona de 14-15 días (Tuero y col.

2007) y este hospedador tiene un tamaño modal de puesta de 5 huevos y comienza la incubación con la puesta del anteúltimo huevo, esto resultó en que los pichones de tordo nacieran el mismo día que los pichones de ratona. Los nidos de calandria se parasitaron con un huevo de tordo natural fresco antes del día 2 del ciclo de nidificación (el día 0 corresponde a la puesta del primer huevo del hospedador), o sea, antes que comenzara la incubación. Dado que el periodo de incubación de los huevos de Tordo Renegrido en nidos de calandria es de 12-13 días, el de los huevos de calandria de 13-14 días y este hospedador tiene un tamaño modal de puesta de 4 huevos y comienza la incubación con la puesta del anteúltimo huevo (Fiorini 2007), esto resultó en que el pichón parásito naciera un día antes o el mismo día que los pichones de calandria asegurando la supervivencia del pichón de tordo.

Figura 3.2: Nido experimental de calandria con 2 pichones de calandria y 1 de tordo (A), y nido experimental de ratona con 4 pichones de ratona y 1 de tordo (B).

Esta manipulación de nidos generó similares condiciones de competencia dentro de los nidos del mismo hospedador para pichones de tordo machos y hembras (tabla 3.1).

Tabla 3.1: Número de pichones del hospedador y sincronización, estimada como diferencia en días entre el nacimiento del pichón parásito y el primer pichón del hospedador, en nidos experimentales usados para analizar el crecimiento de los pichones de Tordo Renegrido.

	Calandria Machos	Calandria Hembras	Ratona Machos	Ratona Hembras	H	P
Nº pichones del hospedador	1,44 ± 0,27	1,15 ± 0,29	1,86 ± 0,34	3.13 ± 0.67	6.15	0,10
n	16	13	6	7		
Sincronización	(-1,1) ± 0,31	(-1,14) ± 0,46	(-1,5) ± 0,66	(-1,29) ± 0,51	0.72	0,87
n	10	7	6	7		

Los huevos de tordo usados en los nidos experimentales fueron colectados el mismo día que fueron puestos y en todos los casos fueron puestos en nidos en estadio de puesta, es decir que no fueron incubados antes de la translocación. Cada huevo fue mantenido en un ambiente fresco por 24-48 hs hasta su translocación al nido experimental. Por otro lado, cuando los pichones alcanzaron la edad de 6-8 días se les extrajo una muestra de sangre mediante la punción de la vena braquial para su posterior sexado. El sexo de los pichones fue determinado mediante la técnica de sexado molecular explicada en el capítulo 2.

3.2.4 Análisis estadísticos

Para los análisis del tamaño de huevo y crecimiento de los pichones se utilizaron pruebas de ANOVA. En estos análisis se utilizó hospedador y sexo como factores principales. La prueba de ANCOVA fue utilizada para analizar las variables de peso en función del hospedador y como covariable se utilizó el volumen del huevo. Se verificó que las variables dependientes utilizadas estuvieran normalmente distribuidas y la varianza fuese igual entre grupos. La relación entre el volumen del huevo y el peso del pichón se estudió mediante una Regresión Simple. Todos los análisis fueron hechos con Statistica 6.0 (StatSoft Inc. 2001). Los valores se reportan como media ± error estándar. En todas las pruebas se utilizó un valor de $P < 0.05$ para la significancia estadística.

3.3 Resultados

3.3.1 Tamaño de los huevos de Tordo Renegrido en nidos de calandria y ratona

Los huevos de Tordo Renegrido puestos en nidos de Calandria Grande fueron más largos (ANOVA: $F_{1, 86} = 9{,}23$; n = 90 huevos; $P < 0{,}01$), más anchos (ANOVA: $F_{1, 86} = 3{,}83$; n = 90 huevos; $P = 0{,}04$) y tuvieron un mayor volumen (ANOVA: $F_{1, 86} = 9{,}15$; n = 90 huevos; $P < 0{,}01$; figura 3.3) que los puestos en nidos de Ratona Común. Al examinar el dimorfismo sexual de los huevos de tordo, el análisis mostró que los huevos determinados como machos tuvieron el mismo largo (ANOVA: $F_{1, 86} = 0{,}006$; n = 90 huevos; $P = 0{,}94$), ancho (ANOVA: $F_{1, 86} = 0{,}53$; n = 90 huevos; $P = 0{,}38$) y volumen (ANOVA: $F_{1, 86} = 0{,}46$; n = 90 huevos; $P = 0{,}50$; figura 3.3) que los huevos determinados como hembras. Los análisis no mostraron una interacción significativa entre hospedador y sexo para ninguna de las variables analizadas (largo, ANOVA: $F_{1, 86} = 0{,}03$; n = 90 huevos; $P = 0{,}87$; ancho, ANOVA: $F_{1, 86} = 0{,}52$; n = 90 huevos; $P = 0{,}47$; volumen, ANOVA: $F_{1, 86} = 0{,}03$; n = 90 huevos; $P = 0{,}85$).

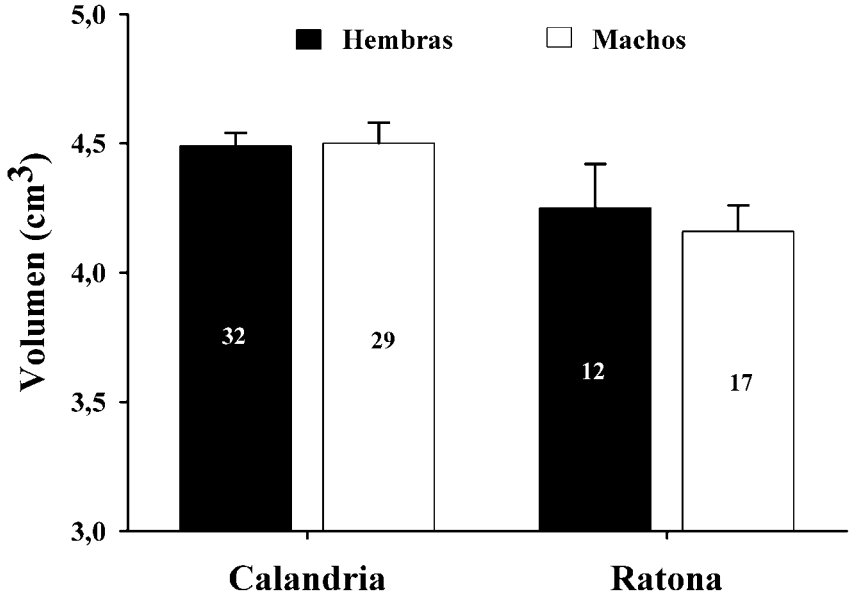

Figura 3.3: Volumen de los huevos de Tordo Renegrido (± error estándar) puestos en nidos de un hospedador de mayor tamaño (Calandria Grande) y en uno de menor tamaño (Ratona Común) que el parásito. Los números dentro de las columnas indican el número de huevos analizados.

3.3.2 Tamaño de los pichones de Tordo Renegrido en nidos de calandria y ratona

Los pichones de Tordo Renegrido que nacieron de huevos puestos en nidos de calandria tuvieron una mayor masa corporal al momento de la eclosión que aquellos que nacieron en

nidos de ratona (ANOVA: $F_{1, 37} = 10,84$; $P < 0,01$; figura 3.4 A). No se observaron diferencias significativas entre la masa al momento de la eclosión de pichones machos y hembras (machos: 4,70 g ± 0,28 SE; hembras: 4,46 ± 0,29; ANOVA: $F_{1, 37} = 0,02$; $P = 0,89$¸ figura 3.4 A) y la interacción entre las variables hospedador y sexo de los pichones fue no significativa (ANOVA: $F_{1, 37} = 0,66$; $P = 0,42$). Cuando se analizó la asociación entre tamaño de los huevos y masa corporal al momento de la eclosión se observó una asociación positiva significativa (Regresión Simple: $F_{1, 22} = 8,09$; $P < 0,01$; $R^2 = 0,28$; figura 3.5).

Los pichones de tordo criados en nidos de calandria alcanzaron una masa corporal a los 5 días de edad mayor que la de los pichones criados en nidos de ratona ($F_{1, 38} = 10,16$; $P < 0,01$; figura 3.4 B). En promedio, los pichones parásitos de 5 días de edad que nacieron en nidos de calandria tuvieron una masa corporal de 21.48 ± 0.58 g (n = 29) mientras que la masa de los pichones que nacieron en nidos de ratona fue de 18,03 ± 0,93 g (n = 13). No se detectaron diferencias sexuales en la masa corporal de los pichones al día 5 de edad ($F_{1, 38} = 0,27$; $P = 0,61$; figura 3.4 B) y la interacción ente las variables hospedador y sexo tampoco fue significativa (ANOVA: $F_{1, 38} = 1,37$; $P = 0,25$).

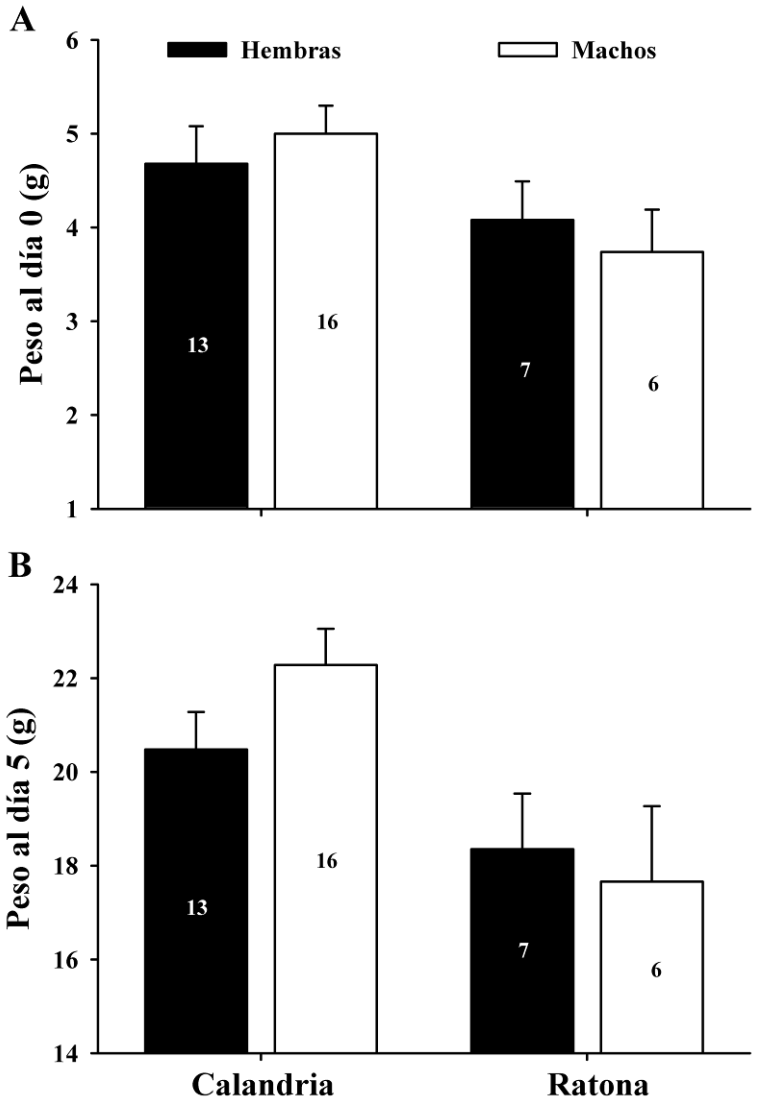

Figura 3.4: Masa corporal al momento de nacer (A) y a los 5 días de edad (B) de pichones macho y hembra de Tordo Renegrido que nacieron de huevos puestos en un hospedador de mayor tamaño corporal (calandria) y en uno de menor tamaño corporal (ratona). Los números dentro de las columnas indican el número de pichones analizados en cada categoría.

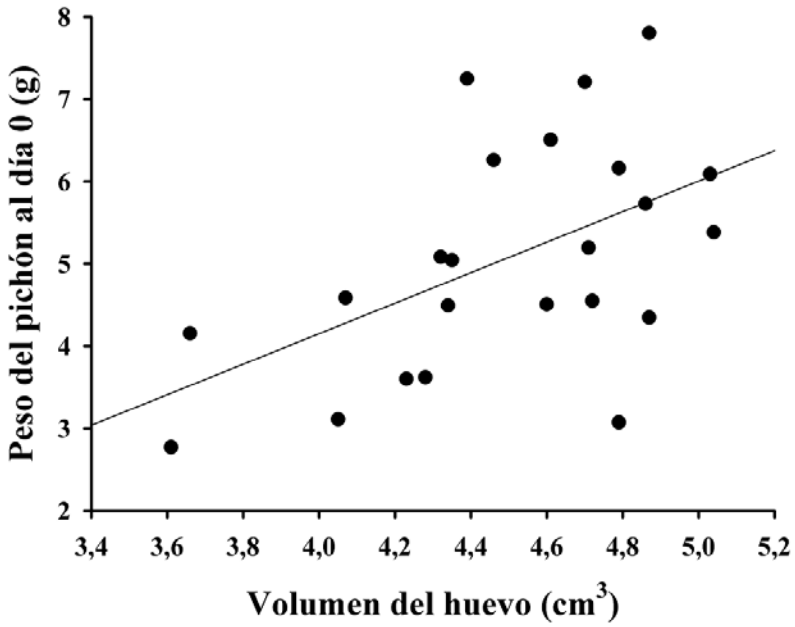

Figura 3.5: Relación entre el volumen del huevo y la masa corporal de los pichones de Tordo Renegrido al momento de la eclosión.

3.3.3 Tasa de crecimiento y peso asintótico de los pichones de Tordo Renegrido en nidos de calandria y ratona

La tasa de crecimiento de los pichones macho de Tordo Renegrido fue mayor que la de los pichones hembra ($F_{1, 38} = 5,63$; $P = 0,01$; figura 3.6 B). Los pichones macho crecieron en promedio un 12% más rápido que las hembras. El hospedador en el que fue criado el pichón parásito no afectó la tasa de crecimiento ($F_{1, 38} = 0,19$; $P = 0,67$; figura 3.6 B) y la interacción entre las variables hospedador y sexo no fue significativa (ANOVA: $F_{1, 38} = 0,35$; $P = 0,54$).

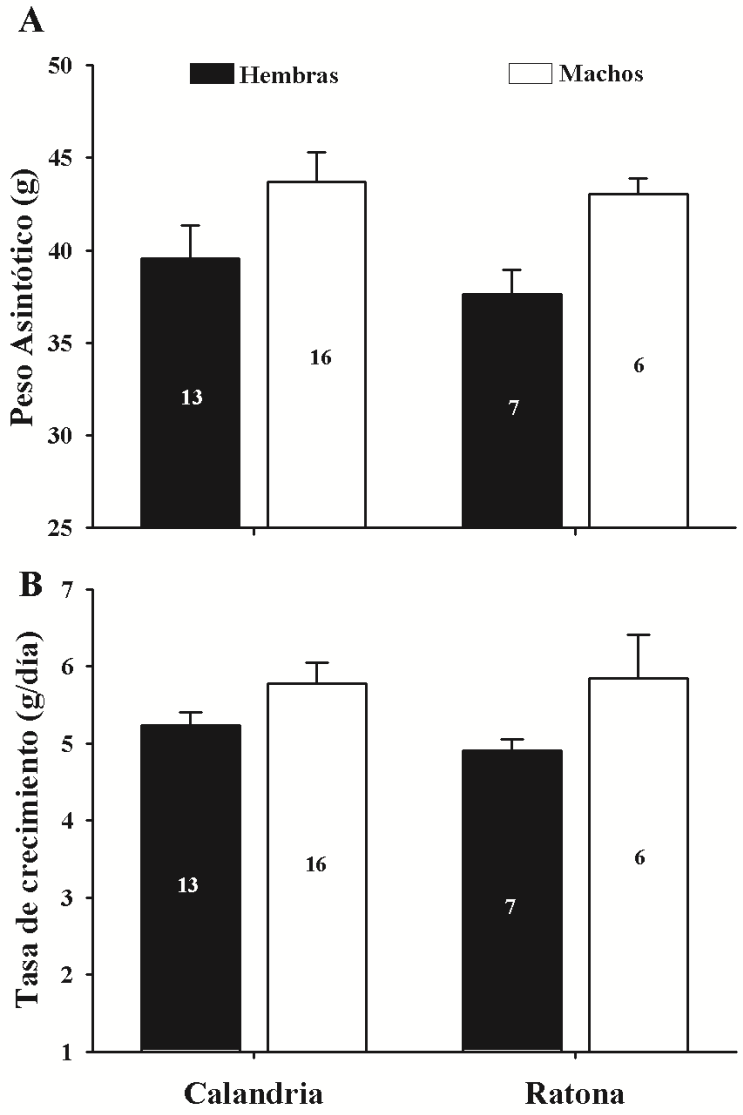

Figura 3.6: Peso asintótico (A) y tasa de crecimiento (B) de pichones macho y hembra de Tordo Renegrido que nacieron en un hospedador de mayor tamaño corporal (calandria) y en uno de menor tamaño corporal (ratona). Los números dentro de las columnas indican el número de pichones analizados en cada categoría.

También se detectaron diferencias sexuales en el peso asintótico (figuras 3.6 A, 3.7 A y 3.7 B). Los pichones macho alcanzaron un peso asintótico mayor que el de las hembras (43,4 g ± 1,3 vs. 38,75 ± 1,31; ANOVA: $F_{1, 37} = 4,54$; $P = 0,03$; figuras 3.6 A, 3.7 A y 3.7 B). La diferencias sexuales observadas dentro de cada hospedador fueron del 13% en ratonas y del 10% en calandrias. El peso asintótico de los pichones no difirió entre hospedadores (ANOVA: $F_{1, 37} = 0,84$; $P = 0,35$; figura 3.6 A) y la interacción hospedador-sexo no fue significativa (ANOVA: $F_{1, 37} = 0,05$; $P = 0,81$).

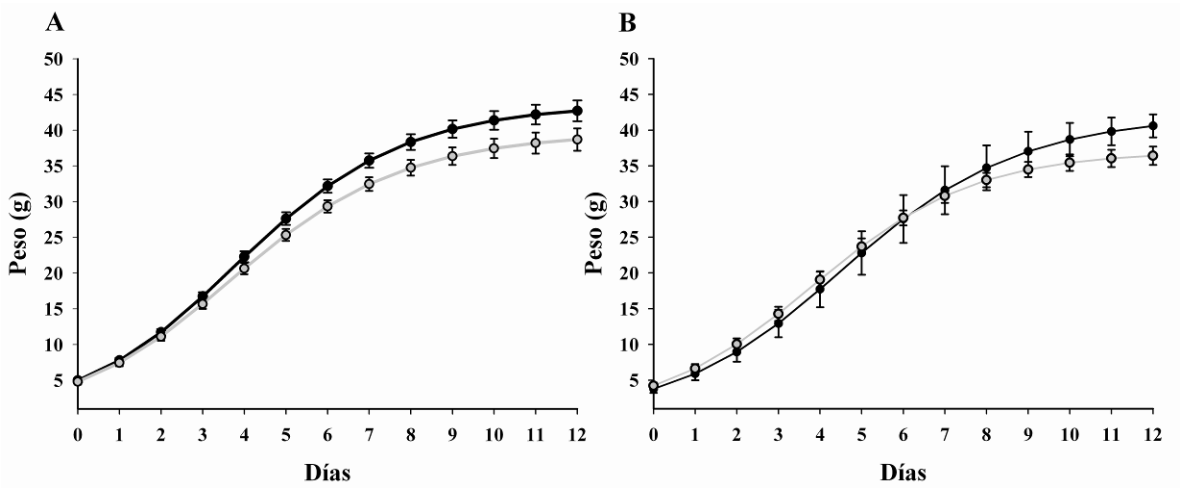

Figura 3.7: Curvas de crecimiento de pichones de Tordo Renegrido criados en nidos de Calandria Grande (A) y de Ratona Común (B). Las líneas negras corresponden a la masa corporal de los machos y las grises a la de las hembras.

3.3.4 Relación entre el tamaño del huevo y el crecimiento de los pichones de Tordo Renegrido

En esta sección se reanalizó la variación de la masa corporal de los pichones criados en los dos hospedadores pero se introdujo como covariable el tamaño del huevo. Las diferencias de masa corporal entre pichones de tordo criados en nidos de calandria y de ratona estuvieron asociadas con el tamaño del huevo (tabla 3.2). En nidos de calandria, la masa promedio de los pichones al momento de la eclosión estuvo asociada positivamente con el tamaño promedio del huevo, después de este día la correlación fue no significativa (tabla 3.3). En contraste, la masa promedio de los pichones de tordo que eclosionaron en nidos de ratona estuvo asociada significativamente con el tamaño del huevo desde el día de la eclosión hasta el día 2 (tabla 3.3). El tamaño del huevo explicó el 37 % y el 56% de la variabilidad del peso al día 0 de los pichones parásitos criados en nidos calandria y ratona, respectivamente.

Tabla 3.2: Resultados de la prueba de ANCOVA. Peso de los pichones de Tordo Renegrido a diferentes días de edad criados en nidos de calandria y de ratona. El volumen del huevo fue usado como covariable.

	Hospedador		Volumen del huevo	
Día de la nidada	$F_{1,1,13}$	P	$F_{1,1,13}$	P
0	1,30	0,27	6,73	0,02
1	1,76	0,21	8,32	0,01
2	1,25	0,28	6,51	0,02
3	0,55	0,47	3,61	0,08
4	0,23	0,63	2,15	0,17

Tabla 3.3: Resultados de la regresión simple entre tamaño de huevo y peso del pichón en nidos de Calandria Grande y de Ratona Común a diferentes días de edad.

	Calandria Grande				Ratona Común			
Día de la nidada	n	R^2	r	P	n	R^2	r	P
0	10	0,37	0,61	0,03	7	0,56	0,80	0,02
1	10	0,21	0,53	0,09	7	0,56	0,80	0,02
2	10	0,16	0,42	0,22	7	0,54	0,78	0,03
3	10	0,06	0,25	0,48	7	0,46	0,74	0,06
4	10	0,07	0,27	0,45	7	0,33	0,65	0,10

3.4 Discusión

3.4.1 Diferencias en el tamaño de los huevos puestos en nidos de calandria y ratona

Los resultados presentados en este capítulo muestran que las hembras de Tordo Renegrido ponen huevos más grandes en nidos de Calandria Grande que en nidos de Ratona Común. Estas diferencias no son explicables por el sexo del huevo. La diferencia en tamaño de los huevos entre hospedadores indica que la inversión maternal de las hembras de tordo varía dependiendo del hospedador parasitado. Las hembras de tordo que parasitan nidos de ratona podrían poner huevos más pequeños que las hembras que parasitan nidos de calandria porque en el primer hospedador, poner huevos más baratos (con menos recursos) que produzcan pichones más pequeños no implicaría un costo para el pichón en términos de

crecimiento. En los nidos de ratona, el tamaño de los pichones de tordo al momento de nacer no es determinante para la competencia con sus hermanos adoptivos por el alimento, debido a que el parásito nace con una gran ventaja en términos de tamaño (Fiorini y col. 2009). Por lo tanto, las hembras podrían reducir su costo reproductivo depositando menos recursos en los huevos de este hospedador sin reducir su éxito reproductivo ya que la supervivencia de pichones en este hospedador es siempre alta (Tuero y col. 2007, Fiorini y col. 2009). Ankney y Johnson (1985) encontraron que en el Tordo de Cabeza Marrón, los componentes del huevo (albumina y yema) aumentan con el peso y tamaño del huevo por lo que es probable que en el Tordo Renegrido las diferencias en volumen del huevo también reflejen diferencias en la cantidad de albumina y de yema.

Las diferencias en volumen de los huevos de Tordo Renegrido puestos en nidos de calandria y ratona podrían ser la consecuencia de diferentes presiones de selección que experimentaron las hembras de Tordo Renegrido que utilizan esos hospedadores. Mahler y col. (2007) encontraron que, en el mismo sitio de estudio donde se realizó esta tesis, las hembras de Tordo Renegrido que parasitan calandrias son genéticamente distintas (distinta distribución de frecuencias de haplotipos de ADNm) de las hembras que parasitan ratonas. Estos resultados apoyan indirectamente la hipótesis de razas hospedador-específica y proveen un escenario para explicar la evolución de comportamientos hospedador-específicos que le permitan al parásito ajustar las características de sus huevos al hospedador que utiliza. Distintos trabajos mostraron que la repetibilidad y heredabilidad de este carácter son altas en aves (alrededor de 0,6 y mayor de 0,5; respectivamente, Christians 2002). Esto implica que la variabilidad en el tamaño del huevo sería menor dentro que entre hembras, siendo una característica individual de las hembras con una base genética.

Una hipótesis alternativa para explicar los resultados observados es que las características de los nidos de ratona (cavidades relativamente pequeñas) impidan que las hembras de tordo de mayor tamaño corporal accedan a estos nidos. Sin embargo, el tamaño de la abertura de las cajas nido (4,5 cm) permitiría acceder libremente a hembras de tordo con independencia de su tamaño corporal (Pribil y Picman 1997). Además, este estudio mostró que algunos de los pichones de tordo criados en nidos de ratona abandonaron el nido con un peso asintótico (47 g) mayor al peso promedio de las hembras adultas (45 g), lo que sugiere que las hembras adultas de mayor tamaño no deberían tener inconvenientes en

entrar a los nidos de ratona. Por último, si el tamaño de la abertura de la cavidad pudiera impedir el acceso a las hembras de mayor tamaño corporal la distribución de tamaños de huevos en nidos de ratona debería estar truncada a la derecha. Esto tampoco fue encontrado en este estudio.

3.4.2 Relación entre el tamaño del huevo y el crecimiento de los pichones de tordo

Los resultados presentados indican que el peso de los pichones de tordo (hasta el día 2 de edad en nidos de ratona y el día 0 en nidos de calandria) estuvo asociado positivamente con el tamaño del huevo (ver tabla 3.3). Esto indicaría la influencia de efectos maternos en el crecimiento de los pichones en esta especie parásita, al menos durante los primeros días después de la eclosión.

La relación entre el tamaño del huevo y el peso del pichón es consistente con lo encontrado por Nolan y Thompson (1978) en el Tordo Cabeza Marrón y por Kleven y col. (1999) en cuclillos. Estos autores encontraron que el volumen del huevo es un buen predictor del peso al momento de nacer. Además, distintos estudios mostraron que los pichones más pesados nacieron de huevos con mayores reservas de yema (Ankney 1980, Ankney y Johnson 1985, Williams 1994, Arnold y Green 2007). Por lo tanto, los componentes maternos del huevo podrían afectar el tamaño del pichón y la supervivencia en esta especie parásita (ver capítulo 4).

Fiorini y col. (2009) encontraron que la supervivencia de los pichones de tordo es afectada por el número de pichones del hospedador y la sincronización entre la puesta del hospedador-parásito en nidos de calandria pero no en nidos de ratona. Esto se debe a que en los nidos del hospedador grande (calandria) la competencia por el alimento es más intensa y en este caso es esperable que el tamaño corporal de los pichones determine qué pichón recibe alimento suficiente como para sobrevivir. Bajo este escenario, una pequeña ventaja en tamaño después de la eclosión en nidos de un hospedador grande, cuando el pichón parásito comparte el nido con muchos pichones, podría afectar el crecimiento y la supervivencia del mismo. En contraste, en nidos de ratona el peso asintótico del pichón parásito aumentó con el número de pichones del hospedador (Fiorini y col. 2009). En este caso el pichón de tordo es el de mayor tamaño en el nido y es el que monopoliza la obtención de alimento ganando en la competencia por el mismo. Por lo tanto, reducir la

inversión de recursos en huevos (i.e. poner huevos más pequeños) no tendría un efecto negativo sobre la supervivencia del pichón parásito en un hospedador de menor tamaño corporal que el parásito y al mismo tiempo le permitiría poner más huevos durante la temporada reproductiva.

Por otro lado, estos resultados muestran que el fuerte efecto inicial del tamaño del huevo sobre la masa del pichón disminuyó a medida que el pichón creció, pero este efecto disminuyó más rápido en nidos de calandria que en nidos de ratona (tabla 3.3), sugiriendo que la contribución de los padres adoptivos al crecimiento del pichón o la competencia interespecífica es más importante en el hospedador de mayor tamaño corporal.

3.4.3 Crecimiento de los pichones de Tordo Renegrido

Los resultados de este capítulo muestran que los pichones de tordo recién nacidos fueron más pesados en nidos de calandria que en nidos de ratona hasta el día 5 de edad, momento en que comenzaron a observarse diferencias sexuales en el peso en ambos hospedadores y desaparecieron las diferencias entre hospedadores. Los pichones macho dejaron el nido con un peso asintótico 11% mayor que el de las hembras. Esta diferencia sexual también fue observada en la tasa de crecimiento de los pichones de tordo. Estos resultados muestran que el dimorfismo sexual en esta especie aparece tempranamente durante el estadio de pichones. En forma semejante, Tonra y col. (2008) encontraron dimorfismo sexual en la tasa de crecimiento de los pichones del Tordo Cabeza Marrón. Estos autores observaron un grado similar de dimorfismo sexual cuando controlaron la sincronía en la eclosión entre los pichones del hospedador y parásito. Sin embargo, Weatherhead (1989) no encontró diferencias sexuales en el crecimiento del Tordo Cabeza Marrón, probablemente, debido a que este autor no controló variables como el número de pichones del hospedador o la sincronía en la eclosión entre los pichones del hospedador y parásito. Finalmente, en este trabajo los pichones del mismo sexo alcanzaron el mismo peso asintótico en ambos hospedadores indicando que bajo estas condiciones intra-nido, el tamaño de los hermanos adoptivos (o tamaño del hospedador) no afectó el peso final de los pichones de tordo. Bajo estas condiciones experimentales, no se puede evaluar las ventajas de un sexo sobre el otro, pero es posible que las diferencias sexuales en el tamaño corporal en el estadio de pichones sean ventajosas para uno de los sexos en condiciones más intensas de competencia.

En un estudio previo realizado en el Tordo Renegrido (Wiley 1986) se mostró que el pichón parásito creció más rápido en un hospedador grande. Sin embargo, este trabajo no controló la sincronización de la puesta ni el sexo de los pichones. Los resultados presentados en este capítulo mostraron que el crecimiento de los pichones de Tordo Renegrido tiene un componente materno (tamaño de huevo) y otro ambiental (hospedador y condiciones intra-nido). En este capítulo se analizaron los efectos maternos de las hembras de Tordo Renegrido teniendo en cuenta las variables más importantes que afectan el crecimiento del pichón (tipo de hospedador, sexo del pichón, sincronización y número de pichones del hospedador). Este es el primer trabajo donde se controlan todas estas variables en una especie parásita de cría, lo que permite separar la variación del crecimiento entre componentes maternos (tamaño de huevo) y ambientales (hospedador).

3.5 Conclusión

En este capítulo se analizó si el tamaño de los huevos de las hembras de Tordo Renegrido varía entre hospedadores en los cuales el valor reproductivo de los huevos es diferente. Los resultados obtenidos muestran una variación en el tamaño del huevo sugiriendo una inversión materna diferencial entre hospedadores. La relación entre el tamaño del huevo y el peso de los pichones también indica un efecto materno sobre los pichones a través de los componentes del huevo. Estas diferencias podrían estar asociadas a los niveles de competencia interespecíficas en esos hospedadores. Por lo tanto, resultaría beneficioso para las hembras que parasitan un hospedador de menor tamaño corporal que el parásito poner huevos más chicos.

Referencias bibliográficas

Alderson G. W., H. L. Gibbs y S. G. Sealy (1999). Determining the reproductive behaviour of individual brown-headed cowbirds using microsatellite DNA markers. Animal Behaviour 58: 895-905.

Amundsen T. (1995). Egg size and early nestling growth in the Snow petrel. Condor 91: 345-351.

Amundsen T., S. H. Lorentsen y T. Tveraa (1996). Effects of egg size and parental quality on early nestling growth: an experiment with the Antarctic petrel. Journal of Animal Ecology 65: 545-555.

Anderson D. J., J. Reeve y D. M. Bird (1997). Sexually dimorphic eggs, nestling growth and sibling competition in American Kestrels Falco sparverius. Functional Ecolology 11: 331-335.

Ankney C. D. (1980). Egg weight, survival and growth of Lesser Snow Goose goslings. Journal of Wildlife Management 44:174-182.

Ankney C. D. y A. R. Bisset (1976). An explanation of egg-weight variation in the lesser snow goose. Journal of Wildlife Management 40: 729-734.

Ankney C. D. y D. M. Scott (1980). Changes in nutrient reserves and diet of breeding brown-headed cowbirds. Auk 97: 684-696.

Ankney C. D. y S. L. Johnson (1985). Variation in weight and composition of brown-headed cowbird eggs. Condor 87: 296-299.

Arnold T. W. y A. J. Green (2007). On the allometric relationship between egg size and composition of avian eggs: a reassessment. Condor 109: 705-714.

Astié A. A. y J. C. Reboreda (2009). Function of egg punctures by Shiny Cowbird in parasitized and unparasitized Creamy-bellied Thrush nests. Journal of Field Ornithology 80: 336-343.

Blanco G., J. Martínez-Padilla, D. Serrano, J. A. Dávila y J. Viñuela (2003). Mass provisioning to different-sex eggs within the laying sequence: consequences for adjustment of reproductive effort in a sexually dimorphic bird. Journal of Animal Ecology 72: 831-838.

Blomqvist D., O. C. Johansson y F. Götmark (1997). Parental quality and egg size affect chick survival in a precocial bird, the Lapwing Vanellus vanellus. Oecologia 110: 18-24.

Bolton M. (1991). Determinants of chick survival in the Lesser Black-backed Gull: relative contributions of egg size and parental quality. Journal of Animal Ecology 60: 949-960.

Christians J. K. (2002). Avian egg size: Variation within species and inflexibility within individuals. Biological Reviews 77: 1-26.

Cordero P. J., S. C. Griffith, J. M. Aparicio y D. T. Parkin (2000). Sexual dimorphism in House Sparrow eggs. Behavioral Ecology and Sociobiology 48: 353-357.

Curson D. R. y N. E. Mathews (2003). Reproductive costs of commuting flights in brown-headed cowbirds. Journal of Wildlife Management 67: 520-529.

Eising C. M., C. Eikenaar, H. Schwabl y T. G. G. Groothuis (2001). Maternal androgens in Black-headed Gull (Larus ridibundus) eggs: Consequences for chick development. Proceedings of the Royal Society of London B 268: 839-846.

Fiorini V. D. (2007). Sincronización de puesta y elección de hospedador en el parásito de cría generalista Molothrus bonariensis (Icterinae, aves). Tesis de Doctorado, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.

Fiorini V. D. y J. C. Reboreda (2006). Cues used by Shiny Cowbirds (Molothrus bonariensis) to locate and parasitise Chalk-browed Mockingbird (Mimus saturninus) nests. Behavioral Ecology and Sociobiology 60: 379-385.

Fiorini V. D., D. T. Tuero y J. C. Reboreda (2009). Shiny cowbirds synchronize parasitism with host laying and puncture host eggs according to host characteristics. Animal Behaviour 77: 561-568.

Fiorini V. D., A. A. Astié, D. T. Tuero y J. C. Reboreda (2005). Éxito reproductivo del Tordo Renegrido (Molothrus bonariensis) en hospedadores de distinto tamaño corporal. Hornero 20: 173-182.

Fraga R. M. (1985). Host-parasite interactions between Chalk-browed Mockingbirds and Shiny Cowbirds. Ornithological Monographs 36: 829-844.

Friedmann H. y L. F. Kiff (1985). The parasitic cowbird and their hosts. Proceedings of the Western Foundation of Vertebrate Zoology 2: 225-304.

Hahn D. C., J. A. Sedgewick, I. S. Painter y N. J. Casna (1999). A spatial and genetic analysis of cowbird host selection. Studies in Avian Biology 18: 204-217.

Holford K. C. y D. D. Roby (1993). Factors limiting fecundity of captive Brown-headed Cowbirds. Condor 95: 536-545.

Jackson N. H. y D. D. Roby (1992). Fecundity and egg-laying patterns of captive yearling Brown-headed Cowbirds. Condor 94: 585-589.

Kattan G. H. (1993). Reproductive strategy of a generalist brood parasite, the Shiny Cowbird, in the Cauca Valley, Colombia. PhD Dissertation, University of Florida, Gainesville.

Kleven O., A. Moksnes, E. Roskaft y M. Honza (1999). Host species affects the growth rate of cuckoo (Cuculus canorus) chicks. Behavioral Ecology and Sociobiology 47: 41-46.

Lichtenstein G. (1998). Parasitism by shiny cowbirds of Rufous-bellied Thrushes. Condor 100: 680-687.

Lowther P. Lists of victims and hosts of the parasitic cowbirds (artículo en línea). Versión 17-09-2008. Disponible en: http://fm1.fieldmuseum.org/aa/Files/lowther/CBList.pdf (Consulta 2oct. 2010).

Lowther P. y W. Post (1999). Shiny Cowbird (Molothrus bonariensis). En: The birds of North America. Páginas: 1-24. Editores: A. Poole & F. Gill. Academy of Natural Sciences and American Ornithologist´s Union, Philadelphia y Washington DC.

Magrath M. J. L., L. Brouwer y J. Komdeur (2003). Egg size and laying order in relation to offspring sex in the extreme sexually size dimorphic Brown Songlark, Cinclorhamphus cruralis. Behavioural Ecology and Sociobiology 54: 240-248.

Mahler B., V. A. Confalonieri, I. J. Lovette y J. C. Reboreda (2007). Partial host fidelity in nest selection by the Shiny Cowbird (Molothrus bonariensis), a highly generalist avian brood parasite. Journal of Evolutionary Biology 20: 1918-1923.

Mason P. (1986). Brood parasitism in a host generalist, the shiny cowbird: I. The quality of different species as hosts. Auk 103: 52-60.

Mead P. S., M. L. Morton y B. E. Fish (1987). Sexual dimorphism in egg size and implications regarding facultative manipulation of sex in mountain White-crowned Sparrows. Condor 89: 798-803.

Mermoz M. E. y J. C. Reboreda (2003). Reproductive success of Shiny Cowbird (Molothrus bonariensis) parasitizing the larger Brown-and-yellow Marshbird (Pseudoleistes virescens) in Argentina. Auk 120: 1128-1139.

Müller W., T. G. G. Groothuis, C. M. Eising, S. Daan y C. Dijkstra (2005). Within clutch co-variation of egg mass and sex in the black-headed gull. Journal of Evolutionary Biology 18: 661-668.

Nolan V. y C. F. Thompson (1978). Egg volume as a predictor of hatchling weight in Brown-headed Cowbird. Wilson Bulletin 90: 353-358.

Ortega C. (1998). Cowbirds and other brood parasites. Tucson: University of Arizona Press.

Parsons J. (1972). Egg size, laying date and incubation period in the Herring Gull, Larus argentatus. Ibis 114: 536-541.

Payne R. B. (1976). The clutch size and numbers of eggs of Brown-headed Cowbirds: effects of latitude and breeding season. Condor 78: 337-342.

Pribil S. y J. Picman (1997). Why house wrens destroy clutches of other birds: a support for the nest site competition hypothesis. Condor 93: 184-185.

Reboreda J. C., N. S. Clayton y A. Kacelnik (1996). Species and sex differences in hippocampus size between parasitic and non-parasitic cowbirds. NeuroReport 7: 505-508.

Reed W. L., A. M. Turner y P. R. Sotherland (1999). Consequences of egg-size variation in the Red-winged Blackbird. Auk 116: 549-552.

Ricklefs R. E. (1967). A Graphical Method of Fitting Equations to Growth Curves. Ecology 48: 978-983.

Scott D. M. y C. D. Ankey (1980). Fecundity of the Brown-headed Cowbird in Southern Ontario. Auk 97: 677-683.

StatSoft Inc. 2001. STATISTICA (data analysis software system), version 6. www.statsoft.com.

Strausberger B. M. y M. V. Ashley (2003). Breeding biology of brood parasitic Brown-headed Cowbirds (Molothrus ater) characterized by parent–offspring and sibling-group reconstruction. Auk 120: 433–445.

Styrsky J. D., K. P. Eckerle y C. F. Thompson (1999). Fitness-related consequences of egg mass in nestling House Wrens. Proceedings of the Royal Society of London B 266: 1253-1258.

Tonra C. M., M. E. Hauber, S. K. Heath y M. D. Johnson (2008). Ecological correlates and sex differences in early development of a generalist brood parasite. Auk 125: 205-213.

Tuero D. T., V. D. Fiorini y J. C. Reboreda (2007). Effects of Shiny Cowbird parasitism on different components of house wren reproductive success. Ibis 149: 521-529.

Viñuela J. (1997). Adaptation versus constraint: intraclutch egg mass variation in birds. Journal of Animal Ecology 66: 781-792.

Weatherhead P. J. (1989). Sex ratios host-specific reproductive success and impact of Brown-headed Cowbirds. Auk 106: 358-366.

Wiley J. W. (1986). Growth of shiny cowbird and host chicks. Wilson Bulletin 98: 126-131.

Wilkinson L., Hill M. y Vang E. (1992). SYSTAT: Statistics. Version 5.2. SYSTAT Inc., Evanston, IL.

Williams G. C. (1966). Natural selection, the costs of reproduction, and a refinement of Lack's principle. American Naturalist 100: 687-690.

Williams T. D. (1994). Intraspecific variation in egg size and egg composition in birds: effects on offspring fitness. Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society 68: 35-59.

Woolfenden B. E., H. L. Gibbs, S. G. Sealy y D. G. McMaster (2003). Host use and fecundity of individual female Brown-headed Cowbirds. Animal Behaviour 66: 95-106.

You Y., J. Feng , H. Wang , J. Wang , C. Dong , X. Su , H. Sun , W. Gao (2009). Variation in egg size and nestling growth rate in relation to clutch size and laying sequence in great tits Parus major. Progress in Natural Science 19: 427-433

Capítulo 4

Asignación de nutrientes, testosterona en yema y desvío en la proporción primaria de sexos en huevos de Tordo Renegrido

4.1 Introducción

En el capítulo anterior se mostró que los huevos de Tordo Renegrido puestos en nidos de Calandria Grande son mayores (largo, ancho y volumen) que los puestos en nidos de Ratona Común. El volumen del huevo es un estimador directo de la inversión parental de las hembras por lo que existiría una inversión diferencial entre hospedadores dependiendo de sus características. Si esta hipótesis es correcta serían esperables otras formas de inversión diferencial, como el contenido de nutrientes en el huevo o la proporción primaria de sexos. En este capítulo se pondrán a prueba las siguientes predicciones: 1) las hembras de Tordo Renegrido invierten mayores recursos en huevos puestos en nidos de hospedadores de mayor tamaño corporal; y 2) la proporción primaria de sexos en nidos de hospedadores de mayor tamaño corporal estará sesgada hacia los machos (i.e. el sexo más competitivo).

4.1.1 Inversión maternal

Se denomina inversión parental a toda clase de cuidado parental que realizan los padres para aumentar el éxito reproductivo de una descendencia en particular a costa de la disminución de su reproducción o supervivencia futura (Clutton-Brock 1991). A la inversión parental de la madre se la denomina inversión maternal. En este caso se tiene en cuenta los costos que pagan las hembras en términos de reducción de supervivencia o reproducción futura al asignar recursos a sus hijos actuales (Clutton-Brock 1991, Stearn 1992). Estos costos reproductivos se hacen evidentes en los compromisos que surgen entre reproducción-supervivencia o reproducción actual-futura (Stearn 1992). La inversión maternal incluye a los recursos (i.e. nutrientes y hormonas) depositados en los huevos y al cuidado maternal de los pichones (Clutton-Brock 1991). Los recursos que las hembras invierten en los huevos provienen tanto de las reservas que ellas poseen al momento de reproducirse, así como de los recursos que las hembras incorporan del ambiente durante la etapa reproductiva (Christians 2002).

Por otra parte, la determinación del sexo de la descendencia es otra forma de inversión parental. Si la producción de uno de los sexos es más costosa que la del otro y la madre desarrolló mecanismos que permiten la manipulación del sexo de su descendencia, entonces sería esperable que las hembras produzcan hijos o hijas con distinta frecuencia de forma tal que la inversión por sexo sea equivalente (Fisher 1930).

En aves, la inversión maternal empieza con la construcción del nido y con la asignación de recursos a los huevos. Los componentes del huevo (proteínas, lípidos y hormonas) generan las primeras condiciones ambientales que pueden afectar el desarrollo del pichón (Badyaev y Uller 2009). A excepción de la incubación del huevo, la deposición de estos componentes en la yema del huevo es la única manera en que las hembras pueden afectar el desarrollo prenatal después de la puesta (Groothuis y col. 2005). En el caso de las hormonas esteroideas, los niveles presentes en la madre y en su descendencia fluctúan en función del ambiente (Groothuis y col. 2005). Estas fluctuaciones hormonales les permiten a las madres trasladar el ambiente experimentado por ellas a sus hijos, anticipando las posibles condiciones donde estos se desarrollarán (Groothuis y col. 2005). Por lo tanto, la deposición de recursos en los huevos sería una de las formas que poseen las madres para generar condiciones ambientales que afectan el desarrollo de su descendencia y de esta forma maximizar la propagación de sus genes en la próxima generación (Groothuis y col. 2005, Badyaev y Uller 2009). De esta manera, las hembras podrían afectar el fenotipo de su descendencia adaptativamente a través de componentes no genéticos (hormonas y nutrientes presentes en el huevo, Mousseau y Fox 1998, Groothuis y col. 2005, Wolf y Wade 2009).

4.1.2 Deposición de Testosterona en yema y sus efectos

La testosterona es una de las principales hormonas esteroideas presentes en la yema de los huevos de las aves (Groothuis y col. 2005). La deposición de esta hormona se realiza en el ovario durante la fase rápida de deposición de la yema del oocito en crecimiento que tiene lugar aproximadamente entre los 4-10 días antes de la ovulación dependiendo de la especie (Johnson 2002, Ardia y col. 2006). Dentro del ovario, las capas celulares de la pared folicular que rodea al oocito sintetizan y secretan la hormona en capas concéntricas alrededor de la futura yema (Lipar y col. 1999a, Johnson 2002). Durante la primera etapa

del desarrollo del embrión la única fuente disponible de esta hormona es la presente en la yema (Tanabe y col. 1986, Ottinger y col. 2001). Luego, durante los primeros días de incubación el embrión comienza a producir por sí solo esta hormona (Woods y col. 1975, Tanabe y col. 1986, Ottinger y col. 2001). La testosterona se encuentra en embriones de ambos sexos (Schwabl 1993), aunque en algunas especies hay diferencias sexuales en su concentración (Müller y col. 2002, Eising y col. 2003, Gilbert y col. 2005). Esto llevó a sugerir que la determinación del sexo en aves podría estar influenciada por esta hormona (Petrie y col. 2001).

Por otra parte, varios estudios demostraron una relación entre los niveles de testosterona en sangre de las hembras y los niveles hormonales en la yema de sus huevos (Groothuis y Schwabl 2008). Esta relación no es clara ya que puede ser positiva (Schwabl 1996, Badyaev y col. 2005), negativa (Mazuc y col. 2003, Navara y col. 2006) o neutra (Marshal y col. 2005, Pilz y col. 2003), dependiendo de la especie. Por lo tanto, se desconoce aún de qué manera la hembra regula la deposición de esta hormona en la yema y si la regula de forma independiente de la concentración de hormona en sangre (Groothuis y Schwabl 2008). Además, tampoco se conoce si aumentar los niveles de testosterona en el huevo implica un costo para las hembras (i.e. aumento en los niveles sanguíneos a concentraciones perjudiciales) que resulte en un compromiso entre los niveles de hormona en sangre y la deposición de hormona en la yema (Groothuis y Schwabl 2008).

Las hormonas tienen efectos pleiotrópicos sobre los embriones pudiendo afectar el tamaño corporal, el crecimiento, la coloración de las plumas, el comportamiento, y los sistemas inmune y endocrino (Groothuis y col. 2005). En particular, la testosterona presente en los huevos tiene importantes efectos sobre el desarrollo embrionario y del pichón (Schwabl y col. 1997, Eising y col. 2001, von Engelhardt y col. 2004). La concentración de esta hormona está relacionada con el tamaño y tasa de crecimiento del embrión, el desarrollo muscular, el desarrollo del sistema inmune y endocrino, y la supervivencia y comportamiento de los pichones (Groothuis y col. 2005).

En estudios experimentales en una especie de ave nidífuga donde se aumentó la concentración de esta hormona en yema se observó una aceleración del crecimiento embrionario (Eising y col. 2001, von Engelhardt y col. 2004). Sin embargo, el crecimiento fue retrasado en una especie de ave nidícola (von Engelhardt y col. 2006). Este último

trabajo mostró que los huevos tratados con testosterona eclosionaron más tarde que los huevos control y además los pichones crecieron más lentamente los primeros días después de la eclosión. También se encontró que el aumento de testosterona produjo un incremento en la masa de los músculos relacionados con el comportamiento de pedido de alimento ("begging", Lipar y Ketterson 2000). La intensidad de este comportamiento está relacionada con la habilidad de los pichones de competir por alimento (Kilner 2002). Además, esta hormona afecta directamente la intensidad del comportamiento de pedido de alimento. Los pichones con altos niveles de testosterona son más activos, tienen una mayor intensidad de "begging" y reciben más alimento (Eising y Groothuis 2003, Von Engelhardt y col. 2006).

El sistema inmune puede ser suprimido por la acción de la testosterona (Duffy y col. 2000, Peters 2000). El mantenimiento del sistema inmune para aves en crecimiento es altamente costoso (Sheldon y Verhulst 1996, Lochmiller y Deerenberg 2000). Por lo tanto, el rápido crecimiento inducido por los niveles de testosterona podría mantenerse a expensas de la función de sistema inmune cuando la disponibilidad de alimento es limitada (Groothuis y col. 2005). Este compromiso entre crecimiento y sistema inmune mediado por testosterona fue comprobado experimentalmente en dos estudios independientes (Navara y col. 2005, Groothuis y col. 2006). En ambos casos, los grupos experimentales de pichones donde se elevó la concentración de testosterona presentaron mayor crecimiento y una menor respuesta inmune. Por último, la supervivencia de los pichones antes de abandonar el nido aumenta por acción de la testosterona (Pilz y col. 2003, von Engelhardt y col. 2006). Estos estudios mostraron que los pichones tratados con testosterona presentaron una mayor supervivencia que los pichones control. Además, la mayor mortalidad se observó durante los primeros días de vida de los pichones.

Los niveles de andrógenos (i.e. testosterona) en yema varían entre huevos de una misma nidada (Schwabl 1993, Lipar y col. 1999b, Lipar 2001) así como también en huevos entre nidadas (Lipar y col. 1999b, Mazuc y col. 2003, Pilz y col. 2003). Esta manipulación por parte de la hembra le permitiría disminuir o acentuar las diferencias competitivas entre sexos o entre hermanos que posean distinto tamaño dentro de la nidada (Eising y col. 2001). En especies con marcado dimorfismo sexual el sexo de mayor masa corporal es el que tiene una mayor probabilidad de supervivencia en el nido (Bortolotti 1986). En esta

situación, y dependiendo de las condiciones ambientales, las madres podrían favorecer al sexo de menor tamaño con un aumento en la inversión de andrógenos en yema (Müller y col. 2002, Gilbert y col. 2005), así como también desfavorecerlos con una diminución de la inversión de andrógenos (Schwabl y col. 1997, Gil y col. 1999, Reed y Vleck 2001). Algo similar se observa en las especies de aves donde existe una asincronía en la eclosión de los huevos. El pichón que nace último es el más pequeño de la nidada y es el que sufre una mayor mortalidad (Glassey y Forbes 2002). Dependiendo de la especie podría ser adaptativo para las hembras invertir en los pichones con mayor probabilidad de sobrevivir cuando los recursos son limitados (Schwabl y col. 1997, Martins 2004) o invertir en el pichón más asincrónico, de manera tal de aumentar su supervivencia y su éxito reproductivo directo (Schwabl 1993, Mock y Forbes 1995, Lipar y col. 1999b). Apoyando estas hipótesis, varios estudios encontraron una variación adaptativa en la concentración de testosterona en función del sexo del pichón en especies dimórficas (Müller y col. 2002, Eising y col. 2003, Gilbert y col. 2005), y del orden de puesta de los huevos en especies con asincronía en la eclosión (Schwabl 1993, Lipar y col. 1999a, Eising y col. 2001). La variación hormonal observada entre nidadas está asociada a la disponibilidad de alimento (Verboven y col. 2003), el atractivo o calidad de la pareja de la hembra (Gil y col. 1999), la edad de la hembra (Pilz y col. 2003), la fecha de puesta (Schwabl 1996) o la densidad social (Schwabl 1997, Mazuc y col. 2003). Estos estudios demuestran la importancia que el ambiente tiene en la deposición de andrógenos en huevos y cómo las hembras pueden regular adaptativamente su inversión en hormonas esteroideas en la yema para maximizar su éxito reproductivo.

Los pichones de las especies de tordos generalistas, como el Tordo Renegrido, presentan varias adaptaciones a la vida parásita que aumentan su habilidad competitiva dentro del nido (Krüger 2007). Una de estas adaptaciones es una alta tasa de crecimiento pre (McMaster y Sealy 1998) y post eclosión (Kattan 1996, Kilpatric 2002). La mayor tasa de crecimiento embrionaria resulta en un menor tiempo de incubación y por lo tanto en una eclosión más temprana que la de sus hermanos adoptivos (Briskie y Sealy 1990, Kattan 1995). Esto le permitiría al pichón parásito monopolizar el alimento mientras los pichones del hospedador no nacieron aún y tener cierta ventaja con hospedadores de mayor tamaño corporal (Payne 1977). Algo similar ocurre con la mayor tasa de crecimiento post eclosión

del pichón parásito ya que, al crecer más rápido alcanzaría el peso asintótico antes y estaría en condiciones de dejar el nido antes que los pichones del hospedador (Kattan 1996). Otras adaptaciones de los pichones parásitos son una mayor agresividad durante los eventos de alimentación (Payne 1977) y una mayor intensidad de pedido de alimento que los pichones del hospedador (Lichtenstein y Sealy 1998). Estos comportamientos están asociados con la competencia por alimento dentro del nido (Kilner 2002). Sin embargo, se desconoce hasta el momento cuáles son los mecanismos responsables de estos comportamientos en especies parásitas de cría. Una posibilidad es que exista un mecanismo hormonal que regule el comportamiento en estas especies permitiéndoles explotar más eficientemente a sus hospedadores.

Winkler (1993) propuso que las altas tasas de crecimiento e intensidades del comportamiento de pedido de alimento en especies parásitas podrían explicarse por una mayor inversión de testosterona en yema por parte de las hembras parásitas. Por lo tanto, en los huevos de especies parásitas sería esperable encontrar más testosterona que en los huevos de especies no parásitas. Dos estudios analizaron la concentración de testosterona en huevos del Tordo Cabeza Marrón y la concentración de esta hormona en huevos de varios de sus hospedadores (Hauber y Pilz 2003, Hahn y col. 2005). Los resultados encontrados no fueron concluyentes ya que los niveles de hormonas en los huevos parásitos fueron mayores (Hauber y Pilz 2003), menores (Hauber y Pilz 2003, Hahn y col. 2005) o iguales (Hauber y Pilz 2003, Hahn y col. 2005) que los niveles de los huevos de los hospedadores analizados.

Estos trabajos estuvieron dirigidos a encontrar una base hormonal a las exageradas características de las especies parásitas. Sin embargo, estas comparaciones no fueron las más apropiadas para evaluar una inversión diferencial de testosterona en los huevos por parte de la hembras parásitas. Para ello se debe analizar cómo es la inversión de testosterona entre las hembras que parasitan diferentes hospedadores o entre los huevos encontrados en distintos hospedadores donde sus pichones se enfrenten a diferentes situaciones de competencia y en consecuencia a diferentes valores de éxito reproductivo en cada uno de ellos.

El ambiente competitivo (i.e. número y tamaño de los pichones del hospedador) a los cuales se enfrentan los pichones parásitos de cría generalistas cambia en función del

hospedador utilizado (Fiorini y col. 2005, 2009). Los pichones parásitos enfrentan una mayor competencia por alimento cuando son criados en hospedadores de mayor tamaño corporal que el parásito (Scott y Lemon 1996, Rivers 2007) que resulta en una mayor mortalidad en la etapa de pichones en estos hospedadores (Fiorini y col. 2009). Por lo tanto, en estos casos sería esperable que las hembras parásitas inviertan andrógenos (ej. testosterona) diferencialmente en sus huevos dependiendo del grado de competencia que presente el hospedador que utiliza.

Por otra parte, dado que esta especie es dimórfica en tamaño, el sexo más pequeño (las hembras) podría tener una mayor desventaja que el sexo más grande cuando son criados en hospedadores grandes (Weatherhead 1989). En el capítulo 3 se mostró que los pichones machos y hembras de Tordo Renegrido nacen con el mismo peso, pero crecen a distintas tasas resultando en diferentes pesos asintóticos entre sexos. Este resultado sugiere que los machos podrían ser mejores competidores que las hembras en nidos de calandria (hospedador grande) porque tienen un mayor tamaño al final del periodo de pichones. Por lo tanto, la mayor tasa de crecimiento de los machos podría deberse a una mayor inversión de testosterona en yema por parte de las hembras.

4.1.3 Inversión maternal en el contenido del huevo

Las hembras pueden beneficiar a una descendencia particular aumentando los recursos invertidos en ese huevo (Anderson y col. 1997; Cordero y col. 2000). Esta inversión diferencial resulta en huevos más grandes con más nutrientes depositados en él (Arnold y Green 2007) y no solamente mayor contenido de agua (Ankney 1980). Es decir, que los huevos más grandes tienen un mayor contenido energético absoluto que los más pequeños (Williams 1994) y por este motivo son de mejor calidad (Ankey 1980, Willimas 1994).

En relación al contenido del huevo, varios estudios en especies de aves nidícolas indican que la albumina contiene en promedio el 71 % de la cantidad de proteínas totales del huevo (Carey y col. 1980, Williams 1994). Por otra parte, la yema contiene todos los lípidos del huevo (Williams 1994) y aporta la mayoría de las necesidades energéticas del embrión (Williams 1994). La cantidad de proteínas en el huevo puede limitar el crecimiento estructural de los pichones (Williams 1994) y un mayor contenido de yema puede producir pichones con más reservas al momento de la eclosión (Ankney 1980). Por lo tanto, huevos

grandes pueden producir pichones que al nacer sean más grandes y más pesados (Williams 1994).

Los pichones de Tordo Renegrido pueden ser criados en nidos de hospedadores de mayor o menor tamaño corporal que el parásito (Mason 1986, De Mársico y col. 2010). Por lo tanto, dependiendo del hospedador utilizado sus pichones pueden ser los más chicos o los más grandes del nido. Esto resulta en distintos ambientes competitivos a los cuales puede enfrentarse el pichón de tordo. Bajo este escenario sería esperable que las hembras de tordo que utilizan hospedadores de mayor tamaño corporal produzcan huevos con un mayor contenido de proteínas y/o lípidos para aumentar las habilidades competitivas de sus pichones en esos hospedadores. En cambio, en hospedadores de menor tamaño corporal las hembras podrían poner huevos más pequeños (ver capítulo 3) y de menor contenido energético porque esto no afectaría las habilidades competitivas de sus pichones. De esta forma las hembras podrían disminuir el costo de la producción de sus huevos y poner más huevos en la temporada reproductiva.

4.1.4 Desviación adaptativa de la proporción primaria de sexos

En especies de aves con dimorfismo sexual los costos de producir hijos o hijas son diferentes (Fiala y Congdon 1983, Richner 1991, Magrath y col. 2007). Estos costos se producen por una disminución del valor reproductivo residual de los padres (Williams 1966, Trivers 1972, Pen y Weissing 2002) como consecuencia de las distintas necesidades fisiológicas y energéticas de cada sexo (Magrath y col. 2007). Los sexos pueden diferir en su tasa de crecimiento (Martins 2004), ingesta de alimento (Teather y Weatherhead 1988, Magrath y col. 2007), gasto energético (Teather y Weatherhead 1988) o necesidad energética (Magrath y col. 2007). Estas diferencias sexuales también pueden conducir a una mortalidad diferencial de los sexos dependiendo de las condiciones ambientales en las que son criados (Røskaft y Slagsvold 1985, Benito y Gonzáles-Solís 2007).

En aves las hembras pueden sesgar el sexo de su descendencia manipulando adaptativamente el sexo de los hijos en función del orden de puesta de sus huevos (Nager y col. 1999, Blanco y col. 2002, Krebs y col. 2002). El resultado de esto no es un desvío en la proporción de sexos de la nidada o de la población sino de los primeros y/o segundos y/o últimos huevos. Debido a esto las hembras pueden maximizar su éxito reproductivo

favoreciendo o no a un sexo particular dependiendo del lugar de la puesta donde es producido (Bortolotti 1986). El sexo más vulnerable puede ser compensado al ocupar el lugar de la puesta más favorable aumentando de esta forma su supervivencia (Blanco y col. 2002) o desfavorecido ocupando el lugar menos favorable disminuyendo su supervivencia (Bortolotti 1986). Estos resultados muestran que las hembras pueden producir el sexo más susceptible en las condiciones menos favorables o viceversa.

El Tordo Renegrido es una especie parásita con dimorfismo sexual en el tamaño corporal (Ortega 1998). Esta diferencia de tamaño se manifiesta tempranamente entre los pichones machos y hembras (ver capítulo 3), esto podría estar asociado a diferentes habilidades competitivas que determinen una supervivencia diferencial entre los sexos en hospedadores de menor o mayor tamaño corporal que el parásito. Por lo tanto, las hembras podrían manipular adaptativamente el sexo de su descendencia para obtener el mayor éxito reproductivo en cada uno de esos hospedadores. Weatherhead (1989) sugirió que en especies parásitas con dimorfismo sexual, las hembras deberían poner huevos del sexo más grande (machos) en nidos de hospedadores de mayor tamaño corporal que el parásito ya que los machos serían mejores competidores que las hembras. Sin embargo, los estudios realizados en el Tordo Cabeza Marrón no encontraron una desviación de la proporción primaria de sexos en tres de sus hospedadores, dos de ellos de menor tamaño corporal que el parásito y el restante de mayor tamaño corporal que el parásito (Weatherhead 1989, Kasumovic y col. 2002).

En este capítulo se estudiará el ajuste de la inversión maternal en el contenido y sexo de los huevos de las hembras de Tordo Renegrido cuando parasitan dos hospedadores que difieren en tamaño corporal y en los que la supervivencia del pichón parásito difiere debido a la competencia por el alimento con los pichones del hospedador. Se estimará la inversión maternal de las hembras de tordo analizando la inversión de testosterona en yema, la cantidad de yema y clara presentes en el huevo, y la inversión en hijos o hijas midiendo el desvío en la proporción primaria de sexos. El objetivo de este capítulo es: 1) Analizar la inversión maternal de testosterona en yema en una especie parásita de cría cuando utiliza hospedadores que presentan distinta intensidad de competencia para sus pichones. También se analizarán los niveles de testosterona en función del sexo. 2) Estudiar si las diferencias en el tamaño de los huevos parásitos puestos en nidos de Calandria Grande y Ratona

Común (capítulo 3) están asociadas a una mayor inversión en el contenido del huevo. Para ello se analizará si el contenido de albumina y yema en los huevos es mayor cuando se parasita un hospedador de mayor tamaño corporal que el parásito que cuando se parasita a uno de menor tamaño corporal. 3) Por último, se analizará si las hembras de Tordo Renegrido desvían adaptativamente la proporción primaria de sexos en dos hospedadores (calandria y ratona) en los que las condiciones de competencia por el alimento (y por lo tanto supervivencia) que enfrentan los pichones parásitos difieren marcadamente.

4.2 Metodología

4.2.1 Recolección de huevos

Durante las temporadas reproductivas 2004, 2005, 2006, 2007 y 2008 se colectaron huevos de Tordo Renegrido de nidos de Calandria Grande y Ratona Común. Un subgrupo de estos huevos fue colectado el día de su puesta y almacenados a -20 °C. El otro subgrupo fue colectado el día de su puesta e incubados durante 3-6 días a 37 °C y luego almacenados a -20 °C. Estos huevos fueron posteriormente sexados a partir de tejido embrionario usando la metodología descripta en el capítulo 2. Para cada huevo colectado se determinó el peso total y el peso de la yema y de la clara (luego de ser descongelados) con una balanza electrónica con una precisión de ± 0.1 mg. El procesamiento del huevo realizado para la separación de la yema y la clara produjo pérdidas de ambos componentes del huevo. La pérdida de yema y clara estimada, teniendo en cuenta el peso de la cáscara, fue del 12% en los huevos de tordo puestos en nidos de calandria y del 10% para los huevos de tordo puestos en nidos de ratona.

Para comparar las concentraciones de testosterona entre huevos de tordos encontrados en nidos de Calandria Grande y de Ratona Común se utilizaron solamente huevos no incubados ya que la incubación puede afectar la concentración de hormonas en yema (Woods y col. 1975, Tanabe y col. 1986, Ottinger y col. 2001). Los huevos utilizados para este análisis fueron recolectados en los años 2005 (N = 16 huevos no incubados de 27 huevos recolectados), 2006 (N = 25 huevos no incubados de 58 huevos recolectados), 2007 (N = 1 huevo no incubado de 19 recolectados) y 2008 (N = 1 huevo no incubado de 11 recolectados). Las variables medidas fueron concentración y cantidad total de testosterona en yema. Debido a que la deposición de esta hormona puede variar con la fecha de puesta

del huevo (Schwabl 1996) también se analizó la variación temporal de testosterona en yema de huevos de tordo en ambos hospedadores.

4.2.2 Determinación de la concentración de Testosterona en yema

La determinación de testosterona en yema se realizó mediante la técnica de radioinmunoensayo (RIA) descripta por Canosa y Ceballos (2002). Esta técnica se basa en la competencia entre el antígeno (ej. hormona o H) presente en la muestra y el mismo antígeno marcado radioactivamente (H*) por los sitios de unión del anticuerpo. Una vez alcanzado el equilibrio de la reacción:

$$Ac + H + H^* \Longleftrightarrow Ac\text{-}H + Ac\text{-}H^* + H\ libre + H^*libre$$

Se midió la radioactividad del complejo Ac-H*. Luego mediante una curva de calibración (es una curva de concentraciones conocidas de antígeno frío y marcado) se interpolan los valores de radioactividad medidos y así se estima la concentración del antígeno en la muestra.

Antes de la realización del RIA se extrajo la hormona de la yema. Para ello se descongeló la yema y se la diluyó 3:1 en agua. Luego se tomó una muestra de 100 µl de yema para la extracción de hormona y otra muestra de 100 µl para calcular las pérdidas de testosterona durante el proceso de extracción. A las muestras utilizadas para calcular las pérdidas se le agregaron 10 µl T-H^3 (testosterona marcada con tritio, concentración 5.000 c.p.m./100 µl). Luego a cada muestra se le agregó 1000 µl de metanol y se las dejó 24 hs a 4 C°. Posteriormente las muestras se centrifugaron, se evaporó el metanol, y se resuspendió el extracto seco con 1.000 µl de hexano. Nuevamente se dejaron las muestras 24 hs a 4 C°. El último día de la extracción se centrifugaron las muestras, se evaporó el hexano y se resuspendió el extracto seco en 1000 µl de buffer RIA (10 mM buffer fosfato pH 7,4; 140 mM NaCl; 20 mM EDTA; 0,1 % p/v Azida sódica) hasta la realización del radioinmunoensayo.

Para la realización de RIA se usó una curva de calibración por triplicado utilizando concentraciones crecientes de testosterona. La curva de calibración abarcó un rango de concentraciones entre 62,5 y 4000 pg/ml y una cantidad fija del marcador radioactivo (10.000 dpm de testosterona-(1,2,6,7-3H(N)-) que poseía una actividad específica de 80,4 µCi/mmol. El esteroide radioinerte y el radioactivo se hallaban disueltos en buffer RIA

compuesto por buffer fosfato salino (PBS) 10 mM, gelatina 0,1%, EDTA 20 mM, Azida sódica 0.1% p/v, pH 7,4. Las cuentas totales fueron determinadas incubando el radioactivo solo, es decir en ausencia de testosterona fría, anticuerpo y carbón dextrano. La unión no específica se calculó incubando la testosterona radioactiva en ausencia de testosterona fría y anticuerpo. El unido máximo se determinó mediante la incubación en presencia de anticuerpo y carbón-dextrano, y en ausencia de testosterona radioinerte. La reacción se llevó a cabo a 4ºC durante aproximadamente 18 horas, momento en el cual se interrumpió la reacción por el agregado de carbón-dextrano en una proporción de 0.5 y 0.05%, respectivamente. Los tubos se centrifugaron por 30 minutos a 3500 rpm, en una centrífuga refrigerada a 4°C. De los sobrenadantes obtenidos, en donde se encontraba la testosterona unida al anticuerpo, se tomaron 300 µl y fueron colocados en viales para la determinación de la radioactividad unida. Para la determinación de la radioactividad se utilizó un equipo Wallac 1409 DSA (Wallac Co, Turku, Finlandia) y como líquido de centelleo Optiphase Hi 3 (Perkin Elmer, Boston, USA).

La dilución final del anticuerpo anti-testosterona fue de 1:150000. La variación intra e inter ensayo siempre estuvo por debajo del 10 %. Los límites de sensibilidad del ensayo están entre 10 y 800 pg. Para la medición de testosterona se utilizó un anticuerpo policlonal (Universidad de Colorado, Colorado, USA). Una vez obtenidos los valores de testosterona unida, la concentración de la misma se calculó mediante una planilla de cálculo que ajusta los valores obtenidos a partir de la curva de calibración. La producción de testosterona fue expresada como pmoles totales por yema, o por mg de yema.

4.2.3 Cálculo de la proporción primaria de sexos

La proporción primaria de sexos se calculó a partir de una submuestra de huevos colectados durante las temporadas reproductivas 2004, 2005 y 2006 que fueron incubados durante 3-6 días y posteriormente sexados. En total se recolectaron 28, 20 y 45 huevos de tordo en nidos de calandria y 23, 7 y 5 en nidos de ratona en los años 2004, 2005 y 2006, respectivamente. La proporción primaria de sexos se calculó como n° machos/n° de machos+n° de hembras.

4.2.4 Análisis estadísticos

En los análisis de las variables relacionadas con Testosterona se usaron pruebas paramétricas. En cambio en los análisis que incluyeron el peso total del huevo y el peso de la yema y clara se usó estadística no paramétrica por no cumplirse los supuestos de las pruebas paramétricas.

Para poner a prueba si la proporción primaria de sexos se desviaba de la igualdad se utilizó un Modelo Lineal Generalizado (GLM) con una función de enlace logit. En este modelo se utilizó una distribución de frecuencia binomial de los errores. Las variables predictoras hospedador y año fueron introducidas en el modelo como factores fijos. La variable fecha de puesta fue incluida como mes de puesta. La significancia fue testeada usando el estadístico de Wald, el cual sigue una distribución χ^2. En todos los GLM, se utilizó un procedimiento de selección hacia atrás para obtener el modelo mínimo adecuado. Este procedimiento consiste en remover las interacciones no significativas del modelo una por una en orden decreciente de la interacción y en orden decreciente del valor de P dentro del mismo nivel. Para determinar el desvío de la proporción primaria de sexos del valor esperado de 50:50, se utilizó los parámetros del modelo nulo (Wilson y Hardy 2002). Las pruebas estadísticas fueron hechas utilizando Statistica 6.0 (StatSoft Inc. 2001).

4.3 Resultados

4.3.1 Concentración de testosterona en huevos de tordo puestos en nidos de calandria y ratona

La cantidad total de testosterona presente en la yema de los huevos de tordo puestos en nidos de Calandria Grande fue similar a la encontrada en huevos puestos en nidos de Ratona Común (ANOVA: $F_{1, 29} = 2{,}59$; $P = 0{,}12$; figura 4.1 A). La concentración de testosterona medida como pg/mg de yema mostró el mismo patrón. Los huevos de tordo puestos en nidos de calandria tuvieron la misma concentración que los huevos puestos en nidos de ratona (ANOVA: $F_{1, 29} = 3{,}02$; $P = 0{,}09$; figura 4.1 B).

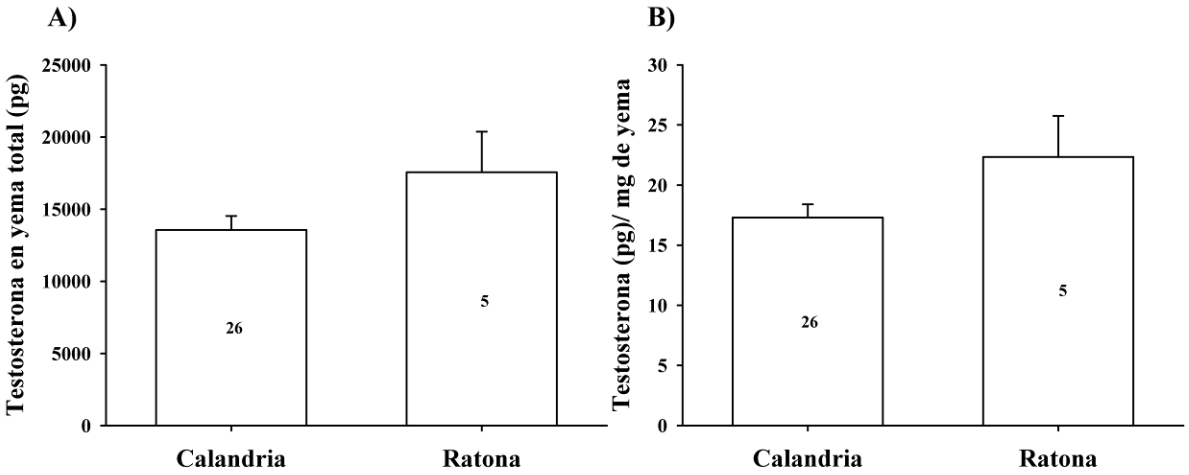

Figura 4.1: A) cantidad total de testosterona en yema y B) concentración de testosterona (pg) por mg de yema en huevos de Tordo Renegrido puestos en nidos de Calandria Grande y de Ratona Común. El número dentro de las barras corresponde al tamaño muestral.

Los niveles de hormonas también fueron analizados teniendo en cuenta el sexo de los individuos. En estos análisis solo se utilizaron huevos de Tordo Renegrido provenientes de nidos de Calandria Grande. La cantidad total de testosterona en huevos determinados como hembras fue similar a la de los huevos determinados como machos (ANOVA: $F_{1, 24}$ = 0,44; P = 0,51; figura 4.2 A). Tampoco se encontraron diferencias significativas en la concentración de testosterona en yema entre huevos de tordo determinados como hembras o como machos (ANOVA: $F_{1, 24}$ = 0,02; P = 0,89; figura 4.2 B).

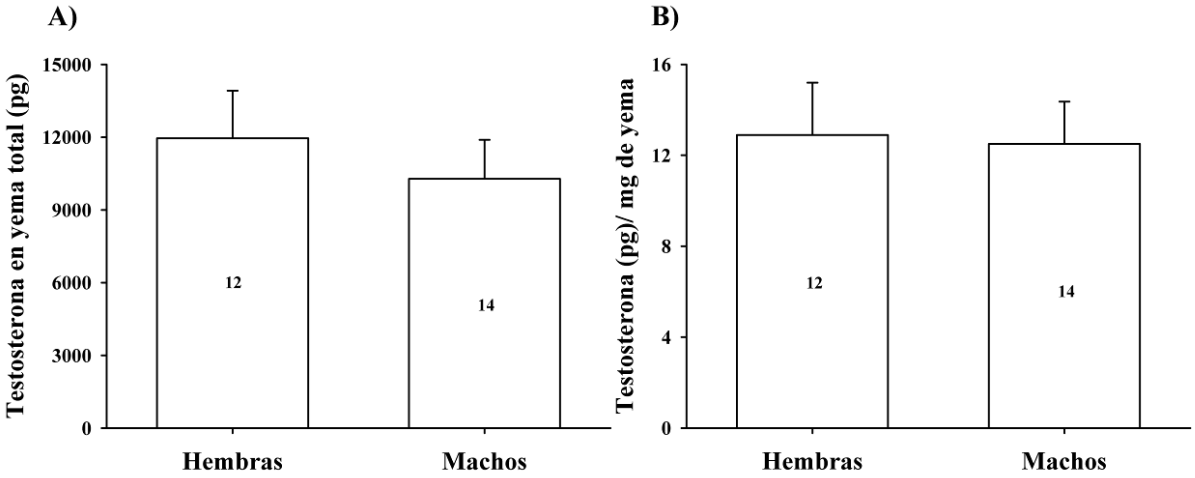

Figura 4.2: A) cantidad total de testosterona en yema y B) concentración de testosterona (pg) por mg de yema en huevos de Tordo Renegrido con embriones hembras y machos. El número dentro de la barras corresponde al tamaño muestral.

Se analizó la variación de la cantidad total y de la concentración de testosterona en yema en huevos de tordo a lo largo de la temporada reproductiva. Se utilizó como variable independiente la cantidad de días transcurridos desde el comienzo de la temporada reproductiva hasta la fecha de puesta del huevo. No se encontró una asociación entre el momento de la temporada reproductiva y la cantidad de testosterona total en yema (Regresión lineal: $F_{1,30} = 0{,}001$; $P = 0{,}96$; $R^2 = 0{,}007$; figura 4.3 A) ni con la concentración de testosterona (Regresión lineal: $F_{1,30} = 0{,}43$; $P = 0{,}51$; $R^2 = 0{,}01$; figura 4.3 B).

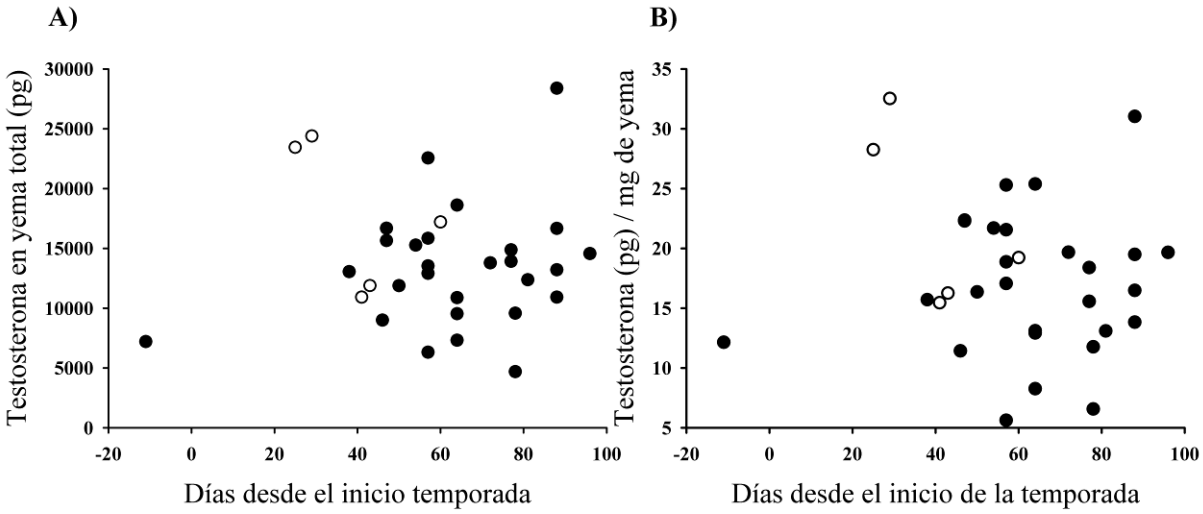

Figura 4.3: A) cantidad total de testosterona (pg) en yema y B) concentración de testosterona (pg) por mg de yema en huevos de Tordo Renegrido en función del momento de la temporada reproductiva en el que fue puesto el huevo. Se tomó como fecha de inicio de temporada el 1 de octubre. Los círculos blancos corresponden a huevos de Tordo Renegrido encontrados en nidos de Ratona Común y los círculos negros a huevos encontrados en nidos de Calandria Grande.

4.3.2 Peso de la yema y clara en huevos puestos en nidos de calandria y ratona

La inversión maternal en los huevos de Tordo Renegrido también se analizó midiendo la cantidad de yema y clara. En la tabla 4.1 se presentan los pesos medios de la yema y clara y el peso total del huevo para huevos de tordo encontrados en nidos de Ratona Común y Calandria Grande. El peso de la clara y el peso total del huevo fueron mayores en los huevos puestos en nidos de calandria que en nidos de ratona mientras que el peso de la yema fue similar para los huevos puestos en los nidos de ambos hospedadores (tabla 4.1).

Tabla 4.1: Inversión maternal (estimada como peso de la yema, la clara y del huevo) en huevos parásitos encontrados en nidos de la Ratona Común y la Calandria Grande.

	Calandria Grande	Ratona Común	Mann-Whitney (Z)	P
Peso yema (g)	0,81 ± 0,02 (36)	0,79 ± 0,03 (6)	-0,27	0,78
Peso clara (g)	2,22 ± 0,09 (36)	1,70 ± 0,17 (6)	-2,08	0,03
Peso huevo (g)	4,17 ± 0,09 (36)	3,54 ± 0,22 (5)	-2,07	0,03

4.3.3 Proporción primaria de sexos

La proporción primaria de sexos de los huevos de Tordo Renegrido encontrados en nidos de Ratona Común fue similar a la encontrada en nidos de la Calandria Grande (0.54 vs. 0,51; Wald = 0,006, df = 1; P = 0,93; tabla 4.2). La relación machos:hembras observada tanto en nidos de ratona (19♂:16♀) como en nidos de calandria (47♂:46♀) no se alejaron de la frecuencia 50♂:50♀ esperada por el azar (calandria: Wald = 0,38; df = 1; P = 0,54; ratona: Wald = 0,26; df = 1; P = 0,61). Cuando los datos fueron agrupados sin tener en cuenta hospedador y año, la proporción de sexos poblacional de machos:hembras fue de 1:0.94 (66♂:62♀) y tampoco fue significativamente diferente de lo esperado por el azar (Wald = 0,28; df = 1; P = 0,59). Por último, la proporción de sexos de los huevos no varió en relación a su fecha de puesta (Wald = 0,18; df = 3; P = 0,67).

Tabla 4.2: Proporción de sexos de huevos de Tordo Renegrido encontrados en nidos de ratona y calandria. Los valores reportados indican la proporción de machos. Los valores entre paréntesis corresponden a la cantidad de huevos sexados.

Año	N	Calandria Grande	Ratona Común
2004	51	0.57 (28)	0.57 (23)
2005	27	0.55 (20)	0.57 (7)
2006	50	0.44 (45)	0.40 (5)
Totales	128	0.51 (93)	0.54 (35)

No se encontró un efecto del año sobre el desvío de la proporción de sexos primaria de los huevos de Tordo Renegrido encontrados en nidos de la Ratona Común y la Calandria

Grande (Wald = 0,92; df = 2; P = 0,63; figura 4.4). La relación de machos:hembras para cada año fue de 29♂:22♀, 15♂:12♀ y 22♂:28♀ para los años 2004, 2005 y 2006 respectivamente.

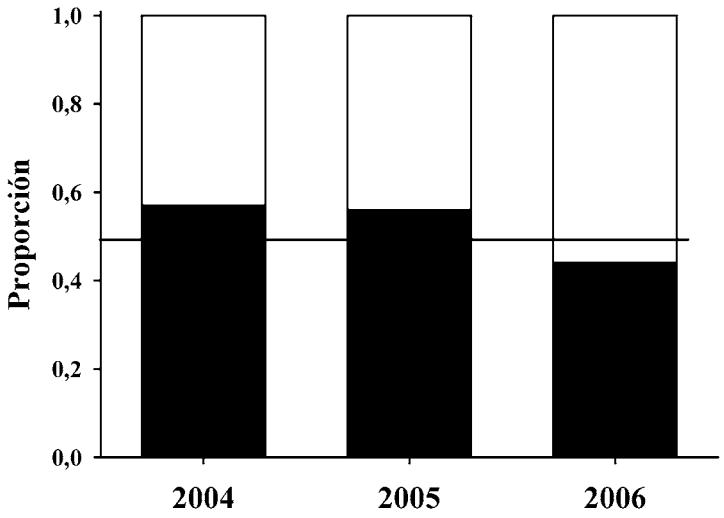

Figura 4.4: Proporción de huevos de Tordo Renegrido determinados como machos (barras negras) y como hembras (barras blancas). Los datos corresponden a huevos encontrados en nidos de Calandría Grande y Ratona Común durante los tres años de estudio.

4.4 Discusión

4.4.1 Inversión maternal en el huevo

Los resultados encontrados indican que las hembras de Tordo Renegrido realizan una inversión maternal diferencial en sus huevos dependiendo del hospedador que parasitan. Los huevos encontrados en nidos del hospedador de mayor tamaño corporal, la Calandria Grande, fueron un 22% más pesados que los encontrados en el hospedador de menor tamaño corporal, la Ratona Común. Estas diferencias de peso se debieron en parte a diferencias en el peso de la clara (23% más pesada en huevos de calandria que de ratona). Consistentemente con esto Ankney y Johnson (1985) mostraron que en el Tordo Cabeza Marrón la cantidad de albúmina correlaciona positivamente con el tamaño del huevo. Esta diferencia entre hospedadores en el peso de la clara de los huevos de tordo sugiere una inversión diferencial en proteínas según el hospedador utilizado ya que la mayor cantidad de proteínas se encuentra en la clara (Carey y col. 1980). La inversión en proteínas es sumamente importante en especies donde el tamaño estructural es importante para el pichón

(Boersma 1982), como sería el caso de los pichones de tordo criados en nidos de calandria donde la competencia por el alimento es más intensa y un mayor tamaño corporal podría ser beneficioso para la obtención de alimento.

Por el contrario, no se encontró una diferencia entre hospedadores en la inversión de recursos en la yema. Una mayor cantidad de yema podría ser ventajoso para los pichones de tordo si eclosionan en nidos de un hospedador grande, como la calandria, porque en este hospedador la competencia por el alimento es más intensa y tener una pequeña ventaja en tamaño podría aumentar la supervivencia del pichón en comparación con pichones que nacen de huevos más pequeños. Kattan (1995) mostró que los huevos de tordo poseen una yema más chica de la esperada por el tamaño corporal de la hembra. Esto podría explicar el corto período de incubación en esta especie parásita. Por lo tanto, podría existir en esta especie un compromiso entre una mayor inversión aumentando el tamaño de la yema, beneficiando al pichón con un mayor tamaño al momento de la eclosión, y prolongar el período de incubación, perjudicando al pichón al reducir la ventaja que tendría al nacer antes que los pichones del hospedador. La similitud del peso de la yema encontrada entre huevos podría indicar la existencia de este compromiso en esta especie parásita.

4.4.2 Inversión maternal de testosterona en yema

La concentración y la cantidad total de testosterona en yema fueron similares en huevos de tordo puestos en nidos de calandria y de ratona. Tampoco se observaron diferencias sexuales en los niveles de esta hormona en yema. Por lo tanto, estos resultados indican que las hembras parásitas no invierten diferencialmente andrógenos en la yema del huevo dependiendo de la especie hospedadora o del sexo. Los niveles de testosterona encontrados en este estudio fueron del mismo orden de magnitud que los encontrados en la especie parásita de cría Tordo Cabeza Marrón (Hauber y Pilz 2003).

La testosterona produce efectos pleiotrópicos sobre el embrión (Groothuis y col. 2005). Algunos de estos efectos pueden ser perjudiciales para el pichón, como la supresión del sistema inmune (Müller y col. 2002, Groothuis y col. 2005b). Por lo tanto, el compromiso entre costos y beneficios que genera esta hormona podría determinar el nivel óptimo de testosterona en la yema de los huevos. De existir este compromiso entre costos-beneficios en el Tordo Renegrido no sería esperable encontrar un aumento de testosterona

en la yema de los huevos parásitos a pesar de producir efectos ventajosos en ciertos caracteres. Esto podría explicar por qué las hembras de tordo no invierten más hormonas en huevos puestos en nidos de calandria a pesar de que los pichones de tordo criados en nidos de esta especie se beneficiarían con un aumento de testosterona (e.g. aumentando su crecimiento o la intensidad del comportamiento de pedido de alimento). Los costos en las hembras pueden surgir debido a que el aumento de la producción de testosterona para depositar en el huevo también aumente los niveles de esta hormona en sangre (Groothuis y Schwabl 2008). Los efectos negativos que esto puede producir en las hembras pueden ser un retraso en el comienzo de la reproducción (Clotfelter y col. 2004), una disminución en el cuidado parental de la nidada (Clotfelter y col. 2007), una disminución de su éxito reproductivo debido a una disminución del tamaño de puesta y éxito de eclosión (López-Rull y Gil 2009) o a un aumento en la mortalidad de los pichones (Sockman y Schwalb 2000). Si las hembras de Tordo Renegrido pagan un costo por invertir testosterona en sus huevos esto podría provocar que los niveles de este andrógeno no superen ciertas concentraciones en el huevo. Los resultados obtenidos en este estudio no aportan evidencias directas que sugieran la existencia de estos compromisos. Para evaluar la existencia de los costos que podría producir elevados niveles de testosterona son necesarios estudios donde se manipule la concentración de esta hormona en sangre en las hembras y en los pichones.

4.4.3 Proporción primaria de sexos

La proporción primaria de sexos en los huevos de Tordo Renegrido fue la esperada por el azar (1♂: 1♀) en ambos hospedadores estudiados. En contra de las predicciones de una desviación adaptativa de la proporción de sexos según el hospedador utilizado, no se observó una desviación hacia los machos en la proporción primaria de sexos de los huevos de tordo puestos en nidos de calandria, ni hacia las hembras en la proporción primaria de sexos de los huevos de tordo puestos en nidos de ratona. Estos resultados son similares a los encontrados en dos estudios previos que analizaron la proporción primaria de sexos en el Tordo Cabeza Marrón (Weatherhead 1989, Kasumovic y col. 2002). Weatherhead (1989) propuso que en estas especies parásitas, con dimorfismo sexual en tamaño, el sexo más grande (macho) es mejor competidor por el alimento que el sexo más chico (hembra) en

hospedadores de mayor tamaño corporal que el parásito. Sin embargo, en su estudio no encontró evidencias del desvío en la razón de sexos primaria o secundaria (número de machos o hembras que dejan exitosamente el nido). Este trabajo fue repetido con más detalle en la misma especie parásita (Kasumovic y col. 2002). Estos autores analizaron la relación de sexos en más hospedadores y tuvieron en cuenta si el desvío se producía a nivel poblacional o individual. Además, tuvieron en cuenta el sexo de los huevos de una misma hembra y analizaron si difería de lo esperado por el azar. Nuevamente este trabajo arrojó resultados negativos, es decir, no hubo un desvío en la razón de sexo a nivel poblaciones ni tampoco las hembras produjeron un sexo con más frecuencia que otro. Por otro lado, si en esta especie parásita existe un mecanismo de reconocimiento del hospedador desarrollado durante la etapa de pichones que determina en la hembra adulta qué hospedador parasitar, entonces podría existir presión de selección negativa si existe una desviación en la proporción de sexos porque esto afectaría el uso de ese hospedador en la siguiente generación. Un exceso de machos produciría un menor uso de ese hospedador y un menor reclutamiento, y un exceso de hembras un mayor uso.

La manipulación del sexo de la descendencia es posible si en las hembras evolucionó algún mecanismo que les permita manipular el sexo de sus hijos. Varios mecanismos fueron propuestos para las aves (Pike y Petrie 2003). Aunque todavía ninguno de ellos cuenta con suficiente evidencias a favor. En esta especie parásita dimórfica en tamaño (Reboreda y col. 1996) el éxito reproductivo de ambos sexos podría ser distinto dependiendo del hospedador. Sin embargo, a pesar de estas buenas razones para esperar un desvío en la proporción de sexos en esta especie parásita la razón de sexos fue explicada por el azar. La explicación más parsimoniosa de estos resultados es que las hembras parásitas no desarrollaron un mecanismo que les permita desviar adaptativamente la proporción de sexos de su descendencia.

4.5 Conclusión

La predicción que se puso a prueba en este capítulo fue que las hembras de tordo ajustarían su inversión en función del hospedador utilizado. Los resultados obtenidos muestran que las hembras de Tordo Renegrido que producen huevos más pesados también invierten en ellos más clara. Sin embargo, no se encontró una inversión diferencial en las otras variables

medidas, es decir, en la cantidad de yema, en la concentración de testosterona o en el sexo de la descendencia. Tampoco se encontró un efecto del momento de la temporada sobre la inversión. Por lo tanto, estos resultados apoyan parcialmente la hipótesis de una inversión diferencial de las hembras de tordo en función del hospedador que parasitan y del éxito reproductivo obtenido en cada uno de ellos.

Referencias bibliográficas

Anderson D. J., J. Reeve y D.M. Bird (1997). Sexually dimorphic eggs, nestling growth and sibling competition in American Kestrels Falco sparverius. Functional Ecology 11: 331-335.

Ankney C. D. (1980). Egg weight, survival and growth of Lesser Snow Goose goslings. Journal of Wildlife Management 44: 174-182.

Ankney C. D. y S. L. Johnson (1985). Variation in weight and composition of brown-headed cowbird eggs. Condor 87: 296-299.

Ardia D. R., M. F. Wasson y D. W. Winkler (2006). Individual quality and food availability determine yolk and egg mass and egg composition in Tree Swallows Tachycineta bicolor. Journal of Avian Biology 37: 252-259.

Arnold T. W. y A. J. Green (2007). On the allometric relationship between egg size and composition of avian eggs: a reassessment. Condor 109: 705-714.

Badyaev A. V. y T. Uller (2009). Parental effects in ecology and evolution: mechanisms, processes and implications. Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B 364: 1169-1177.

Badyaev A. V., H. Schwabl, R. L. Young, R. A. Duckworth, K. Navara y A. F. Parlow (2005). Adaptive sex differences in growth of pre-ovulation oocytes in a passerine bird. Proceedings of the Royal Society of London, B 272: 2165-2172.

Benito M. M. y J. Gonzáles-Solís (2007). Sex ratio, sex-specific chick mortality and sexual size dimorphism in birds. Journal of Evolutionary Biology 20: 1522-1530.

Blanco G., J. A. Dávila, J. A. López Septiem, R. Rodríguez y F. Martínez (2002). Sex-biased initial eggs favour sons in the slightly size-dimorphic Scops Owl (Otus scops). Biological Journal of the Linnean Society 76: 1-7.

Boersma P. D. (1982). Why some birds take so long to hatch. American Naturalist 120: 733-750.

Bortolotti G. R. (1986). Influence of sibling competition on nestling sex ratios of sexually dimorphic birds. American Naturalist 127: 495-507.

Briskie J. V. y S. G. Sealy (1990). Evolution of short incubation periods in the parasitic cowbirds, Molothrus spp. Auk 107: 789-794.

Canosa L. F. y N. R. Ceballos (2002). In vitro hCG and human recombinant FSH actions on testicular steroidogenesis in the toad Bufo arenarum. General and Comparative Endocrinology 126: 318-324.

Carey C., H. Rahn y P. Parisi (1980). Calories, water, lipid and yolk in avian eggs. Condor 82: 335-343.

Christians J. K. (2002). Avian egg size: Variation within species and inflexibility within individuals. Biological Reviews 77: 1-26.

Clotfelter E. D., D. M. O'Neal, J. M. Gaudioso, J. M. Casto, I. M. Parker-Renga, E. A. Snajdr, D. L. Duffy, V. Nolan Jr. y E. D. Ketterson (2004). Consequences of elevating plasma testosterone in females of a socially monogamous songbird: evidence of constraint on male evolution? Hormones and Behavior 46: 171-178.

Clotfelter E.D., C. R. Chandler, V. Nolan Jr y E. D. Ketterson (2007). The influence of exogenous testosterone on the dynamics of nestling provisioning in Dark-eyed Juncos. Ethology 113: 18-25.

Clutton-Brock T. H. (1991). The Evolution of Parental Care. Princeton University Press, Princeton, NJ.

Cordero P. J., S. C. Griffith, J. M. Aparicio y D. T. Parkin (2000). Sexual dimorphism in House Sparrow eggs. Behavior Ecology and Sociobiology 48: 353-357.

De Mársico M. C., B. Mahler, M. Chomnalez, A. G. Di Giacomo y J. C. Reboreda (2010). Host use by generalist and specialist brood parasitic cowbirds at population and individual levels. Advances in the Study of Behavior 42: 81-119.

Duffy D. L., G. E. Bentley, D. L. Drazen y G. F. Ball (2000). Effects of testosterone on cell-mediated and humoral immunity in non-breeding adult European starlings. Behavioral Ecology 11: 654-62.

Eising C. y T. Groothuis (2003). Yolk androgens and begging behaviour in Black-headed Gull chicks: an experimental field study. Animal Behaviour 66: 1-8.

Eising C. M., C. Eikenaar, H. Schwabl y T. G. G. Groothuis (2001). Maternal androgens in Black-headed Gull (Larus ridibundus) eggs: Consequences for chick development. Proceedings of the Royal Society of London, B 268: 839-846.

Eising C. M., W. Müller, C. Dijkstra y T. G. G. Groothuis (2003). Maternal androgens in egg yolks: relation with sex, incubation time and embryonic growth. General and Comparative Endocrinology 132: 241-247.

Fisher R.A. 1930. The Genetical Theory of Natural Selection. Clarendon Press, Oxford.

Fiala K. L. y J. D. Congdon (1983). Energetic consequences of sexual size dimorphism in nestling Red-winged Blackbirds. Ecology 64: 642-647.

Fiorini V. D., D. T. Tuero y J. C. Reboreda (2009). Shiny cowbirds synchronize parasitism with host laying and puncture host eggs according to host characteristics. Animal Behaviour 77: 561-568.

Fiorini V. D., A. A. Astie, D. T. Tuero y J. C. Reboreda (2005). Éxito reproductivo del Tordo Renegrido (Molothrus bonariensis) en hospedadores de distinto tamaño corporal. Hornero 20: 173-182.

Gilbert L., A. N. Rutstein, N. Hazon y J. A. Graves (2005). Sex-biased investment in yolk androgens depends on female quality and laying order in Zebra Finches (Taeniopygia guttata. Naturwissenschaften 92: 178-181.

Gil D., J. Graves, N. Hazon y A. Wells (1999). Male attractiveness and differential testosterone investment in Zebra Finch eggs. Science 286: 126-128.

Glassey B. y S. Forbes (2002). Begging and asymmetric nestling competition. En: The evolution of begging: competition, cooperation and communcation. Editores: J. Wright & M.L. Leonard. Páginas: 269-282. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht.

Groothuis T. G. G. y H. Schwabl (2008). Hormone-mediated maternal effects in birds: mechanisms matter but what do we know of them? Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B 363: 1647-1661.

Groothuis T. G. G, W. Müller, N. von Engelhardt, C. Carere1 y C. Eising (2005). Maternal hormones as a tool to adjust offspring phenotype in avian species. Neuroscience and Biobehavioral Reviews 29: 329-352.

Groothuis T. G. G., C. M. Eising, C. Dijkstra y W. Müller (2005b). Balancing between costs and benefits of maternal hormone deposition in avian eggs. Biological Letters 1: 78-81.

Groothuis T. G. G., C. M. Eising, J. D. Blount, P. Sural, V. Apanius, C. Dijkstra y W. Müller (2006). Multiple pathways of maternal effects in black-headed gull eggs: constraint and adaptive compensatory adjustment. Journal of Evolutionary Biology 19: 1304-1313.

Hahn D. C, J. S. Hatfield, M. A. Abdelnabi, J. M. Wu, L. D. Igl y M. A Ottinger (2005). Inter-species variation in yolk steroid levels and a cowbird-host Comparison. Journal of avian biology 36: 40-46.

Hauber M. E. y K.M. Pilz (2003). Yolk testosterone levels are not consistently higher in the eggs of obligate brood parasites than their hosts. American Midland Naturalist 149: 354-362.

Johnson, A. L. 2002 Reproduction in the female. En: *Sturkie's avian physiology*. Editores: G. C. Whittow. Páginas: 569-591. CA: Academic Press, San Diego.

Kasumovic M. M., H. L. Gibbs, B. E. Woolfenden, S. G. Sealey y H. Nakamura (2002). Primary sex-ratio variation in two brood parasitic birds: Brown-headed Cowbird (Molothrus ater) and Common Cuckoo (Cuculus canorus). Auk 119: 561-566.

Kattan G. H. (1995). Mechanisms of short incubation period in brood parasitic cowbirds. Auk 112: 335-342.

Kattan G. H. (1996). Growth and provisioning of Shiny Cowbird and House Wren host nestlings. Journal of Field Ornithology 67: 434-441.

Kilner R. M. (2002). The evolution of complex begging displays. En: The evolution of begging: competition, cooperation and communcation. Editores: J. Wright & M.L. Leonard. Páginas: 87-106. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht.

Kilpatric A. M. (2002). Variation in growth of Brown-headed Cowbird (Molothrus ater) nestlings and energetic impacts on their host parents. Canadian Journal of Zoology 80: 145-153.

Krebs E. A., D. J. Green, M. C. Double y R. Griffiths (2002). Laying date and laying sequence influence the sex ratio of crimson rosella broods. Behavioral Ecology and Sociobiology 51: 447-454.

Krüger O. (2007). Cuckoos, cowbirds and hosts: adaptations, trade-offs and constraints. Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B 362: 1873-1886.

Lichtenstein G. y S. G. Sealy 1998. Nestling competition, rather than supernormal stimulus, explains the success of parasitic Brown-headed Cowbird chicks in Yellow Warbler nests. Proceedings of the Royal Society of London B 265: 249-254.

Lipar J. L. (2001). Yolk steroids and the development of the hatching muscle in nestling European Starlings. Journal of avian biology 32: 231-238.

Lipar J. L. y E. D. Ketterson (2000). Maternally derived yolk testosterone enhances the development of the hatching muscle in the red-winged blackbird Agelaius phoeniceus. Proceedings of the Royal Society of London B 267: 2005-2010

Lipar J. L., E. D. Ketterson, V. Nolan Jr. y J. M. Casto (1999a). Egg yolk layers vary in the concentration of steroid hormones in two avian species. General and Comparative Endocrinology 115: 220-227.

Lipar J. L., E. D. Ketterson y V. Nolan Jr. (1999b). Intraclutch variation in testosterone content of Red-winged Blackbird eggs. Auk 116: 231-235.

Lochmiller R. L. y C. Deerenberg (2000). Trade-offs in evolutionary immunology: just what is the cost of immunity? Oikos 88: 87-98.

López-Rull I. y D. Gil (2009). Elevated testosterone levels affect female breeding success and yolk androgen deposition in a passerine bird. Behavioural Processes 82: 312-318.

Magrath M. J. L., E. Van Lieshout, I. Pen, G. H. Visser y J. Komdeur (2007). Estimating expenditure on male and female offspring in a sexually size-dimorphic bird: a comparison of different methods. Journal of Animal Ecology 76: 1169-1180.

Marshall R. C., B. Leisler, C. K. Catchpole y H. Schwabl (2005). Male song quality affects circulating but not yolk steroid concentrations in female canaries (Serinus canaria). Journal of Experimental Biology 208: 4593-4598.

Martins T. L. F. (2004). Sex-specific growth rates in zebra finch nestlings: a possible mechanism for sex ratio adjustment. Behavioural Ecology 15: 174-180.

Mason P. (1986). Brood parasitism in a host generalist, the Shiny Cowbird: II. Host selection. Auk 103: 61-69.

Mazuc J., O. Chastel y G. Sorci (2003). No evidence for differential maternal allocation to offspring in the House Sparrow (Passer domesticus). Behavioral Ecology 14: 340-346.

McMaster D. G. y S. G. Sealy (1998). Short incubation periods of Brown-headed Cowbirds: How do cowbird eggs hatch before Yellow Warbler eggs? Condor 100:102-111.

Mock D. W. y L. S. Forbes (1995). The evolution of parental optimism. Trends in Ecology and Evolution 10: 130-134.

Mousseau T. A. y C. W. Fox (1998). The adaptive significance of maternal effects. Trends in Ecology and Evolution 13: 403-407.

Müller W., C. M. Eising, C. Dijkstra y T. G. G. Groothuis (2002). Sex differences in yolk hormones depend on maternal social status in Leghorn chickens (Gallus gallus domesticus. Proceedings of the Royal Society of London, Series B 269: 2249-2255.

Nager R. G., P. Managhan, R. Griffiths, D. C. Houston y R. Dawson (1999). Experimental demonstration that offspring sex ratio varies with maternal condition. Proceedings of the National Academy of Science, USA 96: 570-573.

Navara K. J., G. E. Hill y M. T. Mendonca (2005). Variable effects of yolk androgens on growth, survival and immunity in Eastern Bluebird nestlings. Physiological and Biochemical Zoology 78: 570-578.

Navara K. J., L. M. Siefferman, G. E. Hill y M. T. Mendonca (2006). Yolk androgens vary inversely tomaternal androgens in Eastern Bluebirds: an experimental study. Functional Ecology 20: 449-456.

Ortega C. (1998). Cowbirds and other brood parasites. Tucson: University of Arizona Press.

Ottinger M. A., S. Pitts y M. A. Abdelnabi (2001). Steroid hormones during embryonic development in Japanese Quail: plasma, gonadal, and adrenal levels. Poultry Science 80: 795-799.

Payne R. B. (1977). The ecology of brood parasitism in birds. Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics 8: l-28.

Pen I. y F. J. Weissing (2002). Optimal sex allocation: steps towards a mechanistic theory. En: Sex Ratios: Concepts and Research Methods. Editor I.C.W. Hardy. Páginas: 26–45. Cambridge University Press, Cambridge.

Peters A. (2000). Testosterone treatment is immunosuppressive in Superb Fairy-Wrens, yet free-living males with high testosterone are more immunocompetent. Proceedings of the Royal Society of London, Series B 267: 883-889.

Petrie M., H. Schwabl, N. Brande-Lavridsen y T. Burke (2001). Sex differences in avian yolk hormone levels. Nature 412: 498.

Pike T. W. y M. Petrie (2003). Potential mechanisms of avian sex manipulation. Biological Reviews 78: 553-574.

Pilz K. M., H. G. Smith, M. I. Sandell y H. Schwabl (2003). Interfemale variation in egg yolk androgen allocation in the European Starling: do high-quality females invest more? Animal Behaviour 65: 841-850.

Reed W. L. y C. M. Vleck (2001). Functional significance of variation in egg-yolk androgens in the American coot. Oecologia 128: 164-171.

Richner H. (1991). The growth dynamics of sexually dimorphic birds and Fisher´s sex ratio theory: does sex-specific growth contribute to balanced sex ratio? Functional Ecology 5: 19-28.

Rivers J. W. (2007). Nest mate size, but not short-term need, influences begging behavior of a generalist brood parasite. Behavioral Ecology 18: 222-230.

Røskaft E. y T. Slagsvold (1985). Differential mortality of male and female offspring in experimentally manipulated broods of the rook. Journal of Animal Ecology 54: 261-266.

Schwabl H. (1993). Yolk is a source of maternal testosterone for developing birds. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA. 90: 11446-11450.

Schwabl H. (1996). Maternal testosterone in the egg enhances postnatal growth. Comparative Biochemistry and Physiology 114: 271-276.

Schwabl H. (1997). The contents of maternal testosterone in House Sparrow Passer domesticus eggs vary with breeding conditions. Naturwissenschaften 84: 406-408.

Schwabl H., D. W. Mock y J. A. Gieg (1997). A hormonal mechanism for parental favouritism. Nature 386: 231.

Scott D. M. y R. E. Lemon (1996). Differential reproductive success of Brown-headed Cowbirds with Northern Cardinals and three other hosts. Condor 98: 259-271.

Sheldon B. C. y S. Verhulst (1996). Ecological immunology: costly parasite defences and trade-offs in evolutionarye cology. Trends in Ecology & Evolution 11: 317-321.

Sockman K. W. y H. Schwabl (2000). Yolk androgens reduce offspring survival. Proceedings of the Royal Society of London, Series B 267: 1451-1456.

StatSoft, Inc. 2001. STATISTICA (data analysis software system), version 6. www.statsoft.com.

Stearns S. C. (1992). The evolution of life histories. Oxford University Press, Oxford.

Tanabe Y., N. Saito y T. Nakamura (1986). Ontogenetic steroidogenesis by testes, ovary, and adrenals of embryonic and postembryonic chickens (Gallus domesticus). General and Comparative Endocrinology 63:456–463.

Teather K. L. y P. J. Weatherhead (1988). Sex-Specific Energy Requirements of Great-tailed Grackle (Quiscalus mexicanus) Nestlings. Journal of Animal Ecology 57: 659-668.

Trivers R. L. (1972). Parental Investment and Sexual Selection. En: Sexual selection and the descent of the man 1871-1971. Editores B. Campbell. Páginas: 136-179. Aldine, Asherton, Chicago.

Verboven N., P. Monaghan, D. M. Evans, H. Schwabl, N. Evans, C. Whitelaw y R. G. Nager (2003). Maternal condition, yolk androgens and offspring performance: a supplemental feeding experiment in the lesser Black-backed Gull (Larus fuscus). Proceedings of the Royal Society of London, Series B 270: 2223-2232.

von Engelhardt C. Dijkstra, S. Daan y T. G. G. Groothuis (2004). Effects of 17-β-estradiol treatment of female zebra finches on offspring sex ratio and survival. Hormones and Behavior 45: 306-313**.**

von Engelhardt N., C. Carere, C. Dijkstra y T. G. G. Groothuis (2006). Sex-specific effects of yolk testosterone on survival, begging and growth of Zebra Finches. Proceedings of the Royal Society of London, Series B 273: 65-70.

Weatherhead P. J. (1989). Sex ratios host-specific reproductive success and impact of Brown-headed Cowbirds. Auk 106: 358-366.

Williams G. C. (1966). Natural selection, the costs of reproduction, and a refinement of Lack's principle. American Naturalist 100: 687-690.

Williams T. D. (1994). Intraspecific variation in egg size and egg composition in birds: effects on offspring fitness. Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society 68: 35-59.

Wilson K. y I. C. W. Hardy (2002). Statistical analysis of sex ratios: an introduction. En: Sex Ratios: Concepts and Research Methods. Editores: I.C.W. Hardy. Páginas: 48-92. Cambridge University Press, Cambridge.

Winkler D. W. (1993). Testosterone in egg yolk: An ornithologist`s perspective. Proceedings of the National Academy of Sciences USA 90: 11439-11441.

Wolf J. B. y M. J. Wade (2009). What are maternal effects (and what are they not)? Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B 364: 1107-1116.

Woods J. E., R. M. Simpson y P. L. Moore (1975). Plasma testosterone levels in the chick embryo. General and Comparative Endocrinology 27: 543-547.

Capítulo 5

Variación del comportamiento de pedido de alimento de los pichones de Tordo Renegrido en distintos hospedadores

5.1 Introducción

Los pichones de las aves producen un llamativo despliegue de pedido de alimento ("begging") durante las visitas de entrega de alimento al nido por parte de los padres. Este comportamiento es dirigido a los padres y consiste en un despliegue donde el pichón estira el cuello, mueve las alas, se posa sobre sus tarsos, y al mismo tiempo abre su boca mostrando su colorido interior (Redondo y Castro 1992, Kilner 2002, figura 5.1 A y B) emitiendo intensas vocalizaciones (Haskell 1999, Kilner 2002). Este comportamiento posee componentes o despliegues visuales (i.e. postura del pichón y coloración del interior de la boca) y auditivos (i.e. vocalizaciones) que cumplen distintas funciones (Kilner 2002). Los despliegues visuales (e.g. la postura que adopta el pichón) están asociados con la competencia por el alimento con sus hermanos (Kacelnik y col. 1995, Kilner 2002, Leonard y col. 2003). En concordancia con esto, varios estudios encontraron una asociación positiva entre la intensidad del despliegue visual del comportamiento de pedido de alimento (ver métodos para su definición) y el alimento recibido por el pichón (Redondo y Castro 1992, Kilner 1995, Kacelnik y col. 1995, Leonard y Horn 1998, Porkert y Špinka 2006). No está claro si estos resultados se deben a que los pichones que muestran una mayor intensidad del despliegue visual ganan la contienda por el alimento o si los padres alimentan preferentemente a los pichones que muestran una intensidad mayor (Kilner 2002). En cuanto a la coloración y ornamentación del interior de la boca de los pichones (ver figura 5.1 B) se ha propuesto que su función podría estar relacionada con la detectabilidad del pichón en el nido (Kilner 2002). También la coloración más brillante de la boca aumenta la probabilidad de recibir alimento (Götmark y Ahlström 1997, Heeb y col. 2003). Por otro lado, la intensidad y frecuencia de las vocalizaciones están relacionadas con la tasa de entrega de alimento al nido por parte de los padres (Kilner 2002, Leonard y col. 2003), siendo esta mayor al aumentar las vocalizaciones (Ottosson y col. 1997). Si bien todas estas señales actúan simultáneamente, cada componente discreto de este comportamiento podría ser moldeado por la selección natural de manera independiente (Kilner 2002).

Figura 5.1: Comportamiento de pedido de alimento de pichones durante un evento de alimentación: A) pichón de Cuervo Común (Corvux corax, http://bna.birds.cornell.edu/bna/species/476/galleries/photos) estirando el cuello posado sobre sus tarsos y agitando las alas, B) pichón de Chloebia gouldiae con una elaborada ornamentación tanto en el interior de su boca como en las comisuras (http://www.birdphotographers.net/forums/showthread.php/48686-To-young-for-feathers-but-not-for-colors-Gouldian-finch).

Un factor importante que afecta al comportamiento de pedido de alimento es el estado nutricional, necesidad alimenticia o condición del pichón (Godfray 1991). La condición del pichón está determinada por la cantidad de alimento necesaria para crecer hasta poder abandonar el nido (Price y col. 1996). Esta cantidad de alimento determina la necesidad a largo plazo del pichón (Price y col. 1996). En cambio, la necesidad a corto plazo o hambre se refiere a la cantidad de alimento diaria que necesita el pichón para sobrevivir (Price y col. 1996). Varios estudios han demostrado que pichones en mala condición nutricional muestran un despliegue visual y auditivo del comportamiento de pedido de alimento (postura y vocalizaciones) más intenso (Smith y Montgomery 1991, Teather 1992, Price y col. 1996). Estos resultados son apoyados por estudios experimentales donde se manipuló el nivel de necesidad a corto plazo o hambre del pichón, encontrándose dentro de un determinado rango una asociación positiva entre el nivel de necesidad del pichón y la intensidad del comportamiento de pedido de alimento (Leonard y Horn 1998, Lichtenstein y Dearborn 2004). Esta diferencia en la necesidad alimenticia de los pichones puede ser consecuencia de la competencia entre los pichones por el alimento (Price 1996, Neuenschwander y col. 2003, Porkert y Špinka 2006).

La intensidad del comportamiento de pedido de alimento también está influenciada por los niveles hormonales en el huevo (Eising y Groothuis 2003) o en el pichón (Goodship y Buchanan 2006). Eising y Groothuis (2003) encontraron que pichones que nacieron de huevos inyectados con testosterona desplegaron un comportamiento de pedido de alimento más intenso. Además, Goodship y Buchanan (2006) encontraron que los niveles de testosterona en plasma correlacionan positivamente con la intensidad de comportamiento de pedido de alimento. Previamente Groothuis y Ros (2005) encontraron que pichones con implantes de testosterona también tenían una mayor intensidad de comportamiento de pedido de alimento.

Otro factor que puede afectar el comportamiento de pedido de alimento es la experiencia del pichón en los anteriores eventos de alimentación que puede condicionar al pichón con qué intensidad solicitar alimento (Kedar y col. 2000, Rodríguez-Gironés y col. 2002). Kedar y col. (2000) encontraron que la postura del pichón estaba correlacionada positivamente con la postura previa que tuvo el pichón cuando fue alimentado. Algo similar fue encontrado por Rodríguez-Gironés y col. (2002) quienes demostraron que los pichones pueden aprender a desplegar un comportamiento de pedido de alimento más intenso para recibir la misma cantidad de comida que sus hermanos. Ambos estudios indican que este comportamiento es plástico, o sea, que para un mismo nivel de necesidad alimenticia o condición, los pichones pueden presentar distinta intensidad de pedido de alimento.

El comportamiento de pedido de alimento ha sido ampliamente estudiado en el marco del conflicto paterno-filial (Trivers 1974, Parker y Macnair 1978, Lundberg y Smith 1994). Este conflicto surge por los distintos intereses que poseen padres e hijos (Trivers 1974). Desde el punto de vista de los padres existiría un compromiso entre la alimentación de los pichones actuales y su supervivencia y éxito reproductivo futuro (Stearns 1992). Esto resultaría en un nivel de aprovisionamiento óptimo desde el punto de vista paterno (Kilner 2002). En cambio, desde la perspectiva de los hijos su interés es ser alimentados a la mayor tasa para alcanzar la independencia lo antes posible, aunque esto implique un costo sobre la supervivencia y éxito reproductivo futuro de sus padres (Parker y Macnair 1978). La razón de esto es que cada individuo comparte el 100% de los genes consigo mismo, el 50% con sus hermanos o padres y el 25% con sus medio hermanos. Por lo tanto, desde el punto de vista individual y teniendo en cuenta el grado de parentesco es más importante la

supervivencia propia que la de sus hermanos o padres en primer lugar y luego la de sus medio hermanos. Sin embargo, este comportamiento egoísta deja de ser beneficioso cuando el beneficio (la propia supervivencia) es superado por el costo de perder hermanos (Hamilton 1964). En concordancia con esto, en un estudio realizado en varias especies de aves se encontró que el comportamiento de pedido de alimento es más intenso a medida que disminuye el parentesco de los miembros de una nidada (Briskie y col. 1994). Dentro de este marco, los hijos comunican sus necesidades alimenticias a sus padres a través del comportamiento de pedido de alimento y estos pueden evaluar los requerimientos alimenticios de sus pichones (Godfray 1995). De esta manera, los padres responden ajustando la frecuencia de alimentación de sus hijos (Ottosson y col. 1997). La solución a este conflicto llega si la señal que los pichones comunican a sus padres es honesta (Godfray 1995). Por lo tanto, el comportamiento de pedido de alimento es informativo del estado nutricional del pichón y de la necesidad de alimento (Horn y Leonard 2002).

Los pichones de las especies parásitas de cría no están emparentados con los individuos que los crían. Por lo tanto, no comparten genes con sus padres o hermanos adoptivos y el coeficiente de parentesco entre ellos es cero. En estos casos no hay posibilidad de que exista un conflicto paterno-filial entre ellos (Harper 1986). Por este motivo varios autores plantearon que en las especies parásitas el comportamiento de pedido de alimento debería tener una intensidad mayor (i.e. egoísta) que en las especies no parásitas (Harper 1986, Redondo 1993, Rodríguez-Gironés y col. 2002). Este comportamiento de pedido de alimento exagerado fue encontrado tanto en el Tordo Cabeza Marrón (Dearborn 1998, Lichtenstein y Sealy 1998) como en el Tordo Renegrido (Lichtenstein y Dearborn 2004). Esta alta intensidad puede estimular a sus padres adoptivos a llevar más alimento al nido (Kilner y col. 2003) y en aquellos hospedadores donde el pichón de tordo sea el mejor competidor este puede beneficiarse monopolizando el alimento (Kilner y col. 2003). En estas especies también se encontró una asociación entre la necesidad a corto plazo (i.e. hambre) y el comportamiento de pedido de alimento (Hauber y Ramsey 2003, Lichtenstein y Dearborn 2004). Por lo tanto, este comportamiento también es informativo de la condición nutricional en pichones de especies parásitas como lo habían propuesto previamente Kilner y Davies (1999). Por otro lado, en estas especies parásitas se han realizado pocos estudios analizando qué factores afectan este comportamiento. Rivers

(2007) mostró en su trabajo que la variación del comportamiento de pedido de alimento de los pichones del Tordo Cabeza Marrón no fue explicada por la necesidad a corto plazo sino por la identidad del hospedador donde fue criado el pichón parásito. En las especies parásitas que utilizan hospedadores de distintas características, sus pichones se enfrenten a muy distintas situaciones de crianza. Pueden ser los pichones más grandes del nido y en este caso tienen una ventaja por su tamaño en el acceso al alimento (Kilner 2003, Kilner y col. 2003), o pueden ser los más chicos enfrentándose con una alta competencia por el alimento con sus compañeros de nido (Lichtenstein 2001). Por este motivo, es esperable que los pichones de tordo presenten distinto comportamiento de pedido de alimento dependiendo del hospedador que utilizan. En aquellos hospedadores donde la competencia es más intensa sería esperable que los pichones de tordo tengan un comportamiento de pedido de alimento más intenso que en hospedadores en los que la competencia es menos intensa. Además, esta especie es dimórfica en tamaño y este dimorfismo aparece durante la etapa de pichones (ver capítulo 3). Por lo tanto, sería esperable que machos y hembras de Tordo Renegrido sean afectados diferencialmente por la competencia por el alimento cuando compiten con pichones del hospedador de mayor tamaño corporal que el parásito (Weatherhead 1989). Además los pichones de especies dimórficas en tamaño poseen distintos requerimientos energéticos durante su crecimiento (Teather y Weatherhead 1988). Debido a esto es esperable que los pichones de tordo tengan distintas necesidades alimenticias que determinen distintas estrategias de comportamiento de pedido de alimento en función del hospedador. En este caso es esperable que el sexo más grande sea mejor competidor que el más pequeño, que esté en mejor condición y que por lo tanto despliegue una menor intensidad de comportamiento de pedido de alimento en un hospedador de mayor tamaño corporal que el parásito. Por último, si en esta especie parásita existen razas hospedador específicas que condujeron a una diferenciación genética entre hembras (Mahler y col. 2007) y si este comportamiento tiene bases genéticas es esperable que los distintos niveles de competencia entre hospedadores hayan seleccionado distintas bases genéticas de este comportamiento. Por lo tanto, es esperable que los pichones provenientes de huevos encontrados en el mismo hospedador desplieguen el mismo comportamiento de pedido de alimento independientemente de dónde sean criados.

En este capítulo se estudiará si las condiciones de competencia dentro del nido influyen sobre el comportamiento de pedido de comida en los pichones de Tordo Renegrido. Para ello se analizará el comportamiento de pedido de alimento de pichones parásitos criados en condiciones estandarizadas en nidos de Calandria Grande (hospedador donde la competencia por el alimento es intensa) y Ratona Común (hospedador donde la competencia por el alimento no es intensa). Es esperable que los pichones de tordo desplieguen un comportamiento de pedido de alimento más intenso en nidos de la calandria que en nidos de ratona. Además se estudiará si ambos sexos despliegan la misma estrategia de pedido de alimento en ambas situaciones de competencia. Es esperable que los pichones machos desplieguen un menor comportamiento de pedido de alimento que las hembras en el hospedador que presenta una alta competencia por el alimento. También se estudiará la plasticidad de este comportamiento con un experimento de translocación de huevos entre hospedadores.

5.2 Metodología

5.2.1 Recolección de datos

Los datos presentados en este capítulo corresponden a experimentos realizados en nidos de calandria y de ratona encontrados en las temporadas reproductivas 2007, 2008 y 2009.

5.2.2 Diseño de los experimentos en nidos de calandria y de ratona

Los nidos de calandria fueron manipulados de manera tal de obtener nidadas con dos pichones de calandria y un pichón de tordo (figura 5.2 B). Para ello, se removió el 3° y 4° huevo de calandria y todos los huevos de tordo puestos en el nido salvo uno (figura 5.2 A). Si el huevo de tordo fue puesto de manera natural antes de comenzada la incubación (antes de la puesta del 3° huevo de calandria) entonces se dejó ese huevo (parasitismo natural sincrónico con la puesta del hospedador). En cambio, si antes de la puesta del 3° huevo de calandria el nido no había sido parasitado, entonces se lo parasitó artificialmente con un huevo de tordo fresco (no más de 3 días desde su puesta hasta el momento de utilización) proveniente de otro nido de calandria (parasitismo artificial sincrónico con la puesta del hospedador). La cantidad de pichones del hospedador utilizada en este experimento fue de 2 porque este es el número promedio de pichones de calandria que quedan en nidos

parasitados sin manipular (Fiorini y Reboreda 2006). Por lo tanto, sería la situación de competencia más frecuente con la que se enfrentaría un pichón parásito en este hospedador. El huevo de tordo fue puesto durante la puesta del hospedador ya que en un 74 % de los casos el parasitismo ocurre durante la puesta del hospedador (Fiorini y Reboreda 2006). Esto resulta en que el pichón de tordo eclosiona un día antes o el mismo día que los pichones de calandria (Fiorini y col. 2009).

Figura 5.2: A) Nido experimental con 2 huevos de Calandria Grande y 1 huevo de Tordo Renegrido, B) Nido experimental en la etapa de pichones con 2 pichones de Calandria Grande (pichones durmiendo con las comisuras de la boca blancas) y 1 pichón de Tordo Renegrido (pichón con el interior de la boca roja). Fotos: Diego T. Tuero y Vanina D. Fiorini.

Por otro lado, los nidos de ratona fueron manipulados de forma de obtener nidadas con cuatro pichones de ratona y un pichón de tordo (figura 5.3 B). Este tamaño de nidada se obtuvo removiendo el 5° huevo de ratona (y eventualmente el 6° si éste era puesto) y agregando un huevo de tordo proveniente de otro nido de ratona (figura 5.3 A) 3 días después de empezada la incubación. Se adoptó este tamaño de nidada porque es el más frecuente después de un evento de parasitismo (Tuero y col. 2007), siendo por lo tanto esta la situación más común de competencia por el alimento entre pichones del hospedador y del parásito. Se eligió el día 3 de incubación para parasitar el nido para evitar una alta mortalidad de pichones del hospedador (Tuero y col. 2007). Esta es una situación relativamente común en este hospedador ya que el 43 % de los nidos son parasitados luego de finalizada la puesta (Fiorini y col. 2009).

Figura 5.3: A) Nido experimental con 4 huevos de Ratona Común y 1 huevo de Tordo Renegrido, B) Nido experimental en la etapa de pichones con 4 pichones de Ratona Común (pichones más pequeños con las comisuras de la boca blancas) y 1 pichón de Tordo Renegrido (pichón más grande con las comisuras de la boca amarillas). Fotos: Diego T. Tuero.

El experimento de translocación de huevos consistió en parasitar artificialmente nidos de ratona con huevos de tordo frescos provenientes de nidos de calandria. Las condiciones en estos nidos fueron las mismas que en los nidos de ratona parasitados con huevos de tordo encontrados en otros nidos de ratona. Es decir, 4 huevos de ratona más un huevo parásito puesto el 3º día de comenzada la incubación. Solo se tuvieron en cuenta los pichones machos para las comparaciones de las variables comportamentales. Debido a la alta tasa de predación y abandono de nidos de calandria (81%, Fiorini 2007) y la relativamente baja frecuencia de parasitismo en ratona (50%, D. T. Tuero, datos no publicados) no fue posible translocar huevos de tordo puestos en nidos de ratona a nidos de calandria.

Los nidos de calandria y de ratona fueron filmados durante 2 hs cuando los pichones tenían 4 días de edad con una microcámara conectada a un dispositivo de almacenamiento de datos (Portable Video Recorder, modelo JXD 990). Todas las filmaciones se realizaron entre las 7 y las 10 de la mañana. Antes de comenzada la filmación se removió al pichón de tordo y se lo alimentó hasta saciarlo. Luego de 1 h se devolvió el pichón al nido y se comenzó la filmación. El alimento utilizado fue una mezcla de carne picada con huevo (Lichteinstein y Dearborn 2004). Con esta metodología en este trabajo se controló por los

efectos sobre el comportamiento de pedido de alimento de la necesidad a corto plazo y de la edad del pichón.

5.2.3 Medición de las variables comportamentales

Las variables medidas fueron: 1) intensidad del comportamiento de pedido de alimento, 2) latencia del comportamiento de pedido de alimento, 3) duración del comportamiento de pedido de alimento durante el evento de alimentación. Para medir la intensidad de pedido de alimento se asignó un rango de 0 a 3 a la postura que adoptó el pichón (figura 5.4 y 5.5) basados en la escala utilizada por Leonard y col. (2003). Para cada evento de alimentación se determinó la postura de mayor rango que adoptó el pichón de tordo y luego se calculó el promedio de los rangos de todas las visitas de alimentación. La latencia se midió como el tiempo transcurrido entre la llegada del adulto con alimento al nido y el comienzo del despliegue del comportamiento de pedido de alimento por parte del pichón. Esta variable puede tomar valores negativos si el pichón empieza a solicitar alimento antes de que el adulto llegue al nido. La duración del comportamiento de pedido de alimento se midió como el tiempo transcurrido desde el comienzo del despliegue de pedido de alimento hasta su finalización (en algunos casos luego de que el evento de alimentación había concluido).

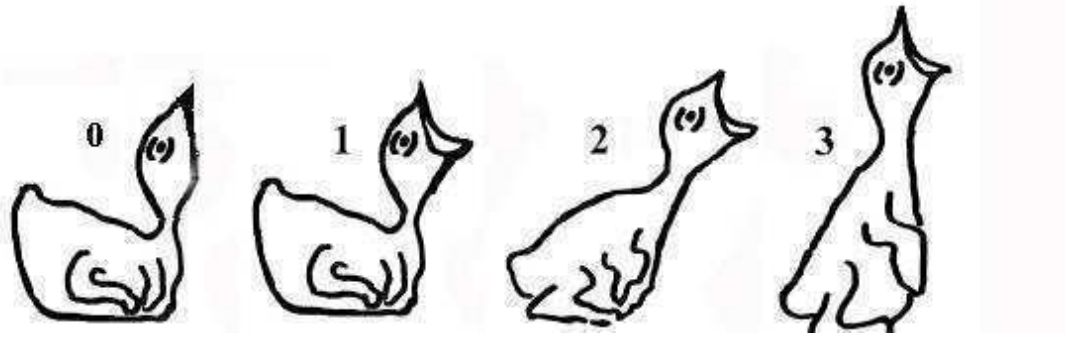

Figura 5.4: Rango asignado a cada postura adoptada por el pichón para la medición de la intensidad del comportamiento de pedido de alimento durante un evento de alimentación. Figura tomada de Kedar y col. (2000).

Foto 5.5: Nidada de Calandria Grande con dos pichones de calandria (interior de la boca amarilla) desplegando un comportamiento de pedido de alimento con intensidad 1 (pichón de la izquierda de la foto) y 3 (pichón de la derecha de la foto), y un pichón de tordo (interior de la boca roja) desplegando un comportamiento de pedido de alimento con una intensidad de 2 (pichón del centro de la foto). Foto: Vanina D. Fiorini.

5.2.4 Medición de frecuencia de alimentación, alimento recibido y peso del pichón de tordo

A partir de las filmaciones también se registró para cada evento de alimentación la identidad del pichón alimentado. Además se estimó el tamaño de la presa estimando su volumen mediante la metodología utilizada por Greenberg y Droege (1990). Para ello se registró qué proporción del pico del adulto abarcaba la presa. La mínima proporción utilizada fue 0.20 y luego se usaron incrementos de 0.20. Esta proporción fue multiplicada por el volumen del pico del hospedador adulto.

$$V_{presa} = V_{pico} * \text{proporción presa}$$

El volumen de los picos de las calandrias y ratonas adultas fue medido en 30 pieles de cada especie de la colección de aves del Museo Argentino Bernardino Rivadavia mediante la siguiente fórmula (Greenberg y Droege 1990):

$$V_{pico} = 1/3 * \pi * L * A * D$$

donde L es la distancia entre el borde proximal de la comisura hasta la punta del pico medida sobre el lado derecho, A es la distancia entre los bordes más proximales de las

comisuras y D es la distancia vertical entre la parte superior de la mandíbula y la base de la mandíbula inferior medida en la base del pico.

Se registró el mismo día de la filmación la masa corporal y el largo del tarso de los pichones de tordo en ambos hospedadores. Luego se estimó la condición del pichón mediante los residuos de la regresión entre la masa corporal y el largo del tarso (Schulte-Hostedde y col. 2005).

5.2.5 Análisis estadísticos

Para analizar diferencias entre hospedadores y entre sexos se utilizaron pruebas no paramétricas (Prueba de Mann-Whitney) debido al incumplimiento de los supuestos de normalidad y/o homocedacia. Estos análisis se realizaron con Statistica 6.0 (StatSoft Inc. 2001). Las variables proporción de eventos de alimentación en los que el pichón parásito desplegó primero el comportamiento de pedido de alimento y la proporción de alimento recibido por el pichón parásito se analizaron utilizando un Modelo Lineal Generalizado (GLM) con una función de enlace logit. En estos modelos se utilizó una distribución de frecuencia binomial de los errores. En ambos casos la variable predictora usada, hospedador, fue introducida como factor fijo en el modelo. La significancia fue testeada usando el estadístico de Wald, el cual sigue una distribución χ^2. Para determinar si la proporción de alimento recibido por los pichones de tordo difiere del azar dentro de cada hospedador se realizó una Prueba Binomial, en la cual se tomó el valor esperado de 1/3 en calandria y 1/5 en ratona. Las pruebas estadísticas fueron hechas utilizando el paquete estadístico R, Versión 2.11.1 (R Development Core Tem 2008).

Los valores se reportaron como promedio ± error estándar y se usó un $P < 0.05$ para la significancia estadística en todas las pruebas.

5.3 Resultados

5.3.1 Diferencias entre hospedadores en el comportamiento de pedido de alimento del pichón parásito

Todas las variables del comportamiento de pedido de alimento medidas arrojaron diferencias significativas entre hospedadores. La latencia de los pichones de tordo criados en nidos de calandria fue significativamente menor que la de los pichones de tordo criados

en nidos de ratona (Prueba de Mann-Whitney: Z = -3,46; P < 0,001; figura 5.6 A). Además, los pichones criados en nidos de calandria pidieron alimento con mayor intensidad que los pichones criados en nidos de ratona (Prueba de Mann-Whitney: Z = -4,63; P < 0,001; figura 5.6 B). Por último, la duración del comportamiento de pedido de alimento del pichón de tordo en nidos de calandria fue significativamente mayor que en nidos de ratona (Prueba de Mann-Whitney: Z = -3,54; P < 0,001; figura 5.6 C).

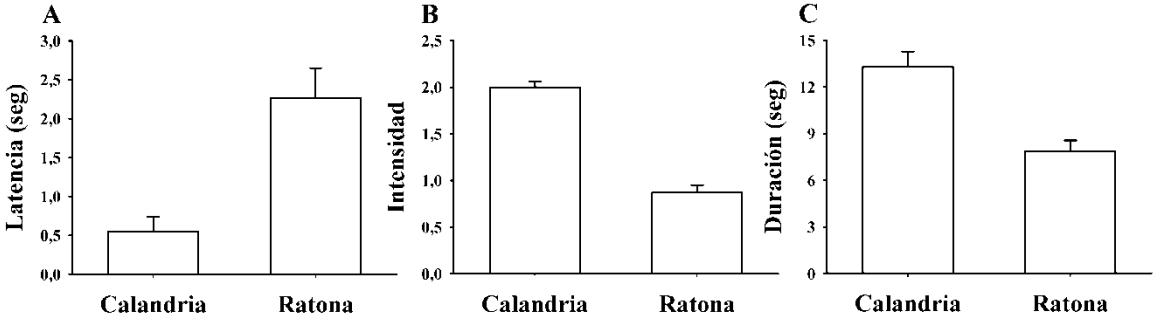

Figura 5.6: Comportamiento de pedido de alimento de los pichones de Tordo Renegrido criados en nidos de calandria (N = 17 pichones) y de ratona (N = 13 pichones) medido como: A) latencia promedio del comportamiento de pedido de alimento durante un evento de alimentación, B) intensidad pomedio del pedido de alimento durante un evento de alimentación y C) duración promedio del pedido de alimento durante un evento de alimentación.

Los pichones de tordo criados en nidos de ratona provenientes de huevos puestos en calandria mostraron la misma latencia (Prueba de Mann-Whitney: Z = -0,74; P = 0,46; figura 5.7 A), intensidad (Prueba de Mann-Whitney: Z = -0,98; P = 0,33; figura 5.7 B), y duración (Prueba de Mann-Whitney: Z = -1,04; P = 0,29; figura 5.7 C) del comportamiento de pedido de alimento que los pichones criados en nidos de ratona provenientes de huevos puestos en nidos de ratona.

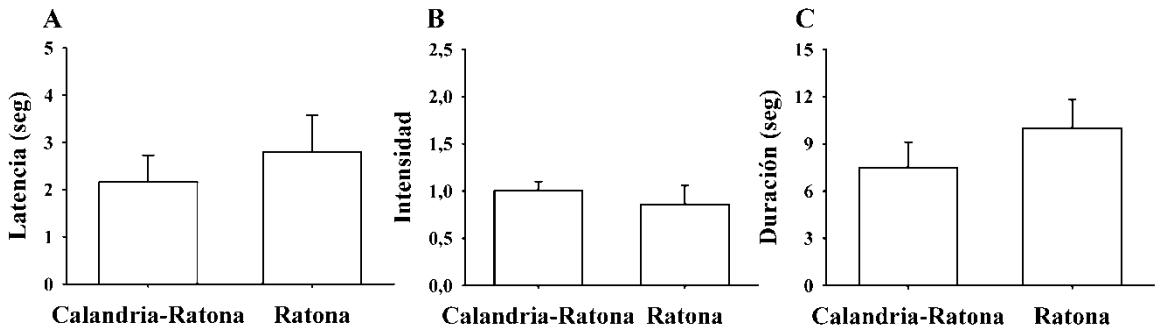

Figura 5.7: Comportamiento de pedido de alimento de los pichones de Tordo Renegrido criados en nidos de ratona provenientes de huevos puestos en nidos de calandria (N = 5 pichones) y de nidos de ratona (N = 4 pichones) medido como: A) latencia promedio del comportamiento de pedido de alimento durante un evento de alimentación, B) intensidad promedio del pedido de alimento durante un evento de alimentación y C) duración promedio del pedido de alimento durante un evento de alimentación.

La proporción de eventos de alimentación en los cuales los pichones de tordo fueron los primeros en desplegar el comportamiento de pedido de alimento en nidos de calandria fue de 0,71 ± 0,04 (N = 17 pichones). En cambio, esta proporción en nidos de ratona fue significativamente menor (0,16 ± 0,04; N = 13 pichones; Wald = 48,28; df = 28; P < 0,01).

5.3.2 Diferencias sexuales en el comportamiento de pedido de alimento

La latencia del comportamiento de pedido de alimento no difirió significativamente entre sexos tanto en nidos de calandria (Prueba de Mann Whitney: Z = -0,91; P = 0,36; figura 5.8) como en nidos de ratona (Prueba de Mann Whitney: Z = -0,26; P = 0,79; figura 5.8).

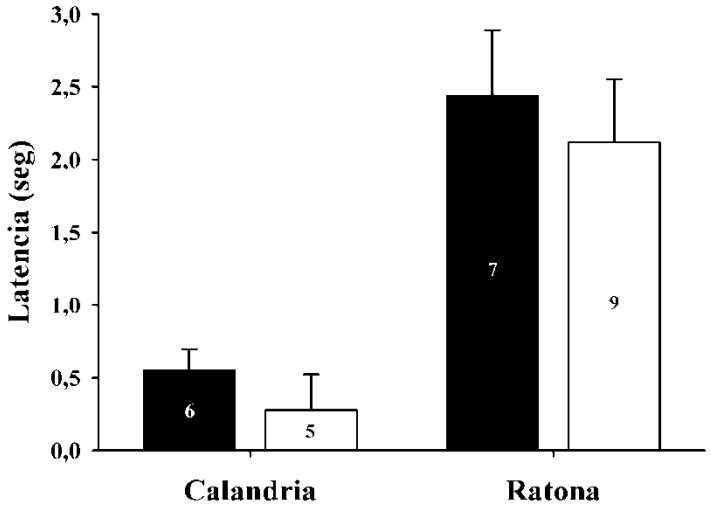

Figura 5.8: Latencia del comportamiento de pedido de alimento de pichones de Tordo Renegrido criados en nidos de calandria y de ratona. Las barras negras corresponden a los machos y las barras blancas a las hembras. El número dentro de la barras corresponde al tamaño muestral.

La intensidad del comportamiento de pedido de alimento tampoco mostró diferencias significativas entre sexos tanto en los pichones criados en nidos de calandria (Prueba de Mann Whitney: Z = -1,28; P = 0,20; figura 5.9) como en los pichones criados nidos de ratona (Prueba de Mann Whitney: Z = -0,32; P = 0,75; figura 5.9).

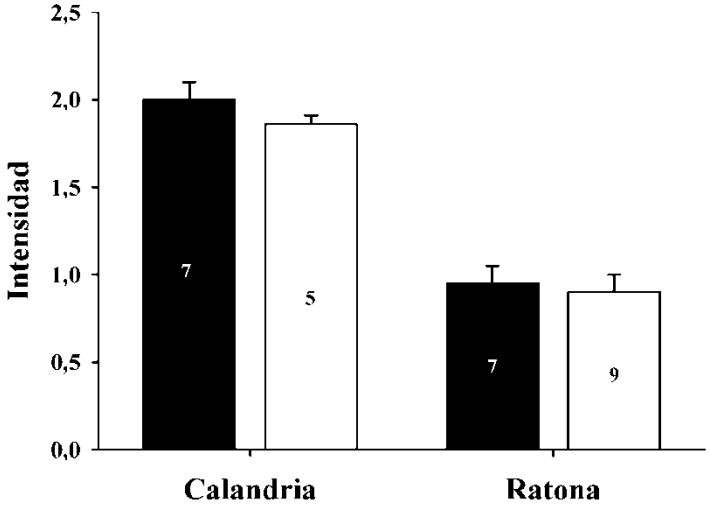

Figura 5.9: Intensidad del comportamiento de pedido de alimento de pichones de Tordo Renegrido criados en nidos de calandria y de ratona. Las barras negras corresponden a los machos y las barras blancas a las hembras. El número dentro de la barras corresponde al tamaño muestral.

La duración del comportamiento de pedido de alimento fue mayor en pichones machos criados en nidos de calandria que en pichones hembras (Prueba de Mann Whitney: Z = -2,19; P = 0,03; figura 5.10) pero no se observaron diferencias sexuales en la duración del comportamiento de pedido de alimento en pichones de tordo criados en nidos de ratona (Prueba de Mann Whitney: Z = -1,04; P = 0,30; figura 5.10).

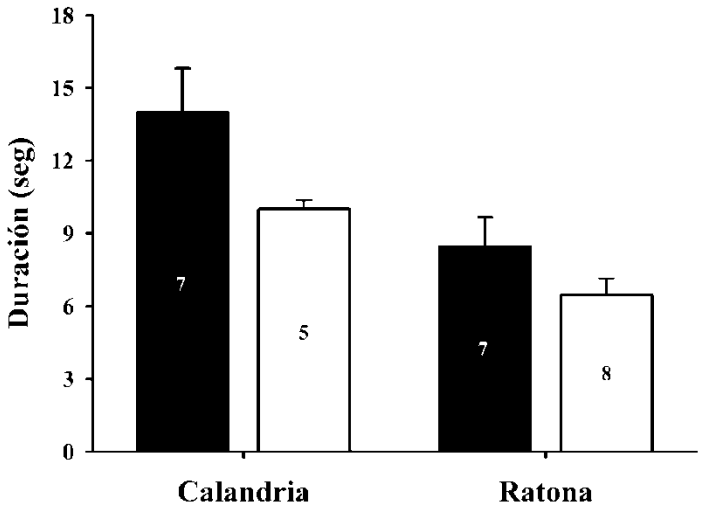

Figura 5.10: Duración del comportamiento de pedido de alimento de pichones de Tordo Renegrido criados en nidos de calandria y de ratona. Las barras negras corresponden a los machos y las barras blancas a las hembras. El número dentro de la barras corresponde al tamaño muestral.

5.3.3 Comportamiento de pedido de alimento y alimento recibido

Los pichones de tordo criados en nidos de calandria compartieron el nido con 2 pichones del hospedador mientras que los criados en nidos de ratona lo compartieron con 4 pichones del hospedador. Por lo tanto, en nidos de calandria la proporción de alimento recibida por el tordo que sería esperable por el azar es de 0,33 (1/3) mientras que en ratona de 0,2 (1/5). La proporción observada de alimento recibido por el pichón de tordo en nidos de calandria fue de 0,31 ± 0,02 y no fue significativamente diferente de lo esperado por el azar (χ^2 = 13,30; gl = 17; P = 0,71; figura 5.11 A). En cambio, la proporción observada de alimento recibido por el pichón de tordo en nidos de ratona fue de 0,51 ± 0,04 y fue significativamente diferente de lo esperado por azar (χ^2 = 418,05; gl = 21; P < 0,001; figura 5.11 A). Además, la proporción de alimento recibido por los pichones de tordo en nidos de calandria fue

significativamente menor que lo recibido en ratona (Wald = 50,89; df = 36; P < 0,01; figura 5.11 A). Sin embargo, la cantidad de alimento recibido por los pichones de tordo, medido como volumen de alimento, fue mayor cuando fueron criados en nidos de calandria que cuando lo fueron en nidos de ratona (Prueba de Mann-Whitney: Z = -4,46; P < 0,001; figura 5.11 B).

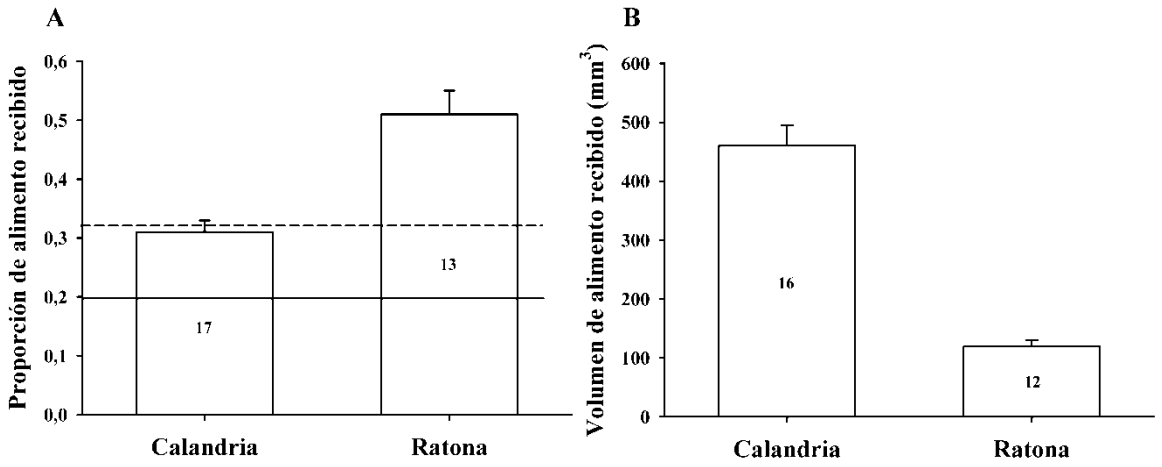

Figura 5.11: A) Proporción de alimento recibido por el pichón de tordo en nidos de calandria y de ratona. La línea punteada indica la proporción de alimento esperada por azar en nidos de calandria y la línea continua la proporción de alimento esperada por azar en nidos de ratona. B) Volumen de alimento ingerido por pichones de tordo en nidos de calandria y en nidos de ratona. El número dentro de la barras corresponde al número de nidos analizados en cada caso.

5.3.4 Comportamiento de pedido de alimento, crecimiento y condición del pichón

Los pichones de tordo criados en nidos de calandria tuvieron el mismo peso que los pichones criados en nidos de ratona al día 4 de edad (día de la filmación, tabla 5.1). También el peso alcanzado al día 8 de edad por los pichones criados en ambos hospedadores no resultó significativamente diferente (tabla 5.1). Además, la condición de los pichones de tordo criados en nidos de calandria fue similar a la que tuvieron los pichones criados en nidos de ratona tanto el día 4 (estimador de la condición a corto plazo) como el día 8 de edad (estimador de la condición a largo plazo, tabla 5.1).

Tabla 5.1: Medidas del estado nutricional de pichones de tordo criados en nidos con alta (calandria) y baja (ratona) competencia por el alimento.

	Calandria	Ratona	Estadístico	P
Peso día 4	19 ± 1 g (14)	19,8 ± 0,6 g (13)	$F_{1,25} = 0,24$	0,62
Peso día 8	32,04 ± 2,85 g (6)	36,56 ± 1,11 g (12)	$F_{1,17} = 2,71$	0,12
Condición día 4	0,50 ± 0,49 (14)	-0,79 ± 0,64 (13)	$F_{1,25} = 2,61$	0,11
Condición día 8	1,04 ± 1,63 (6)	0,09 ± 0,88 (12)	$F_{1,17} = 0,01$	0,90

La tabla 5.2 muestra la condición de pichones de tordo machos y hembras. No se encontró una diferencia sexual tanto en la condición a corto plazo (día 4) como en la condición a largo plazo (día 8).

Tabla 5.2: Medidas del estado nutricional de ambos sexos de pichones de tordo a distintas edades criados en nidos calandria.

	Machos	Hembras	Estadístico	P
Condición día 4	0,48 ± 0,40 (11)	0,43 ± 0,54 (11)	$F_{1,20} = 0,006$	0,94
Condición día 8	0,13 ± 1,48 (5)	0,60 ± 0,86 (14)	$F_{1,13} = 0,08$	0,77

En la figura 5.12 se muestra la relación de las 3 variables del comportamiento de pedido de alimento medidas y la condición al día 4 de edad. No se encontró una relación entre la condición y la latencia (Correlación de Spearman: Z = 0,25; P = 0,80; ρ = 0,05; N = 26 pichones; figura 5.12 A), la intensidad (Correlación de Spearman: Z = 1,05; P = 0,29; ρ = 0,21; N = 26 pichones; figura 5.12 B) ni la duración del comportamiento de pedido de alimento (Correlación de Spearman: Z = 0,94; P = 0,35; ρ = 0,19; N = 26 pichones; figura 5.12 C).

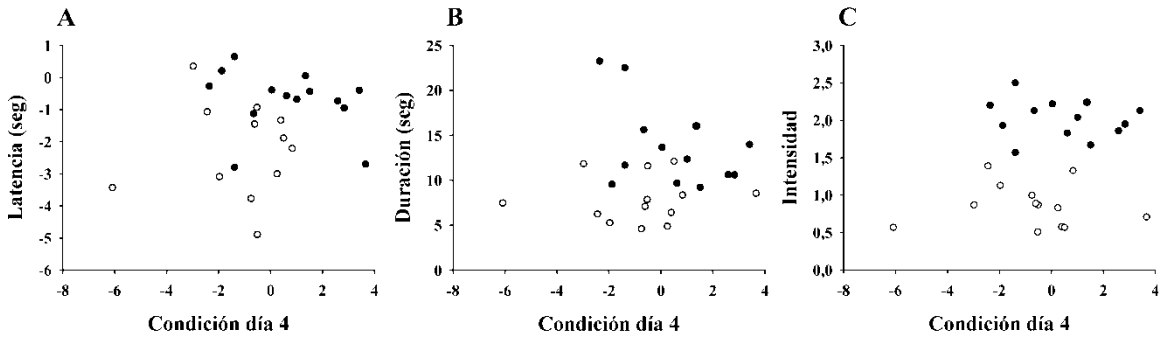

Figura 5.12: Relación entre la condición y la latencia (A), la duración (B) y la intensidad (C). Los círculos blancos corresponden a los pichones de tordo criados en nidos de ratona y los círculos negros a los pichones de tordo criados en nidos de calandria.

5.4 Discusión

5.4.1 Diferencias entre hospedadores y entre sexos en el comportamiento de pedido de alimento del pichón parásito

Los resultados encontrados en este capítulo muestran que el comportamiento de pedido de alimento difiere según el hospedador en el que es criado el pichón parásito. Todas las variables medidas de este comportamiento (latencia, intensidad y duración) difirieron entre hospedadores según lo predicho. En la calandria, hospedador en el que la competencia por alimento fue mayor, se observó una menor latencia y una mayor intensidad y duración de este comportamiento indicando que los pichones de tordo criados en nidos de calandria fueron más competitivos que los criados en nidos de ratona. Los experimentos de translocación mostraron que este comportamiento es plástico dependiendo de las condiciones del crianza del pichón parásito. El sexo del pichón no estuvo asociado con la mayoría de las variables medidas (la única excepción fue la duración en nidos de calandria). Estos resultados indican que en esta especie parásita no habría diferencias sexuales en el comportamiento de pedido de alimento. Estos resultados no apoyan la hipótesis planteada que el sexo más grande, los machos, podrían desplegar un menor comportamiento de pedido de alimento al estar en mejor condición debido a su mayor tamaño en un hospedador con una mayor competencia por el alimento.

Las diferencias encontradas entre hospedadores aquí no son explicables por la necesidad a corto plazo de los pichones ya que los pichones de tordo criados en ambos hospedadores recibieron el mismo tratamiento de alimentación-privación y además tuvieron

la misma condición tanto a los 4 como a los 8 días de edad. Además, no se encontró una relación entre la condición del pichón y las variables del comportamiento de pedido de alimento medidas. Por lo tanto, una mayor intensidad del comportamiento de pedido de alimento no refleja la necesidad de alimento por parte del pichón. Los resultados de peso y condición indican que los pichones parásitos que desplegaron distintos niveles de este comportamiento criados en dos hospedadores distintos tenían el mismo estado nutricional al momento del experimento. Tampoco estas diferencias pueden ser atribuibles a diferencias genéticas de este comportamiento asociadas al hospedador donde es puesto el huevo. Los experimentos de translocación muestran un fuerte componente ambiental en la determinación de este comportamiento. El patrón del comportamiento de pedido de alimento encontrado en este estudio es similar al encontrado en el Tordo Cabeza Marrón (Rivers 2007). Este autor mostró que el comportamiento de pedido de alimento fue más intenso en hospedadores de mayor tamaño corporal. Al igual que este estudio, este comportamiento puede variar entre individuos con el mismo estado nutricional en esta especie parásita de cría generalista. También sus resultados mostraron que los niveles más altos del comportamiento de pedido de alimento están asociados a un mayor nivel de competencia por el acceso al alimento dentro del nido.

En este estudio se controlaron metodológicamente las principales variables que afectan el comportamiento de pedido de alimento: el estado nutricional del pichón y el sexo, y se manipuló experimentalmente el nivel de competencia y el ambiente social del nido (hospedador). Estas dos últimas variables podrían explicar el patrón observado del comportamiento de pedido de alimento en esta especie parásita debido a que los pichones de tordo criados en nidos de calandria están sometidos a una competencia por el alimento más intensa. Price y col. (1996) mostraron que los pichones de *Xanthocephalus xanthocephalus* desplegaron un comportamiento de pedido de alimento más intenso cuando compartieron el nido con hermanos de mayor tamaño corporal, o sea, en un ambiente más competitivo. Esto podría estar ocurriendo en los pichones de tordo criados en nidos de calandria donde deberían desplegar un comportamiento de pedido de alimento más intenso en un ambiente más competitivo para obtener la cantidad de alimento necesario para su crecimiento. Esto también puede explicar por qué no se encontró una diferencia en el estado nutricional de los pichones criados en nidos de distintos hospedadores. Además, los

pichones parásitos podrían aprender qué intensidad de comportamiento es más exitosa en la obtención de alimento. Este aprendizaje fue observado en dos estudios experimentales realizados sobre Passer domesticus (Kedar y col. 2000) y Pica pica (Rodríguez-Gironés y col. 2002). Ambos estudios encontraron que la postura desplegada por los pichones durante los eventos de alimentación que recibieron alimento es adoptada en los siguientes eventos de alimentación. Estas diferencias comportamentales encontradas en los pichones de tordo también pueden explicarse por el ambiente social donde es criado el pichón. El pichón de tordo puede estar influenciado por el comportamiento de pedido de alimento desplegado por sus compañeros de nido y si este comportamiento es más intenso en el hospedador de mayor tamaño corporal esta podría ser la causa de las diferencias encontradas.

5.4.2 Relación del comportamiento de pedido de alimento y el alimento recibido

La cantidad de alimento recibida por los pichones de tordo criados en nidos de calandria fue la esperada por azar mientras que en nidos de ratona fue mayor que la esperada por azar. Estos resultados indican que el tordo no recibe un mayor beneficio alimenticio al desplegar un comportamiento de pedido de alimento más intenso ya que en nidos de ratona recibe más alimento a pesar de tener un comportamiento de pedido menos intenso. En calandria, Fiorini y col. (2009) encontraron que la tasa de mortalidad del pichón parásito aumentó cuando aumentaba el número de pichones del hospedador. En los experimentos realizados en este capítulo no se registró la muerte de pichones parásitos. Esto indicaría que la intensidad de la competencia por el alimento de esta situación experimental no fue extrema. Este patrón de alimentación tampoco es el esperado si los adultos alimentan al primer pichón que despliega el comportamiento de pedido de alimento. Esto fue observado en la golondrina Tachycineta bicolor (Whittingham y col. 2003). En este estudio los adultos no solo alimentaban al pichón que primero solicitaba alimento sino que también al que estaba más cerca de los adultos cuando estos arribaban al nido con alimento. En este capítulo se mostró que los tordos son los primeros pichones en solicitar alimento en el 71% de los eventos de alimentación. Sin embargo, estos pichones recibieron el 33 % del alimento llevado al nido.

Los resultados mostrados aquí también indican que los pichones de tordo monopolizan el alimento transportado al nido en un hospedador de menor tamaño corporal

que el parásito. Los pichones de tordo recibieron el 50 % del alimento llevado al nido. Esto indica que los tordos ganan la competencia a sus compañeros de nido por el acceso al alimento. En este hospedador el pichón de tordo es un 60% más grande que los pichones de ratona al momento de la eclosión (Tuero 2004). Por lo tanto, estos pichones no necesitan desplegar una intensidad del comportamiento de pedido de alimento muy alta para ganar la competencia interespecifica por el alimento. Estos resultados también pueden ser explicados si el estímulo (visual o auditivo) de este comportamiento produce un superestímulo en el hospedador que lo conduce a alimentar al pichón parásito. El comportamiento de pedido de alimento del parásito puede ser una señal sensorial exagerada que estimula a los padres para recibir altos niveles de cuidado parental (Davies y Brooke 1988, soler y col. 1995). Grim y Honza (2001) realizaron un experimento en la especie parásita Cuculus canorus criada en nidos de Acrocephalus scirpaceus para poner a prueba esta hipótesis. Apoyando la hipótesis de superestímulo los autores encontraron que en nidos con un pichón de cada especie del mismo tamaño, la especie parásita recibió más alimento y de mejor calidad. En esta especie de tordo la mayor superficie de la boca, debido a su mayor tamaño, podría estimular a sus padres adoptivos a otorgarle más alimento.

5.5 Conclusiones

En este capítulo se analizaron algunos factores que afectan el comportamiento de pedido de alimento en los pichones de Tordo Renegrido. Los resultados obtenidos muestran que los pichones parásitos despliegan un comportamiento plástico dependiendo del hospedador en el que son criados. Ninguno de los principales factores (estado nutricional, condición, edad, sexo o tamaño del pichón) que afectan este comportamiento influyó en esta especie. Tampoco se encontraron evidencias genéticas de este comportamiento asociadas al hospedador donde es puesto el huevo. La competencia por el alimento a la cual se enfrenta el pichón de tordo, que difiere entre los hospedadores estudiados, o un aprendizaje de qué comportamiento desplegar para obtener alimento podrían explicar estas diferencias comportamentales.

Referencias bibliográficas

Briskie J. V., C. T. Naugler y S. M. Leech (1994). Begging intensity of nestling birds varies with sibling relatedness. Proceedings of the Royal Society of London B 258: 73-78.

Davies, N. B. y Brooke, M. de L. (1988). Cuckoos versus Reed Warblers: adaptations and counteradaptations. Animal Behaviour 36: 262-284.

Dearborn D. C. (1998). Begging behavior and food acquisition by Brown-headed Cowbird nestlings. Behavioral Ecology and Sociobiology 43: 247-257.

Eising C. y T. Groothius (2003). Yolk androgens and begging behaviour in black-headed gull chicks: an experimental field study. Animal Behaviour 66: 1-8.

Fiorini V. D. (2007). Sincronización de puesta y elección de hospedador en el parásito de cría generalista Molothrus bonariensis (Icterinae, Aves). Tesis de Doctorado, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.

Fiorini V. D. y J. C. Reboreda (2006). Cues used by Shiny Cowbirds (Molothrus bonariensis) to locate and parasitise Chalk-browed Mockingbird (Mimus saturninus) nests. Behavioral Ecology and Sociobiology 60: 379-385.

Fiorini V. D., D. T. Tuero y J. C. Reboreda (2009). Shiny cowbirds synchronize parasitism with host laying and puncture host eggs according to host characteristics. Animal Behaviour 77: 561-568.

Godfray H. C. J. (1991). Signalling of need by offspring to their parents. Nature 352: 328-330.

Godfray H. C. J. (1995). Signaling of need between parents and young: parent-offspring conflict and sibling rivalry. American Naturalist 146: 1-24.

Götmark F. y M. Ahlström (1997). Parental preference for red mouth of chicks in a songbird. Proceedings of the Royal Society of London B 264: 959-962.

Goodship N. M. y K. L. Buchanan (2006). Nestling testosterone is associated with begging behaviour and fledging success in the pied flycatcher, Ficedula hypoleuca. Proceedings of the Royal Society of London B 273; 71-76.

Greenberg R. y S. Droege (1990). Adaptations to tidal marshes in breeding populations of the Swamp Sparrow. Condor 92: 393-404.

Grim T. y M. Honza (2001). Does supernormal stimulus influence parental behavior of the cuckoo's host? Behavioral Ecology and Sociobiology 49: 322-329.

Groothuis T. G. G. y A. F. H. Ros (2005). The hormonal control of begging and early aggressive behavior: Experiments in black-headed gull chicks. Hormones and Behavior 48: 207-215.

Hamilton W. D. (1964). The genetical evolution of social behavior: I. Journal of Theoretical Biology 7: 1-16.

Harper A. B. (1986). The evolution of begging: sibling competition and parent-offspring conflict. American Naturalist 128: 99-114.

Haskell D. G. (1999). The effect of predation on begging-call evolution in nestling Wood Warblers. Animal Behaviour 57: 893-901.

Hauber M. E. y C. K. Ramsey (2003). Honesty in host-parasite communication signals: the case for begging by fledgling brown-headed cowbirds Molothrus ater. Journal of Avian Biology 34: 339–344, 2003

Heeb P., T. Schwander y S. Faoro (2003). Nestling detectability affects parental feeding preferences in a cavity-nesting bird. Animal Behaviour 66: 637-642.

Horn A. G. y M. L. Leonard (2002). Efficacy and the design of begging signals. En: The evolution of nestling begging: competition, cooperation and communication Editores: J. Wright & M.L. Leonard. Páginas: 127-141. Kluwer Academic Press, Dordrecht.

Kacelnik A., P. A. Cotton, L. Stirling y J. Wright (1995). Food allocation among nestling starlings: sibling competition and the scope of parental choice. Proceedings of the Royal Society of London, Series B 259: 259-263.

Kedar H, M. A. Rodríguez-Gironés, S. Yedvab, A. Lotem y D. W. Winkler (2000). Learning modifies offspring signalling of need to their parents. Proceedings of the Royal Society of London, Series B 267:1723-1727.

Kilner R. M. (1995). When do canary parents respond to nestling signals of need? Proceedings of the Royal Society of London, Series B 260: 343-348.

Kilner R. M. (2002). The evolution of complex begging displays. En: The evolution of begging: competition, cooperation and communcation. Editores: J. Wright & M.L. Leonard. Páginas: 87-106. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht.

Kilner R. M. (2003). How selfish is a cowbird nestling? Animal Behaviour 66: 569-576.

Kilner R. M. y N. B. Davies (1999). How selfish is a cuckoo chick? Animal Behaviour 58: 797-808.

Kilner R. M., J. R. Madden y M. E. Hauber (2003). Brood parasitic cowbird nestlings use host young to procure resources. Science 305: 877-879.

Leonard M. L. y A. G. Horn (1998). Need and nestmates affect begging in Tree Swallows. Behavioral Ecology and Sociobiology 42: 431-436.

Leonard M. L., A. G. Horn y E. Parks (2003). The role of posturing and calling in the begging display of nestling birds. Behavioral Ecology and Sociobiology 54: 188-193.

Lichtenstein G. (2001). Low success of shiny cowbird chicks parasitizing Rufous-Bellied Thrushes: chick–chick competition or parental discrimination? Animal Behaviour 61: 401-413.

Lichtenstein G. y S. G. Sealy (1998). Nestling competition, rather than supernormal stimulus, explains the success of parasitic Brown-headed Cowbird chicks in Yellow Warbler nests. Proceedings of the Royal Society of London, Series B 265: 249-254.

Lichtenstein G. y D. C. Dearborn (2004). Begging and short-term need in cowbird nestlings: how different are brood parasites? Behavioral Ecology and Sociobiology 6: 352-359.

Lundberg S. y H. G. Smith (1994). Parent-offspring conflict over reproductive efforts: variations upon a theme by Charnov. Journal of Theoretical Biology 170: 215-218.

Mahler B., V. A. Confalonieri, I. J. Lovette y J. C. Reboreda (2007). Partial host fidelity in nest selection by the shiny cowbird (Molothrus bonariensis), a highly generalist avian brood parasite. Journal of Evolutionary Biology 20: 1918-1923.

Neuenschwander S., M. W. G. Brinkhof, M. Kölliker y H. Richter (2003). Brood size, sibling competition, and the cost of begging in Great Tits (Parus major). Behavioral Ecology 14: 457-462.

Ottosson U., J. Bäckman y H. G. Smith (1997). Begging affects parental effort in the Pied Flycatcher, Ficedula hypoleuca. Behavioral Ecology and Sociobiology 41: 381-384.

Parker G. A. y M. R. Macnair (1978). Models of parent-offspring conflict. I. Monogamy. Animal Behaviour 26: 97-110.

Porkert J. y M. Špinka (2006). Begging in Common Redstart Nestlings: Scramble Competition or Signalling of Need? Ethology 112: 398-410.

Price K. (1996). Begging as competition for food in Yellow-headed Blackbirds. Auk 113: 963-967.

Price K., H. Harvey y R. Ydenberg (1996). Begging tactics of nestling yellow-headed blackbirds, Xanthocephalus xanthocephalus, in relation to need. Animal Behaviour 5: 421-435.

R Development Core Team. 2008. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Viena, Austria ISBN 3-900051-07-0, URL http://www.R-project.org/.

Redondo T. (1993). Exploitation of host mechanisms for parental care by avian brood parasites. Etología. 3: 235-297.

Redondo T. y F. Castro (1992). Signalling of nutritional need by magpie nestlings. Ethology 92: 193-204.

Rivers J. W. (2007). Nest mate size, but not short-term need, influences begging behavior of a generalist brood parasite. Behavioral Ecology 18: 222-230.

Rodríguez-Gironés M. A., J. M. Zúñiga y T. Redondo (2002). Feeding experience and relative size modify the begging strategies of nestlings. Behavioral Ecology 13: 782-785.

Schulte-Hostedde A. I., B. Zinner, J. S. Millar y G. J. Hickling (2005). Restitution of mass–size residuals: validating body condition indices. Ecology 86: 155-163.

Smith H. G. y R. Montgomerie (1991). Nestling American Robins compete with siblings by begging. Behavioral Ecology and Sociobiology 29, 307–312.

Soler M., Martinez J. G., Soler J. J. y Möller A. P. (1995). Preferential allocation of food by magpies Pica pica to Great Spotted Cuckoo Clamator glandarius chicks. Behavioral Ecology and Sociobiology 37: 7-13.

StatSoft, Inc. 2001. STATISTICA (data analysis software system), version 6. www.statsoft.com.

Stearns S.C. (1992). The evolution of life histories. Oxford University Press, Oxford.

Teather K. L. (1992). An experimental study of competition for food between male and female nestlings of the Red-winged Blackbird. Behavioral Ecology and Sociobiology 31: 81-87.

Teather K. L. y P. J. Weatherhead (1988). Sex-Specific Energy Requirements of Great-tailed Grackle (Quiscalus mexicanus) Nestlings. Journal of Animal Ecology 57: 659-668.

Trivers R. L. (1974). Parent-offspring conflict. American Zoologist 14: 249-264.

Tuero D. T. (2004). Impacto del parasitismo de cría del Tordo Renegrido (Molothrus bonariensis) sobre el éxito reproductivo de un hospedador de pequeño tamaño, la Ratona Común (Troglodytes aedon). Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.

Tuero D. T., V. D. Fiorini y J. C. Reboreda (2007). Effects of Shiny Cowbird parasitism on different components of house wren reproductive success. Ibis 149: 521-529.

Weatherhead P. J. (1989). Sex ratios host-specific reproductive success and impact of brown-headed cowbirds. Auk 106: 358-366.

Whittingham L. A., P. O. Dunn y E. D. Clotfelter (2003). Parental allocation of food to nestling tree swallows: the influence of nestling behaviour, sex and paternity. Animal Behaviour 65: 1203-1210.

Capítulo 6

Plasticidad del comportamiento de picadura de huevos

6.1 Introducción

Las especies parásitas de cría han desarrollado varias especializaciones asociadas a la vida parásita (Krüger 2007). Una de ellas es la destrucción de huevos del hospedador (Davies y Brooke 1988, Sealy 1992, Peer 2006). Este comportamiento varía dependiendo de la especie parásita. En el caso de los cuclillos (i.e. Cuculus canorus), las hembras usualmente remueven e ingieren uno de los huevos del hospedador (Davies y Brooke 1988). En forma semejante, en el Tordo Cabeza Marrón, las hembras toman el huevo del hospedador con su pico y lo sacan del nido (Hann 1941). A diferencia de las especies mencionadas, las hembras de Tordo Renegrido pican y perforan uno o más huevos del hospedador cuando visitan su nido (Hudson 1874, Hoy y Ottow 1964, Post y Wiley 1977, Fraga 1978, Mermoz y Reboreda 1999, Massoni y Reboreda 2002, Astié y Reboreda 2009, figura 6.1). Estos huevos son posteriormente removidos por alguno de los miembros de la pareja hospedadora como parte del comportamiento de limpieza del nido (Kemal y Rothstein 1988; Rosalyn Gloag, comunicación personal). En todos estos casos el nido termina con un menor número de huevos y por lo tanto con menos pichones del hospedador (Reboreda y col. 2003, Astié y Reboreda 2006, Tuero y col. 2007).

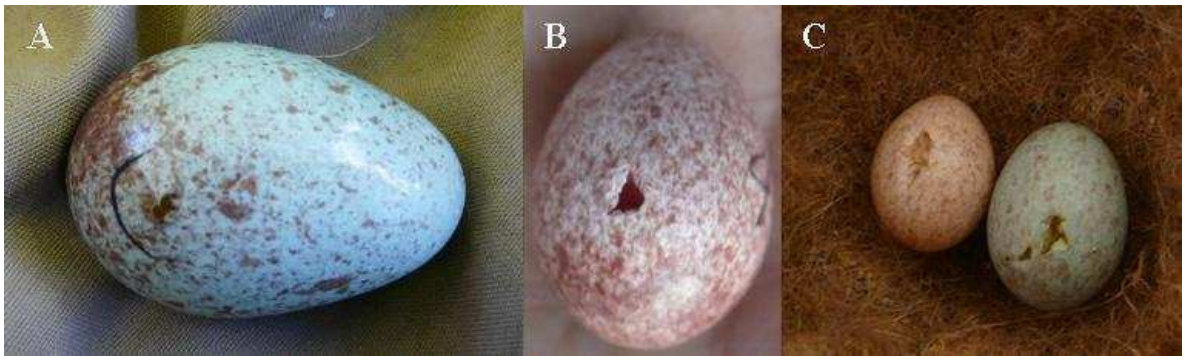

Figura 6.1: Huevos picados por hembras de Tordo Renegrido: A) huevo de calandria, B) huevo de ratona y C) huevo de tordo (el más chico y de color rosado) y calandria. Fotos: Diego T. Tuero.

Se han propuesto distintas hipótesis para explicar los beneficios del comportamiento de destrucción de huevos del hospedador por parte de los tordos (Sealy 1992, Arcese y col. 1996, Massoni y Reboreda 1999, Peer 2006, Hoover y Robinson 2007). Las dos hipótesis más aceptadas son que la remoción o picadura de los huevos del hospedador mejora la eficiencia de incubación del huevo parásito (hipótesis del aumento de la eficiencia de incubación, Peer y Bollinger 1997, 2000) y/o que reduce la competencia por alimento entre el pichón parásito y los pichones del hospedador (hipótesis de la reducción de la competencia, Carter 1986, Mason 1986, Sealy 1992, Astié y Reboreda 2009, Fiorini y col. 2009).

Fiorini y col. (2009) encontraron que este comportamiento es más frecuente cuando el tordo parasita nidos de calandria que cuando parasita nidos de ratona. Por otra parte, mediante un experimento a campo, se determinó que en nidos de calandria la supervivencia del pichón parásito aumentaba al disminuir el número de pichones del hospedador (Fiorini y col. 2009), resultado que apoya la hipótesis de reducción de la competencia. Este efecto no se observó en los nidos de ratona (Fiorini y col. 2009). En este hospedador el pichón parásito podría beneficiarse con la presencia de los pichones del hospedador ya que al haber más pichones en el nido la frecuencia de alimentación por parte de los padres aumenta y el pichón parásito podría monopolizar el acceso al alimento debido a su mayor tamaño corporal. Este efecto beneficioso de la presencia de pichones del hospedador sobre la tasa de crecimiento del pichón parásito fue observado en el Tordo de Cabeza Marrón parasitando a Sayornis phoebe (Kilner y col. 2004). En apoyo a esta hipótesis, Fiorini y col. (2009) encontraron que en nidos de ratona el peso del pichón parásito al momento de dejar el nido estuvo asociado positivamente con el número de pichones del hospedador. Estos resultados sugieren que los beneficios asociados a la destrucción de huevos por parte del parásito pueden variar dependiendo del hospedador que parasita (i.e. resultaría beneficioso eliminar huevos del hospedador cuando los pichones parásitos son peores competidores que los pichones del hospedador pero no cuando son mejores).

Los trabajos que estudiaron el comportamiento de picaduras en el Tordo Renegrido se han centrado en el costo que este comportamiento produce sobre el éxito reproductivo del hospedador (Massoni y Reboreda 1998, Mermoz y Reboreda 1999, Reboreda y col. 2003, Astié y Reboreda 2006), el momento en que ocurren y sobre qué huevo están

focalizadas las picaduras (Mermoz y Reboreda 1999, Astié y Reboreda 2009) o los beneficios de este comportamiento (Massoni y Reboreda 1999, Astié y Reboreda 2009, Fiorini y col. 2009). Estos estudios indican que la mayoría de las picaduras ocurren simultáneamente con el parasitismo y que en aquellos casos en que el nido ya está parasitado (i.e al momento del parasitismo hay huevos del hospedador y del parásito en el nido) afectan preferencialmente a los huevos del hospedador.

Por otra parte, Llambias y col. (2006) analizaron este comportamiento en individuos en condiciones de cautiverio. Este estudio mostró que tanto las hembras como los machos de Tordo Renegrido pican preferencialmente a los huevos del hospedador y no a los del parásito. Sin embargo, en este trabajo sólo se evaluaron las preferencias en una elección entre huevos de un hospedador de mayor tamaño corporal que el parásito y huevos del parásito. Además, los experimentos fueron realizados con huevos artificiales (i.e. de yeso) y no naturales por lo que ciertos aspectos de este comportamiento no pudieron ser analizados (e.g. si siempre las picaduras resultan en la rotura de huevos, cuántas picaduras son necesarias para romper un huevo, si las picaduras continúan luego de la ruptura de los huevos). Por otra parte, no se ha estudiado experimentalmente qué ocurre cuando las hembras de tordo enfrentan una elección entre un huevo de un hospedador de menor tamaño corporal que el parásito y un huevo parásito. Si las hembras de tordo destruyen huevos del hospedador para eliminar competidores por el alimento (hipótesis de la reducción de la competencia) sería esperable que las hembras al momento de parasitar dirijan sus picaduras hacia los huevos más grandes, en este caso los huevos parásitos, eliminando así al competidor más fuerte que podrían enfrentar sus pichones. Tampoco se ha evaluado la flexibilidad de este comportamiento cuando las hembras parásitas utilizan distintos hospedadores. No se ha estudiado tanto en condiciones naturales así como tampoco en condiciones de cautiverio si una misma hembra despliega el mismo comportamiento de picaduras de huevos dependiendo del hospedador que parasita.

Otro factor que debe tenerse en cuenta es la dureza de las cáscaras de los huevos de tordo. Esta especie posee una cáscara más gruesa de lo esperado por el tamaño de su huevo (Hudson 1874, Spaw y Rohwer 1987, Mermoz y Ornelas 2004). Se ha propuesto que esta característica es una adaptación del parásito para evitar el rechazo de los huevos por parte de aquellos hospedadores que deben picar el huevo y perforarlo para poder sacarlo del nido

(Spaw y Rohwer 1987, Picman 1989). Esta hipótesis plantea que el espesor de la cáscara de los huevos parásitos evolucionó debido a una carrera armamentista interespecifica (i.e. hospedador-parásito). Hudson (1874) fue el primero en notar el mayor espesor de la cáscara de los huevos del Tordo Renegrido y planteó que esto podría ser el resultado de competencia intraespecífica (i.e. el mayor espesor de la cáscara de los huevos de Tordo Renegrido sería una adaptación para disminuir la probabilidad de ser perforado por otra hembra parásita). Esto fue posteriormente planteado por Brooker y Brooker (1991) y Mermoz y Reboreda (1999) quienes también sostuvieron que la cáscara más gruesa de los huevos de Tordo Renegrido podría haber evolucionado para evitar picaduras de otras hembras de tordo en aquellos nidos con parasitismo múltiple.

Con independencia de la presión selectiva que originó el mayor espesor de la cáscara de los huevos de tordo, estos huevos podrían resistir mejor los impactos de las picaduras sin romperse. Por lo tanto, la observación de que en nidos con parasitismo múltiple las picaduras afectan preferencialmente a los huevos del hospedador (Mermoz y Reboreda 1999, Astié y Reboreda 2009) podría ser simplemente el resultado del mayor espesor de la cáscara del huevo parásito. Alternativamente, estas diferencias podrían reflejar una preferencia de las tordas por picar huevos del hospedador en lugar de los huevos del parásito, o simplemente una preferencia de las hembras por picar los huevos de mayor tamaño que encuentren en el nido (los hospedadores analizados por Mermoz y Reboreda 1999 y Astié y Reboreda 2009 eran ambos de mayor tamaño corporal que el parásito).

El objetivo de este capítulo es estudiar si el comportamiento de picadura de huevos en las hembras de Tordo Renegrido varía según el tamaño corporal del hospedador que parasitan. Si los pichones de tordo se enfrentan a una mayor competencia interespecífica cuando el hospedador es de mayor tamaño corporal que el parásito pero no cuando es de menor tamaño, sería esperable que las tordas destruyan los huevos del hospedador solo cuando este es de mayor tamaño corporal. Para poner a prueba esta predicción se estudiará el comportamiento de picadura de huevos de las hembras de tordo en experimentos de elección tanto en condiciones naturales como en condiciones de cautiverio. Los experimentos en condiciones naturales consistieron en ensayos de elección entre un huevo del hospedador y un huevo parásito. Este experimento se realizó para evaluar

experimentalmente si los huevos del hospedador son perforados con mayor frecuencia que los huevos parásitos como lo reportado anteriormente en varios estudios observacionales (Pseudoleistes virescens, Mermoz y Reboreda 1999 y Turdus amaurochalinus, Astié y Reboreda 2009). Debido a la baja frecuencia e intensidad de parasitismo en ratona este experimento solo se hizo en nidos de calandria. Por lo tanto, el experimento en cautiverio tuvo como finalidad realizar experimentos de elección entre huevos de calandria-tordo y ratona-tordo para evaluar la preferencia de las hembras de tordo al momento de picar un huevo, y además evaluar si una misma hembra presenta plasticidad en este comportamiento. En tratamientos secuenciales cada hembra experimentará ensayos de elección entre un huevo de un hospedador de mayor tamaño corporal que el parásito (calandria) y un huevo de tordo, y entre un huevo de un hospedador de menor tamaño corporal que el parásito (ratona) y un huevo de tordo. La preferencia será estudiada mediante comparaciones intra tratamiento y la plasticidad mediante comparaciones entre tratamientos. El objetivo secundario de este capítulo es realizar además un análisis detallado del comportamiento de picadura de huevos en las hembras de Tordo Renegrido (i.e., si las picaduras resultan siempre en la rotura de huevos, cuántas picaduras son necesarias para romper un huevo, si las picaduras continúan luego de la ruptura de los huevos, etc.).

6.2 Metodología

6.2.1 Experimentos de picaduras en nidos naturales de calandria

Se evaluó experimentalmente si las picaduras de las hembras de Tordo Renegrido afectan preferencialmente a los huevos del hospedador. Los experimentos se realizaron en nidos naturales de calandria durante las temporadas reproductivas 2008 (n = 32 experimentos) y 2009 (n = 10 experimentos). El experimento consistió en dejar 1 huevo del hospedador y 1 huevo parásito durante el primer día de la puesta (figura 6.2). Si en el primer día de puesta no se produjo un evento de parasitismo natural se agregó un huevo de tordo proveniente de otro nido de calandria. En el caso en que el nido hubiese sido parasitado naturalmente se dejó ese huevo parásito en el nido. Si el huevo del hospedador había sido picado durante esa mañana se lo cambió por otro fresco y sin picaduras. Al día siguiente se registró la presencia de picaduras y la identidad del huevo picado. En este experimento se consideró

que un huevo había sido picado si presentaba una o más perforaciones de su cáscara como las que se pueden observar en la figura 6.1. Solo se tuvieron en cuenta aquellos nidos que presentaban picaduras y además tenían solo un huevo de tordo puesto naturalmente el segundo día del experimento. Por lo tanto, fueron descartados aquellos nidos que en el segundo día del experimento no fueron visitados por hembras de tordo (nidos sin picaduras o huevos de tordo puestos el segundo día del experimento) o presentaron parasitismo múltiple indicando que el nido fue visitado por más de una hembra de tordo. De los 32 experimentos realizados en la temporada 2008 en sólo 7 casos los nidos fueron visitados por una hembra y hubo perforación de huevos, y de los 10 experimentos en la temporada 2009 en sólo 3 casos los nidos fueron visitados por una hembra y hubo perforación de huevos.

Figura 6.2: Nido experimental de calandria con un huevo de tordo (más chico y de color blanco) más un huevo de calandria (huevo de color verde). Foto: Diego T. Tuero.

6.2.2 Experimentos de picaduras en condiciones de cautiverio

Los experimentos realizados en cautiverio se hicieron en un espacio especialmente acondicionado en el sitio de estudio (Reserva El Destino). Entre mediados de octubre y mediados de diciembre de 2010 se capturaron 10 hembras de tordo mediante trampas de tipo walk-in. Las hembras fueron capturadas en el área en que regularmente nidifican calandrias y ratonas (y se monitorean sus nidos). Luego de la captura las hembras fueron transportadas a un cuarto de 4x3x3 m (largo x ancho x alto) con luz natural en el que fueron puestas en jaulas individuales de 120x40x40 cm (largo x ancho x alto, figura 6.3). Las hembras fueron mantenidas en cautiverio por 3-5 días. Durante este periodo tuvieron

comida (alimento balanceado para pollitos y una mezcla de mijo y alpiste) y agua ad-libitum.

Figura 6.3: Jaulas donde se realizaron los experimentos en cautiverio con el sistema de filmación y nido experimental. Foto: Diego T. Tuero.

Se realizó un experimento de elección con dos tratamientos: uno en el que se colocó un nido artificial con un huevo de calandria y uno de tordo (figura 6.4 A), y otro en el que se colocó el nido artificial con un huevo de ratona y uno de tordo (figura 6.4 B). De esta forma, cada hembra recibió 2 tratamientos que sólo diferían en el huevo del hospedador que acompañaba al huevo de tordo. Cada ensayo duró media hora y los ensayos estuvieron separados entre sí por un intervalo interensayo de una hora. La presentación de cada ensayo fue contrabalanceada (i.e la mitad de los sujetos experimentó primero la presentación del nido con los huevos de calandria y tordo y la otra mitad la presentación del nido con los huevos de ratona y tordo). En las jaulas se colocó una microcámara (figura 6.5) conectada a un dispositivo de almacenamiento de datos digitales (Portable Video Recorder, modelo JXD 990) o una filmadora digital SONY Handycam HDD (DCR-SR82). Los videos fueron posteriormente analizados en el laboratorio determinándose las siguientes variables: 1) tiempo transcurrido hasta la primera picadura (latencia), 2) identidad del primer huevo picado, 3) identidad del huevo roto, 4) número de picaduras dirigidas al huevo del hospedador, 5) número de picaduras hasta la perforación del huevo del hospedador, 6)

número de picaduras dirigidas al huevo parásito, 7) número de picaduras hasta la perforación del huevo parásito, 8) tiempo transcurrido hasta la ruptura del primer huevo y hasta la última picadura.

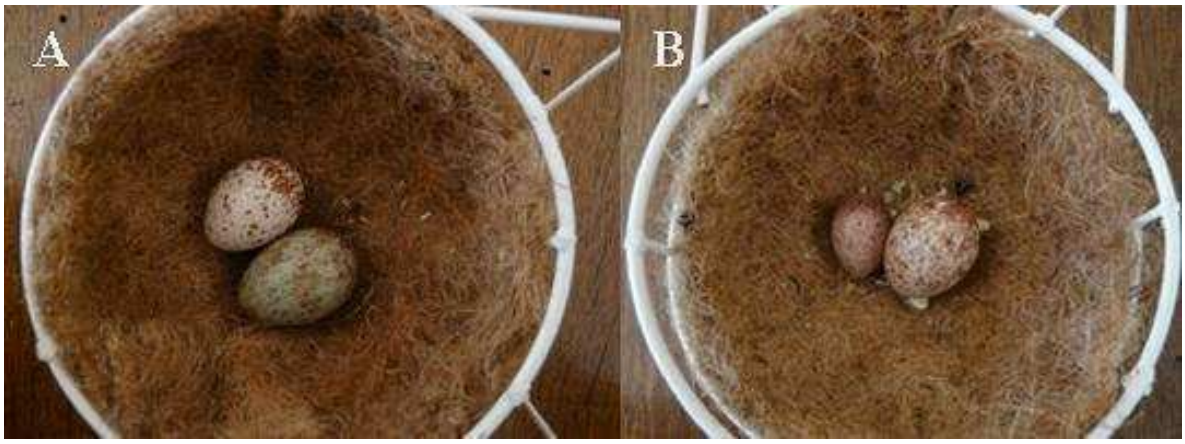

Figura 6.4: A) Nido artificial con 1 huevo de calandria (el más grande y de color verde) y 1 de tordo utilizado para los experimentos de elección en cautiverio. B) Nido artificial con 1 huevo de ratona (el más chico) y 1 de tordo utilizado para los experimentos de elección en cautiverio. Fotos: Diego T. Tuero.

Figura 6.5: Nido artificial con 1 huevo de tordo (el más grande) y 1 de ratona utilizado para los experimentos en cautiverio. Ver la microcámara en la parte superior derecha de la figura. Foto: Diego T. Tuero.

Los huevos utilizados en estos experimentos fueron donados gentilmente por Vanina D. Fiorini y Ros Gloag.

6.2.3 Análisis estadístico

Para analizar si las picaduras afectan preferencialmente a los huevos del hospedador (experimentos de picaduras en nidos naturales de calandria) se utilizó la prueba de Wilcoxon (Siegel y Castellan 1989). Esta prueba también fue utilizada para analizar los resultados de los experimentos de picaduras en cautiverio de las variables: latencia de la primera picadura, tiempo hasta romper el primer huevo, número de picaduras, número de picaduras hasta romper el huevo, identidad del huevo perforado, identidad del primer huevo picado y frecuencia de picaduras. Para los análisis en los que se comparó el número de huevos perforados y la identidad del primer huevo picado entre los tratamientos (calandria-tordo vs. ratona-tordo) se utilizó una prueba de Chi-cuadrado de McNemar. Esta prueba es utilizada para comparar proporciones de muestras dependientes (Agresti 1996). Además se utilizó la corrección de Yates para tamaños muestrales chicos (Siegel y Castellan 1989, Agresti 1996). Esta corrección hace más conservativo el análisis. Para la comparación de la distribución de frecuencia de picaduras a lo largo del ensayo entre los experimentos de elección calandria-tordo y ratona-tordo se utilizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para dos muestras (Siegel y Castellan 1989). Estos análisis fueron realizados con Statview 5.0 (SAS Institute Inc. 1998) y Statistica 6.0 (StatSoft Inc. 2001).

Los valores se reportaron como promedio ± error estándar y se usó un $P < 0.05$ para la significancia estadística en todas las pruebas.

6.3 Resultados

6.3.1 Picaduras en nidos naturales

En 10/10 nidos experimentales de calandria con un huevo de calandria y uno de tordo se observó la perforación de huevos asociada a un evento de parasitismo en el segundo día de puesta. La cantidad de huevos perforados de calandria (10/10) fue mayor que la cantidad de huevos perforados de tordo (0/10; Prueba de Wilcoxon: $Z = -3,16$; $P < 0,01$).

6.3.2 Picaduras en nidos artificiales: evaluación de preferencias

El número de picaduras que recibió el huevo de calandria fue mayor que las que recibió el huevo de tordo (Prueba de Wilcoxon: Z = -2,20; P = 0,02; figura 6.6). Por el contrario, el número de picaduras que recibieron los huevos ratona fue similar a los recibidos por los huevos de tordo (Prueba de Wilcoxon: Z = -0,21; P = 0,83; figura 6.6).

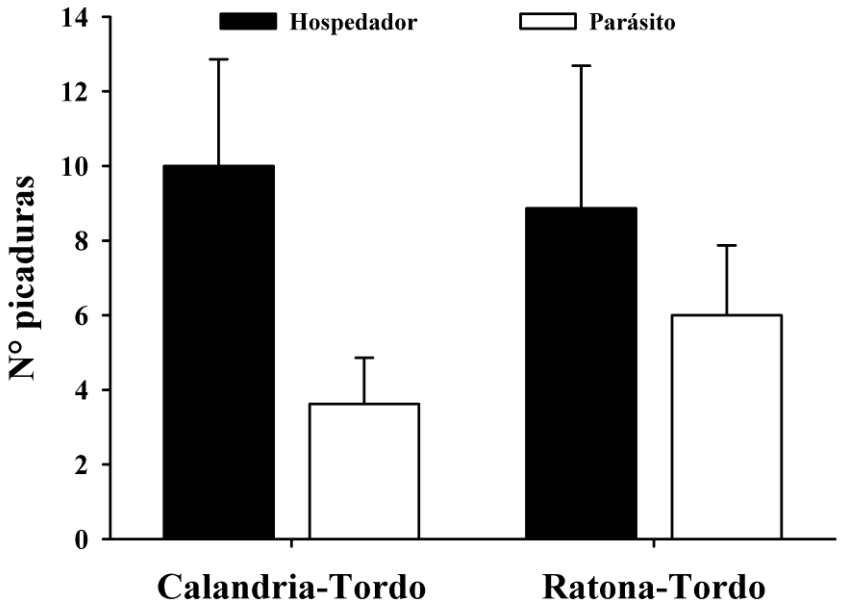

Figura 6.6: Número de picaduras que recibieron los huevos del hospedador y del parásito en los experimentos de elección entre huevos de calandria y tordo y los de ratona y tordo. Las barras negras corresponden al huevo del hospedador mientras que las blancas al huevo parásito. El tamaño muestral fue de 8 ensayos en cada tratamiento.

En los experimentos de elección entre huevos de calandria y tordo, la proporción de ensayos en los que fue perforado el huevo de calandria fue mayor que la proporción de ensayos en los que fue perforado el huevo de tordo (7/8 vs 0/8, Prueba de Wilcoxon: Z = -2,65; P < 0,01). En los experimentos de elección entre huevos de ratona y tordo no se detectaron diferencias entre la proporción de ensayos en los que fue perforado el huevo de ratona y la proporción de ensayos en los que fue perforado el huevo de de tordo (3/8 vs. 1/8, Prueba de Wilcoxon: Z = -1,14; P = 0,15).

En el experimento de elección entre huevos de calandria y tordo las hembras de tordo dirigieron la primera picadura más frecuentemente hacia los huevos de calandria que hacia los de tordo (7/8 vs 1/8, Prueba de Wilcoxon: Z = -2,12; P = 0,03). En cambio, en el experimento de elección entre huevos de ratona y tordo no se observó una preferencia en la

dirección de la primera picadura (ratona 4/8, tordo 4/8, Prueba de Wilcoxon: Z = -0,0001; P = 0,99).

6.3.3 Picaduras en nidos artificiales: evaluación de plasticidad

La latencia (tiempo transcurrido desde el inicio del ensayo hasta la primera picadura) presentó una amplia variación entre hembras, siendo la latencia más corta de 26 seg y la más larga de 19 min. La latencia fue similar en el experimento de elección entre huevos de calandria y tordo que en el de elección entre huevos de ratona y tordo (Prueba de Wilcoxon: Z = -1,18; P = 0,24; figura 6.7 A). Sin embargo, el tiempo transcurrido hasta la perforación del primer huevo fue menor en el experimento de elección entre huevos de calandria y tordo que en el de elección entre huevos de ratona y tordo (Prueba de Wilcoxon: Z = -2,20; P = 0,02; figura 6.7 B).

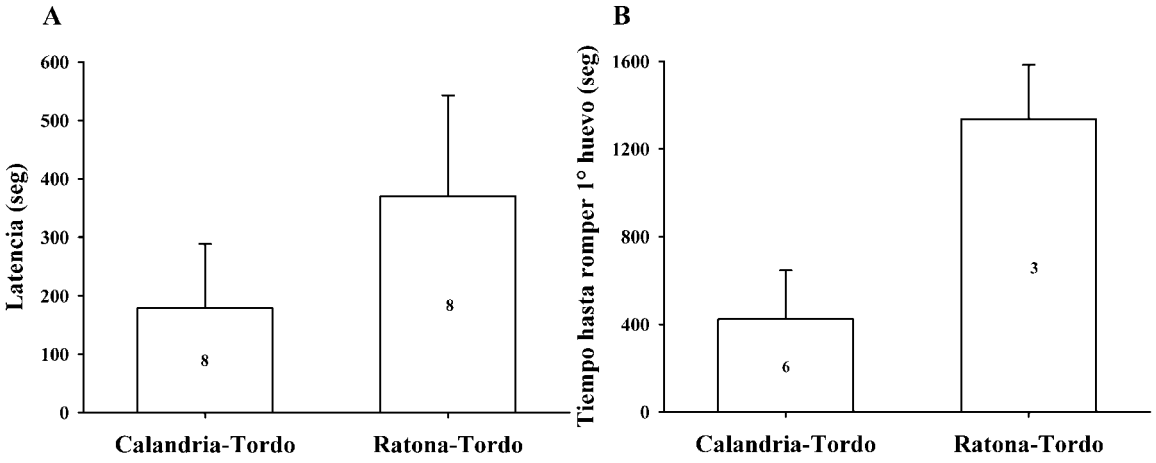

Figura 6.7: A) Latencia (tiempo desde el inicio del ensayo hasta la primer picadura) en los experimentos de elección entre huevos de calandria y tordo y de ratona y tordo). B) Tiempo transcurrido desde el inicio del ensayo hasta la perforación del primer huevo en los experimentos de elección entre huevos de calandria y tordo y ratona y tordo. El número dentro de la barras corresponde al tamaño muestral.

El número de picaduras totales registradas en el experimento de elección entre huevos de calandria y tordo fue similar (13 ± 3 picaduras por huevo) al observado en el experimento de elección entre huevos de ratona y tordo (14 ± 3 picaduras por huevo; Prueba de Wilcoxon: Z = -0,74; P = 0,46). Tampoco fue diferente la cantidad total de huevos perforados entre los tratamientos calandria-tordo (7/8) y ratona-tordo (4/8, Prueba de McNemar: χ^2 = 1,16; P = 0,28). Además, las hembras de tordo dirigieron su primera

picadura hacia el huevo del hospedador con la misma frecuencia en ambos tratamientos (7/8 en calandria-tordo y 4/8 en ratona-tordo; Prueba de McNemar: χ^2 = 1,16; P = 0,28). En promedio, la cantidad de picaduras necesarias para romper huevos de calandria fue similar a la cantidad de picaduras necesarias para romper huevos de ratona (Prueba de Wilcoxon: Z = -0,001; P = 0,99; figura 6.8). En el único caso donde se observó un huevo de tordo roto por picaduras, la cantidad de picaduras que recibió el huevo hasta romperse fue de 7 picaduras.

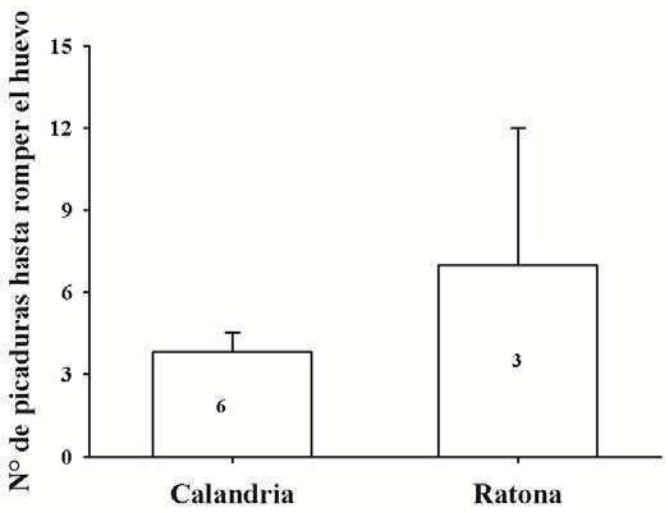

Figura 6.8: Cantidad de picaduras totales hasta provocar la ruptura en huevos de Calandria Grande y de Ratona Común. El número dentro de las barras corresponde al tamaño muestral.

La distribución de las picaduras en el tiempo (picaduras por minuto) fue diferente dependiendo del tratamiento (Prueba de Kolmogorov-Smirnov para dos muestras: χ^2 = 8,06; P = 0,03; figura 6.9 A y B). En el tratamiento calandria-tordo el 82% de las picaduras ocurrieron en los 10 primeros minutos, el 11% entre los 10-20 minutos y el 7% entre los 20-30 minutos (figura 6.9 A). En cambio, en el tratamiento ratona-tordo el 57% de las picaduras ocurrieron en los primeros 10 minutos, el 35% entre los 10-20 minutos y el 8% entre los 20-30 minutos (figura 6.9 B). Por otro lado, el 55% de las picaduras totales ocurrieron antes de la ruptura del huevo tanto en el tratamiento calandria-tordo (figura 6.9 A) como en el tratamiento ratona-tordo (figura 6.9 B). Tampoco se observaron diferencias en la frecuencia de picaduras (picaduras x seg^{-1}) en el período transcurrido entre la primera y la última picadura entre ambos tratamientos (Prueba de Wilcoxon: Z = -0,94; P = 0,34; figura 6.10).

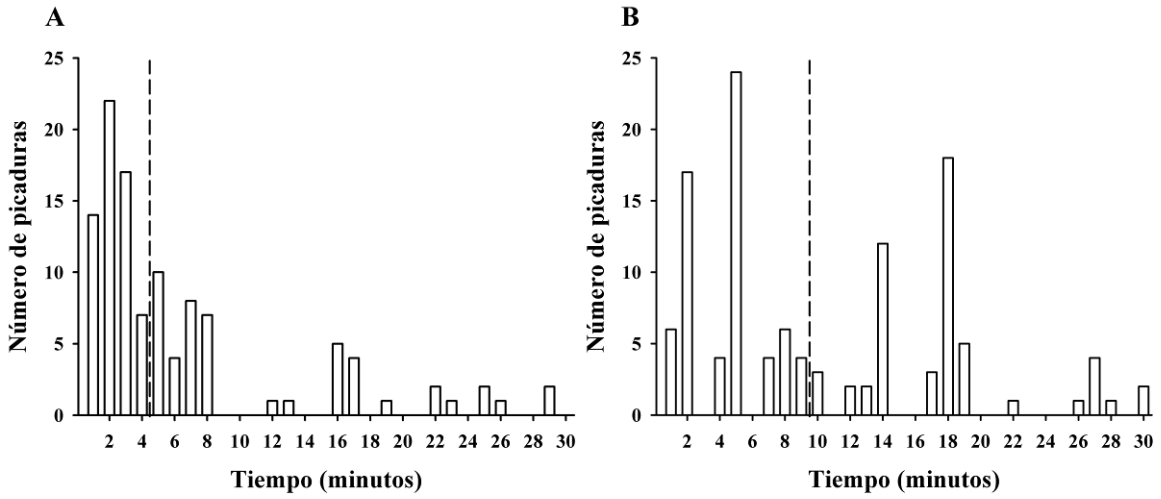

Figura 6.9: Distribución de frecuencias del número de picaduras por unidad de tiempo observadas en los tratamientos calandria-tordo (A) y ratona-tordo (B). La línea punteada corresponde al tiempo promedio hasta la ruptura del primer huevo.

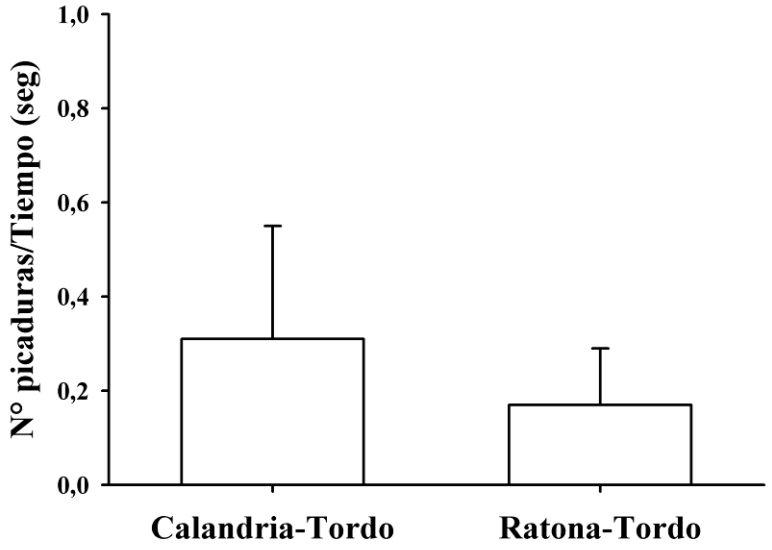

Figura 6.10: Frecuencia de picaduras (picaduras x seg^{-1}) observadas en los experimento de elección entre huevos de calandria y tordo y entre huevos de ratona y tordo. Sólo se tuvo en cuenta el período transcurrido entre la primera y la última picadura. El tamaño muestral fue de 8 ensayos en cada tratamiento.

El número de picaduras realizadas antes y después de la perforación del primer huevo fue similar tanto en el experimento de elección calandria-tordo (Prueba de Wilcoxon: Z = -0,17; P = 0,86; figura 6.11 A) como en el experimento de elección ratona-tordo (Prueba de Wilcoxon: Z = -0,38; P = 0,70; figura 6.11 A). Sin embargo, la frecuencia de

picaduras antes y después de la perforación del huevo difirió según el tratamiento. En el tratamiento calandria-tordo la frecuencia de picaduras fue significativamente mayor antes de la ruptura del primer huevo que después (Prueba de Wilcoxon: Z = -2,20; P = 0,03; figura 6.9 A y 6.11 B) mientras que en el tratamiento ratona-tordo no se observaron diferencias en la frecuencia de picaduras antes y después de la perforación del primer huevo (Prueba de Wilcoxon: Z = -0,53; P = 0,59; figura 6.9 B y 6.11 B).

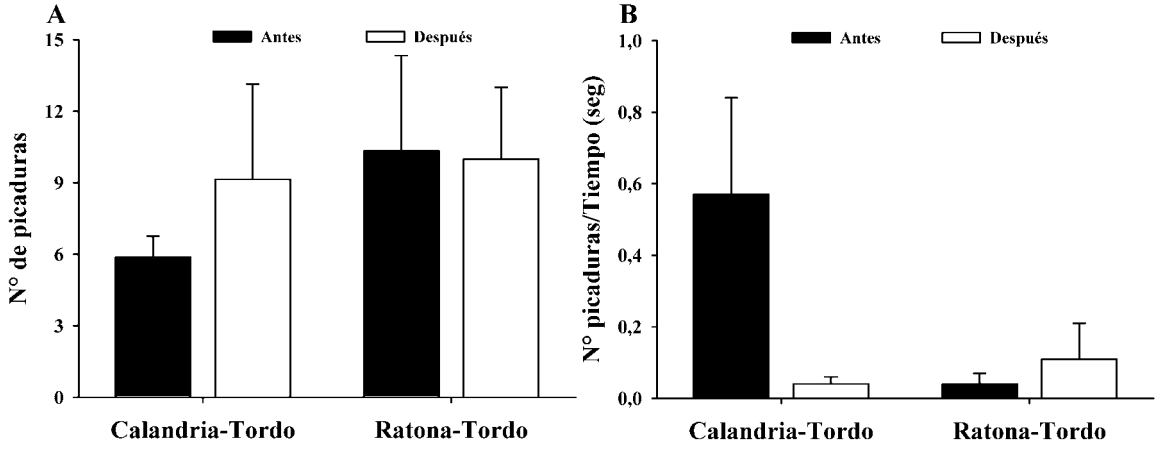

Figura 6.11: A) Número de picaduras totales recibidas por los huevos en los tratamientos calandria-tordo y ratona-tordo. B) Frecuencia de picaduras recibidas por los huevos del hospedador o parásito en los tratamientos calandria-tordo y ratona-tordo. Las barras negras corresponden a las picaduras ocurridas antes de la perforación de alguno de los huevos mientras que las barras blancas a las picaduras ocurridas después de ésta. El tamaño muestral fue de 7 y 3 ensayos donde hubo ruptura de huevos en los tratamientos de calandria-tordo y ratona-tordo respectivamente.

Las picaduras de huevos no siempre estuvieron asociadas a perforaciones. En todos los ensayos (16/16 considerando ambos tratamientos) se observaron picaduras pero sólo en 10/16 se registró la perforación de huevos. La cantidad de picaduras en los ensayos donde no se perforaron huevos fue significativamente menor que en los ensayos donde se perforó algún huevo (Prueba de Wilcoxon: Z = -1,99; P = 0,04; figura 6.12).

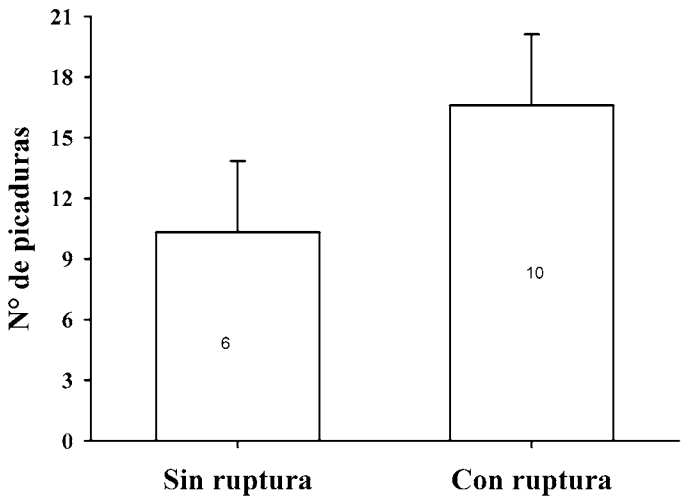

Figura 6.12: Cantidad de picaduras totales en huevos donde no se registró rupturas y en huevos donde sí se registró rupturas. El número dentro de las barras corresponde al tamaño muestral.

6.4 Discusión

Los resultados obtenidos en los nidos naturales muestran que las hembras de tordo perforan preferencialmente los huevos de calandria en una situación de elección entre huevos de calandria y de tordo. Estos resultados son consistentes con resultados correlacionales previos de Mermoz y Reboreda (1999) en Pseudoleistes virescens y Astié y Reboreda (2006) en Turdus amaurochalinus. Los resultados reportados de una mayor proporción de huevos del hospedador perforados pudo deberse tanto a una preferencia de la torda por picar huevos del hospedador como a la mayor resistencia de los huevos parásitos (cáscara más gruesa). Para poder discriminar entre estas dos hipótesis (y además para evaluar la plasticidad de este comportamiento según el tamaño del huevo del hospedador) se decidió realizar un experimento en condiciones de cautiverio registrando otras variables más informativas, como la frecuencia de picaduras sobre cada huevo (hospedador y parásito) y la identidad del primer huevo picado.

Los resultados obtenidos en los experimentos con hembras en cautiverio en el tratamiento calandria-tordo indican que los resultados observados en nidos naturales se deberían a una preferencia de las hembras de tordo por picar huevos del hospedador, ya que en cautiverio las hembras de tordo mostraron una preferencia por picar huevos de calandria (dirigieron su primer picadura y picaron con mayor frecuencia el huevo de calandria).

Los experimentos en cautiverio también mostraron que las hembras de tordo modifican su comportamiento de picadura de huevos dependiendo del tamaño del huevo del hospedador que encuentran en el nido. La distribución de frecuencias de las picaduras difirió entre tratamientos. En el tratamiento calandria-tordo la mayoría (82%) de las picaduras estuvieron concentradas en los 10 primeros minutos. En cambio, en el tratamiento ratona-tordo las picaduras estuvieron más dispersas en el tiempo (57% en los primeros 10 minutos). Además, las hembras tardaron menos tiempo en romper los huevos presentes en el nido en el tratamiento calandria-tordo que en el ratona-tordo. Por otro lado, en los experimentos de elección entre huevos de ratona y tordo ambos huevos recibieron la misma cantidad de picaduras, la cantidad de huevos rotos fue similar y el primer huevo que picaron fue aleatorio. A diferencia de esto, en el experimento de calandria-tordo el huevo de calandria fue picado primero, recibió mayor número de picaduras y tuvo una mayor probabilidad de ser perforado.

Estos resultados indican que el comportamiento de picadura de huevos es flexible y que las hembras ajustan la frecuencia (y eventualmente intensidad) de las picaduras dependiendo de las condiciones que encuentran en el nido. Las tordas picaron y perforaron preferencialmente huevos del hospedador cuando tuvieron una elección entre huevos de calandria y tordo pero no discriminaron cuando la elección fue entre huevos de ratona y tordo.

La destrucción de huevos del hospedador en nidos de calandria es ventajosa ya que reduce el número de pichones del hospedador y por lo tanto la competencia por el alimento, lo cual aumenta la supervivencia del pichón de tordo (Fiorini y col. 2009). En cambio, en los nidos de ratona los pichones de tordo no se enfrentan con este problema ya que su supervivencia no se ve afectada por el número de pichones del hospedador (Forini y col. 2009). En este caso no sería ventajoso para las hembras picar huevos del hospedador porque esto podría aumentar la probabilidad de abandono del nido (Tuero y col. 2007). Además, un mayor número de pichones de ratona es beneficioso para los pichones de tordo debido a que en estas condiciones alcanzan una mayor masa corporal (Fiorini y col. 2009).

Coincidentemente con los beneficios diferenciales de destruir o no huevos del hospedador en hospedadores de mayor o menor tamaño corporal que el parásito, Fiorini y col. (2009) observaron que el número de huevos del hospedador perforados por evento de

parasitismo fue mayor en nidos de calandria que de ratona. Este resultado resultó llamativo ya que por su menor tamaño los huevos de ratona tienen una cáscara más delgada y son por lo tanto más fáciles de perforar. Una posible explicación para este resultado es que las hembras de tordo no pueden moverse libremente dentro del nido de ratona (nido construido en una cavidad) y por lo tanto no pueden picar con facilidad los huevos del hospedador. Los resultados de este experimento indican que, independientemente de las dificultades que pueda tener una torda para picar huevos en nidos de ratona, su comportamiento es diferente del que presenta cuando visita nidos de calandria.

La diferencia en la cantidad de huevos de calandria y de ratona rotos en los tratamientos calandria-tordo y ratona-tordo, respectivamente, no sería explicable por la cantidad de picaduras recibidas (el número de picaduras recibidas hasta la ruptura fue similar). Por lo tanto, es probable que la intensidad (aceleración) con que la torda pica sea mayor cuando pica huevos de calandria que de ratona. En tal sentido, podría ser que el mayor volumen de los huevos de calandria sea un estímulo que induzca a la torda a picar con mayor intensidad.

Por otro lado, la explicación de por qué los huevos de tordo tienen una menor probabilidad de ser perforados puede encontrarse en la dureza de su cáscara. Esta especie posee una cáscara más gruesa de lo esperado por su tamaño (Spaw y Rohwer 1987, Mermoz y Ornelas 2004). Por lo tanto, estas cáscaras podrían resistir el impacto de una picadura y no romperse con tanta facilidad. Se ha propuesto que esta característica es una adaptación del parásito para evitar el rechazo de los huevos por parte de aquellos hospedadores que deben picar el huevo y perforarlo para poder sacarlo del nido (Spaw y Rohwer 1987, Picman 1989). También esta cáscara más gruesa podría haber evolucionado para evitar picaduras de otras hembras de tordo en aquellos nidos con parasitismo múltiple (Brooker y Brooker 1991, Mermoz y Reboreda 1999). Para entender cuál es el rol del espesor de la cáscara del huevo en esta especie son necesarios experimentos que estimen con qué fuerza las hembras de tordo pican los huevos y la resistencia de la cáscara de los huevos parásitos.

6.5 Conclusión

En este capítulo se analizó la preferencia y la plasticidad del comportamiento de picadura de huevos de las hembras de Tordo Renegrido. Los resultados de los experimentos con hembras en cautiverio son consistentes con la hipótesis que las hembras ajustan la frecuencia e intensidad de picaduras dependiendo del tamaño de los huevos del hospedador que parasitan. Esta plasticidad en el comportamiento de picadura de huevos es adaptativa ya que cuando las tordas parasitan a hospedadores de mayor tamaño corporal muestran una preferencia por picar los huevos del hospedador resultando en la eliminación de los competidores más fuertes (pichones de calandria). A su vez, cuando las tordas parasitan a hospedadores de menor tamaño corporal no muestran preferencias en la picadura de huevos resultando en la no eliminación de pichones del hospedador. Estos pichones estimulan el aprovisionamiento de alimento por parte de los padres y este alimento resulta monopolizado por el pichón parásito que de esta forma crece más rápidamente.

Referencias bibliográficas

Agresti A. (1996). Models for matched pairs. En: An introduction to categorical data analysis. Editores: V. Barnett, R.A. Bradley, N.I. Fisher, J.S. Hunter, J.B Kadane, D.G. Kendall, D.W. Scott, A.F.M. Smith, J.L. Teagels & G.S. Watson. Páginas: 226-256. Wiley-Interscience Publications, New York.

Arcese P., J. N. Smith, N. M. James y M. I. Hatch (1996). Nest predation by cowbirds and its consequences for passerine demography. Proceedings of the National Academy of Sciences 93: 4608-4611.

Astié A. A. y J. C. Reboreda (2006). Costs of egg punctures and shiny cowbird parasitism on creamy-bellied thrush reproductive success. Auk 123: 23-32.

Astié, A. A. y J. C. Reboreda (2009). Function of egg punctures by Shiny Cowbird in parasitized and unparasitized Creamy-bellied Thrush nests. Journal of Field Ornithology 80: 336-343.

Brooker M. G. y L.C. Brooker (1991). Eggshell strength in cuckoos and cowbirds. Ibis 133: 406-413.

Carter M. D. (1986). The parasitic behavior of the bronzed cowbird Molothrus aeneus in South Texas USA. Condor 88: 11-25.

Davies N. B. y M. de L. Brooke (1988). Cuckoos versus Reed Warblers: adaptations and counteradaptations. Animal Behaviour 36: 262-284.

Fiorini V. D., D. T. Tuero y J. C. Reboreda (2009). Shiny cowbirds synchronize parasitism with host laying and puncture host eggs according to host characteristics. Animal Behaviour 77: 561-568.

Fraga R. M. (1978). The Rufous-Collared Sparrow as a host of the Shiny Cowbird. Wilson Bulletin 90: 271-284.

Hann H. W. (1941). The cowbird at the nest. Wilson Bulletin 53: 211-221.

Hoover J. P. y S. K. Robinson (2007) Retaliatory mafia behaviour by a parasitic cowbird favors host acceptance of parasitic eggs. Proceedings of the National Academy of Sciences B 104: 4479-4483.

Hoy G. y J. Ottow (1964). Biological and oological studies of the Molothrine Cowbirds (Icteridae) of Argentina. Auk 81: 186-203.

Hudson W. H. (1874). Notes on the procreant instincts of the three species of Molothrus found in Buenos Aires. Proceedings of the Zoological Society of London, XI, 153–174.

Kemal R. E. y S. I. Rothstein (1988). Mechanisms of avian egg recognition: adaptive responses to eggs with broken shells. Animal Behaviour: 36: 175-183.

Kilner R., J. R. Maiden y M. E. Hauber (2004). Brood parasite cowbird nestlings use host young to procure resources. Science 305: 877-879.

Krüger O. (2007). Cuckoos, cowbirds and hosts: adaptations, trade-offs and constraints. Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B 362: 1873-1886.

Llambias P. E., V. Ferretti y J. C. Reboreda (2006). Egg discrimination and sex-specific pecking behaviour in parasitic cowbirds. Ethology 112: 1128-1135.

Mason P. (1986). Brood parasitism in a host generalist, the shiny cowbird: II.Host selection Auk 103: 61-69.

Massoni V. y J. C. Reboreda (1998). Costs of brood parasitism and the lack of defenses on the yellow-winged blackbird - shiny cowbird system. Behavioral Ecology and Sociobiology 42: 273-280.

Massoni V. y J. C. Reboreda (1999). Egg puncture allows Shiny Cowbirds to assess host egg development and suitability for parasitism. Proceedings of the Royal Society of London, Series B 266: 1871-1874.

Massoni V. y J. C. Reboreda (2002). A neglected cost of brood parasitism: Egg punctures by Shiny Cowbirds during inspection of potential host nests. Condor 104: 407-412.

Mermoz M. E. y J. C. Reboreda (1999). Egg-laying behaviour by shiny cowbirds parasitizing brown-and-yellow marshbirds. Animal Behaviour 58: 873-882.

Mermoz M. E. y J. F. Ornelas (2004). Phylogenetic analysis of life history adaptations in parasitic cowbirds. Behavioral Ecology 15: 109-119.

Peer B.D. (2006). Egg destruction and egg removal by avian brood parasites: adaptiveness and consequences. Auk 123:16-22.

Peer B. D. y E. K. Bollinger (1997). Explanations for the infrequent cowbird parasitism on common grackles. Condor 99: 151-161.

Peer B. D. y E. K. Bollinger (2000). Why do female brown-headed cowbirds remove host eggs? A test of the incubation efficiency hypothesis. En:. Ecology and management of cowbirds and their hosts: Studies in the Conservation of North American Passerine Birds. Editores: J.N.M. Smith, T.L. Cook, S.I. Rothstein, S.K. Robinson & S.G. Sealy. Páginas: 187-192. Texas: Smith University of Texas Press.

Picman J. (1989). Mechanism of increased puncture resistance of eggs of brown-headed cowbirds. Auk 106:577-583.

Post W. y J. W. Wiley (1977). Reproductive Interactions of the Shiny Cowbird and the Yellow-Shouldered Blackbird. Condor 79: 176-184.

Reboreda J. C., Mermoz M. E., Massoni V., Astié A. A. y Rabuffetti F. L. (2003). Impacto del parasitismo de cría del tordo renegrido (Molothrus bonariensis) sobre el éxito reproductivo de sus hospedadores. Hornero 18: 77-88.

SAS Institute Inc. (1998). StatView user´s guide 5.0 SAS Institute Inc., Cary, NC.

Sealy S. G. (1992). Removal of yellow warbler eggs in association with cowbird parasitism. Condor 94: 40-54.

Siegel S. y N. J. Castellan (1989). Nonparametric statistics for the behavioral sciences. Segunda edición. McGraw-Hill, Singapur.

Spaw C. D. y S. Rowher (1987). A comparative study of eggshell thickness in cowbird and other passerines. Condor 89: 307-318.

StatSoft, Inc. 2001. STATISTICA (data analysis software system), version 6. www.statsoft.com.

Tuero D. T., V. D. Fiorini y J. C. Reboreda (2007). Effects of shiny cowbird parasitism on different components of house wren reproductive success. Ibis 149: 521-529.

Capítulo 7

Conclusiones generales

La hipótesis general planteada en esta tesis fue que el Tordo Renegrido ajusta su comportamiento parasitario dependiendo del hospedador que utiliza. Los resultados encontrados apoyaron la hipótesis planteada ya que se encontraron diferencias entre hospedadores en el tamaño de huevos puestos por los tordos y sus comportamientos de pedido de alimento y picadura de huevos. El ajuste del comportamiento parasitario a las características del hospedador podría explicarse de dos formas: 1) existen razas hospedador-específicas de hembras de tordo adaptadas a las características del hospedador que utilizan, 2) las hembras de tordo presentan flexibilidad comportamental dependiendo del hospedador que utilizan.

Mahler y col. (2007) encontraron diferencias genéticas (distinta distribución de frecuencias de haplotipos mitocondriales) entre las hembras de tordo que parasitan calandrias y ratonas. Este resultado es una evidencia indirecta de que las hembras serían hospedador-específicas a nivel individual. Esta especificidad sería el resultado de que las hembras aprenderían qué hospedador utilizar como adultas a través de un proceso de "imprinting" con la especie que las cría, resultando en matrilíneas hospedador-específicas (Payne y col. 2000). Sin embargo, el Tordo Renegrido expandió su área de distribución a través del Caribe y Estados Unidos de Norteamérica parasitando especies con las cuales nunca había estado en contacto (Ortega 1998). Esto indica que, de existir un mecanismo de aprendizaje del hospedador, este no sería perfecto y una hembra en ciertas ocasiones podría cometer errores y utilizar hospedadores distintos al que la crió. Estos errores de reconocimiento de hospedadores han sido documentados recientemente en el Tordo Pico Corto, un parásito de cría altamente especializado en el uso de hospedadores (Di Giacomo y col. 2010). Además, en nuestra zona de estudio se observó que las hembras de Tordo Renegrido pasan la noche juntas en dormideros comunales del cual parten antes del amanecer para parasitar a sus hospedadores (Romina Scarmadaglia, comunicación personal). También, se observó que en un alto porcentaje de los eventos de parasitismo en nidos de calandria (>20%) varias hembras de tordo (hasta 4) arriban simultáneamente al

nido (Ros Gloag, comunicación personal). Estas observaciones sugieren que las hembras de tordo podrían seguir a otras hembras a partir del dormidero comunal para encontrar un nido para parasitar. La existencia de aprendizaje social en la búsqueda de hospedadores junto con errores de reconocimiento de los mismos implicaría una cierta labilidad de las matrilineas originadas por “imprinting”.

El tamaño de los huevos de Tordo Renegrido fue mayor en nidos de Calandria Grande que en nidos de Ratona Común. Teniendo en cuenta que el tamaño del huevo es una característica individual (una hembra siempre pone huevos del mismo tamaño, Christians 2002), la diferencia en el tamaño de los huevos de tordo entre nidos de calandria y ratona apoyaría la hipótesis de razas hospedador-específicas que habrían experimentado distintas presiones de selección que resultaron en distintos tamaños de huevos. En los nidos de ratona, donde la competencia por el alimento no es intensa, las hembras de tordo pondrían huevos más chicos disminuyendo su inversión sin afectar la probabilidad de éxito de los pichones. En cambio, en los nidos de calandria donde la competencia por el alimento es mucho más intensa que en nidos de ratona, las hembras de tordo pondrían huevos más grandes, lo que resultaría en pichones más grandes al momento de la eclosión y durante los primeros días de vida y en un aumento de la probabilidad de supervivencia de esos pichones.

Las hembras de tordo no realizaron una inversión materna diferencial de recursos, tanto nutricionales como hormonales (testosterona), en la yema de los huevos puestos en nidos de calandria y de ratona. Tampoco las hembras desviaron la proporción de sexos en función del hospedador utilizado. Una mayor inversión de recursos en yema podría ser beneficiosa para los pichones de tordo que son criados en nidos de un hospedador donde la competencia por el alimento es muy intensa (calandria). Estos recursos podrían aumentar la habilidad competitiva del pichón porque aumentan su tamaño (Williams 1994), tasa de crecimiento (Eising y col. 2001) y la intensidad del comportamiento de pedido de alimento (Eising y Groothuis 2003) y podrían resultar en un mayor éxito reproductivo de las hembras. En forma semejante, sesgar la proporción de sexos hacia el sexo más competitivo (machos) en hospedadores de mayor tamaño corporal podría resultar en un mayor éxito reproductivo de las hembras. A pesar de estas posibles ventajas, en esta tesis no se

detectaron diferencias entre hospedadores en el grado de inversión materna o en la proporción primaria de sexos.

Los pichones de tordo presentaron un comportamiento de pedido de alimento que difirío entre hospedadores. Estas diferencias fueron probablemente el resultado de las diferentes condiciones de competencia dentro del nido experimentadas por los pichones durante su crecimiento y no de diferencias genéticas entre pichones. En tal sentido, los experimentos de translocación de huevos entre hospedadores sugieren que las bases genéticas de este comportamiento son similares entre pichones provenientes de huevos puestos en nidos de calandria y ratona. Además, los resultados obtenidos mostraron que las diferencias en el despliegue del comportamiento de pedido de alimento no son explicables por la edad, sexo o condición del pichón. La intensidad del despliegue de este comportamiento varió dependiendo del nido donde fue criado el pichón de tordo, lo que indica que el comportamiento de pedido de alimento en los pichones de tordo es plástico. Por lo tanto, este comportamiento podría estar fuertemente moldeado por un proceso de aprendizaje del pichón parásito dependiendo del contexto social en el que es criado. Los pichones podrían aprender cuál es la intensidad óptima para la obtención de alimento en los distintos hospedadores. Por otra parte, este resultado indica que de existir razas hospedador-específicas, estas no se habrían diferenciado en este comportamiento.

Por último, los experimentos de picaduras en cautiverio indicaron que las hembras de Tordo Renegrido poseen un comportamiento plástico. Los resultados mostraron que las hembras cambian su comportamiento (i.e. modifican la frecuencia e intensidad de las picaduras) dependiendo de las condiciones que encuentran en el nido. Además las hembras mostraron preferencias ya que las picaduras estuvieron dirigidas mayormente al huevo del hospedador cuando este era el más grande en el nido. Estos resultados son coincidentes con lo observado en nidos naturales en varios hospedadores (Mermoz y Reboreda 1999, Astié y Reboreda 2006, Fiorini y col. 2009). Tanto la plasticidad como la preferencia en el comportamiento de picaduras resultarían en la eliminación de sólo los competidores más fuertes con los cuales se enfrentarían los pichones parásitos en ese nido. Este comportamiento sería beneficioso para los pichones de tordo porque aumentaría su supervivencia tanto en nidos de calandria (menor número de competidores) como en nidos

de ratona (mayor número de pichones del hospedador que procuran alimento para el parásito, Fiorini y col. 2009).

Las diferencias en el tamaño de los huevos de tordo puestos en nidos de calandria y ratona apoyan la hipótesis de adaptaciones hospedador-específicas (razas). Por otra parte, la flexibilidad de los comportamientos de pedido de alimento y de picadura de huevos muestran que existe plasticidad comportamental a nivel individual. Los otros caracteres estudiados, como la concentración de testosterona en yema o la proporción primaria de sexos, no mostraron un ajuste al hospedador utilizado. Por lo tanto los resultados obtenidos son consistentes con la hipótesis de razas de hembras con cierta especialización en el uso de algún o algunos hospedadores pero que al mismo tiempo presentan flexibilidad comportamental a nivel individual.

En este estudio no fue posible analizar la variabilidad del tamaño de huevo de una misma hembra. Esta información es necesaria para cuantificar la variación intra y entre hembras que permitan entender de una manera más clara la inversión maternal de las hembras de Tordo Renegrido dependiendo del hospedador que parasitan. También son necesarios experimentos adicionales de translocación de pichones entre hospedadores para cuantificar los efectos de aprendizaje sobre el comportamiento de pedido de alimento. Por otra parte, los estudios de picaduras de huevos como los presentados en el capítulo 6 con hembras de origen (hospedador) conocido son necesarios para entender las posibles bases genéticas y ambientales de este comportamiento.

Referencias bibliográficas

Astié A. A. y J. C. Reboreda (2006). Costs of egg punctures and shiny cowbird parasitism on creamy-bellied thrush reproductive success. Auk 123: 23-32.

Christians J. K. (2002). Avian egg size: Variation within species and inflexibility within individuals. Biological Reviews 77: 1-26.

Di Giacomo A. G., B. Mahler y J. C. Reboreda (2010). Screaming Cowbird parasitism on nests of Solitary Caciques and Cattle Tyrants. Wilson Journal of Ornithology 122: 795-799.

Eising C. M., C. Eikenaar, H. Schwabl y T. G. G. Groothuis (2001). Maternal androgens in Black-headed Gull (Larus ridibundus) eggs: Consequences for chick development. Proceedings of the Royal Society of London, B 268: 839-846.

Eising C. y T. Groothuis (2003). Yolk androgens and begging behaviour in Black-headed Gull chicks: an experimental field study. Animal Behaviour 66: 1-8.

Fiorini V. D., D. T. Tuero y J. C. Reboreda (2009). Shiny cowbirds synchronize parasitism with host laying and puncture host eggs according to host characteristics. Animal Behaviour 77: 561-568.

Mahler B., V. A. Confalonieri, I. J. Lovette y J. C. Reboreda (2007). Partial host fidelity in nest selection by the shiny cowbird (Molothrus bonariensis), a highly generalist avian brood parasite. Journal of Evolutionary Biology 20: 1918-1923.

Mermoz M. E. y J. C. Reboreda (1999). Egg-laying behaviour by shiny cowbirds parasitizing brown-and-yellow marshbirds. Animal Behaviour 58: 873-882.

Ortega C. (1998). Cowbirds and other brood parasites. Tucson: University of Arizona Press.

Payne R. B., L. L. Payne, J. L. Woods y M. D. Sorenson (2000). Imprinting and the origin of parasite-host species associations in brood-parasitic indigobirds, Vidua chalybeata. Animal Behaviour 59: 69-81.

Williams T. D. (1994). Intraspecific variation in egg size and egg composition in birds: effects on offspring fitness. Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society 68: 35-59.