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

Estudio a nivel individual de las estrategias de parasitismo del tordo renegrido (Molothrus bonariensis)

de la Colina, María Alicia

2013

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:
de la Colina, María Alicia. (2013). Estudio a nivel individual de las estrategias de parasitismo del tordo renegrido (Molothrus bonariensis). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Cita tipo Chicago:
de la Colina, María Alicia. "Estudio a nivel individual de las estrategias de parasitismo del tordo renegrido (Molothrus bonariensis)". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2013.

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

ESTUDIO A NIVEL INDIVIDUAL DE LAS ESTRATEGIAS DE PARASITISMO DEL TORDO RENEGRIDO (*MOLOTHRUS BONARIENSIS*)

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

Lic. María Alicia de la Colina

Directora
Dra. Bettina Mahler

Consejero de estudios
Dr. Juan Carlos Reboreda

Buenos Aires, 2013

ESTUDIO A NIVEL INDIVIDUAL DE LAS ESTRATEGIAS DE PARASITISMO DEL TORDO RENEGRIDO (*MOLOTHRUS BONARIENSIS*)

RESUMEN

El Tordo Renegrido *Molothrus bonariensis* es un ave parásita de cría extremadamente generalista y como consecuencia de la ausencia de un nido propio y su alta movilidad, se conoce muy poco sobre el comportamiento individual de puesta. El objetivo de esta tesis fue estudiar las estrategias individuales del Tordo Renegrido en la elección de nidos para realizar los eventos de parasitismo. A partir del análisis genético con microsatélites de muestras provenientes de huevos y pichones parásitos encontrados en dos de sus hospedadores frecuentes, la Calandria Grande *Mimus saturninus* y la Ratona Común *Troglodytes aedon*, y por medio de la reconstrucción de grupos de hermanos completos, se infirió el comportamiento de puesta individual de 26 hembras *a posteriori*. En particular, se estudió la elección de la especie hospedadora, el patrón temporal de puesta y el patrón espacial de puesta en cuanto al territorio y los nidos utilizados. Además, se estudió el polimorfismo en la coloración de los huevos de las hembras, con el objetivo de poner a prueba la hipótesis planteada para éste y otros parásitos de cría de que las hembras ponen huevos de coloración constante. También se analizó cómo influye el polimorfismo de huevos del Tordo Renegrido en el mecanismo de reconocimiento y rechazo de huevos parásitos en uno de sus principales hospedadores. Se encontró que las hembras de Tordo Renegrido tuvieron un período de puesta que duró hasta 79 días y que utilizaron preferencialmente una especie hospedadora, aunque se observaron hembras utilizando más de una especie. La mayoría de los huevos de cada hembra se encontraron próximos espacialmente, a una distancia máxima de 600 metros, evidenciando fidelidad al sitio de puesta. Además, se encontró que existe una similitud entre los huevos pertenecientes a una misma hembra tanto en la coloración como en el tamaño, lo cual apoya la hipótesis de constancia en la morfología de los huevos. Por último, se encontró que la probabilidad de rechazo del huevo parásito por parte de la Calandria Grande disminuye con la presencia de manchas y aumenta con altos niveles de brillo, y que el rechazo de un huevo parásito depende exclusivamente de las características intrínsecas del huevo y no se ve afectado por el contexto de la puesta. Se discute cómo esta defensa imperfecta influye en la evolución de la variabilidad en la coloración de los huevos parásitos y cómo la estrategia individual de selección de nidos afecta el éxito de parasitismo de la especie.

PALABRAS CLAVES: Parasitismo de cría, *Molothrus bonariensis*, microsatélites, estrategia de puesta, polimorfismo de huevos, defensas antiparasitarias.

STUDY OF PARASITISM STRATEGIES AT INDIVIDUAL LEVEL IN THE SHINY COWBIRD (*MOLOTHRUS BONARIENSIS*)

ABSTRACT

The Shiny Cowbird *Molothrus bonariensis* is a brood parasite that parasitizes an extreme range of hosts. As it has no nest of its own and high mobility, little is known about its reproductive behavior at the individual level. The aim of this thesis was to study individual strategies in host nest choice. Using microsatellite analysis of cowbird eggs and chicks found in nests of the two most frequent hosts, the Chalk-browed Mockingbird *Mimus saturninus* and the House Wren *Troglodytes aedon*, and by reconstructing full sibling groups, I inferred the laying behavior of 26 females *a posteriori*. More specifically, I analyzed host species selection and the spatial and temporal patterns of egg laying and host nest use. In addition, I studied the polymorphism in females' egg coloration to test the hypothesis that individual brood parasites lay eggs of constant color. I also studied how this polymorphism affects egg recognition and rejection in one of the major hosts. I found that shiny cowbird females had a laying period of up to 79 days and that they preferentially, but not exclusively, used only one host species. The majority of a female's eggs were found within a maximum distance of 600 meters from each other, showing nest site fidelity. Eggs of the same female were similar in color and size, supporting the hypothesis of constancy in egg morphology per female. Lastly, I found that the probability of egg rejection by mockingbirds decreased with the presence of spots and increased with high levels of brightness. Moreover, the rejection of a parasitic egg depends only on the egg's intrinsic characters and is not context-dependent. I discuss how this imperfect defense affects the evolution of variability of cowbird egg coloration and how the parasite's individual nest choice strategy affects the success of parasitism in this species.

KEYWORDS: Brood parasitism, *Molothrus bonariensis*, microsatellites, laying strategy, egg polymorphism, anti-parasitic defense.

AGRADECIMIENTOS

¡Gracias Be! ¡Por aceptarme como tu primera doctoranda! Por tu infinita paciencia, por guiarme, asesorarme y sobre todo por acompañarme siempre ¡incluso en el campo! ¡Qué lujo! Y gracias a tu familia! ¿O disculpas quizás? Por absorberte tanto a veces. Sobre todo Be, gracias por tu sonrisa, por tu motivación permanente, por tu increíble actitud, tu honestidad y tu buena onda!!
¡Gracias Juan por recibirme en el laboratorio! Por tu generosidad, paciencia y por darme la oportunidad de seguir investigando.
Gracias a la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires, no sólo por permitir que me forme académicamente de manera totalmente gratuita sino también por brindarme un espacio de trabajo que me encanta. Gracias al CONICET por brindarme el sustento económico durante el desarrollo de mi doctorado.
Gracias a toda la familia de la Reserva El Destino: Jorge, Ale, Lucas y Matías, Claudia, Cacho! A todos los Díaz. Colita, Cima y Mecha, mis fieles compañeros de campaña. Gracias a todos por su calidez, por los "rescates", por las anécdotas y los mates… Gracias a la Fundación Elsa Shaw de Pearson y a Juan Shaw, por permitirme trabajar en la estancia.
A todos mis compañeros de trabajo: Gracias Ceci, Flor, Romi, Diego, Sol, Lucho, Nati, Vani, Cyn, Caro, Manu, Kini y Adrián. Gracias por toda la ayuda, por las sobremesas, las cosas ricas, por la paciencia, por la comprensión. Gracias a los vecinos de labo!! Que hacen increíblemente ameno cualquier cruce de pasillo…Gracias a los Tubaro-Team! Pili, Ana, Lucho, Leo, Darío… los congresos no son lo mismo sin uds! Gracias Laise por tu ayuda.
¡Gracias Lore! Conversar con vos siempre es un placer, ¡es tan enriquecedor! ¡Gracias por tu paciencia! Y sobre todo gracias por confiar en mis ideas.
¡Thanks Ros! Qué maravilloso conocerte y compartir con vos tan lindos veranos. Fue un placer tenerte como compañera de campaña y sin duda sos uno de los tesoros más preciados que me dio el doctorado. See you soon my dear friend!
¡¡Gracias Amos y Nissi!! Siempre motivando y apoyando incondicionalmente… son increíbles!! Gracias Mari!! Germán!! Siempre presentes a la distancia…
¡¡Gracias "Súperchicas"!! uds sí que son súperamigas… gracias por bancarme las campañas y entender mis ausencias!! Gracias por estar siempre.
Gracias a mis amigos del club! Ba! de toda la vida! Desde hace tanto me escuchaban fantasear con esta locura…gracias por nunca reclamar ausencias! Gracias por ese trato afectuoso y cotidiano como si nos viéramos todos los fines de semana.
¡Gracias Familia! ¿Cuánto podría hacer uno realmente sin ellos? A los "de la Co", los Furiolo, Menardi… Gracias por bancarme tantos faltazos y corridas. Gracias por la paciencia y por el interés que siempre tienen en entender de qué se trata todo esto. ¡Gracias Primas! Qué lindo tenerlas cerca!! Gracias Luqui por musicalizarme todo el proceso de escritura de la tesis. Gracias Maestro Piazzolla.
¡Gracias Omi! Me hubiera encantado que veas este trabajo terminado. Gracias por colaborar con todo el material para los experimentos… te hiciste como 300 huevitos de yeso!!! Gracias por tu interés, gracias por tus ricas tortas que disfrutamos todos en el labo, gracias por haber estado siempre Omi, cómo te extraño!! Y al Tío!! Gracias por inspirarme… no pasa un día sin que los piense…
Gracias Fer por tu apoyo incondicional, por compartir mis pasiones, por tu paciencia. Gracias por tu compañía y ayuda… sos un ayudante de campo de primera! Gracias por las coberturas fotográficas, por los financiamientos de tantas cosillas científicas. Gracias por motivarme a cumplir esta meta. Esto fue un trabajo de equipo, y sin duda vos fuiste uno de los miembros fundamentales! Gracias totales!!
Y Gracias Luchón! gracias por tu sonrisa… mi solcito… gracias por existir!

A mis dos amores: Fernando y Luciano

INDICE

CAPÍTULO 1
INTRODUCCIÓN AL PARASITISMO DE CRÍA INTERESPECÍFICO EN AVES 1

EL PARASITISMO DE CRÍA COMO ESTRATEGIA REPRODUCTIVA 1
EFECTOS DEL PARASITISMO EN LOS HOSPEDADORES 2
EL PARASITISMO DE CRÍA COMO PROCESO CO-EVOLUTIVO: DEFENSAS Y CONTRA-DEFENSAS, UNA CARRERA ARMAMENTISTA.....3
EL TORDO RENEGRIDO COMO MODELO DE ESTUDIO 4
OBJETIVOS 7
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 8

CAPÍTULO 2
PROCEDIMIENTO GENERAL PARA LA OBTENCIÓN DE DATOS A CAMPO 14

ÁREA DE ESTUDIO 14
HOSPEDADORES 14
Calandria Grande 15
Ratona Común 16
RECOLECCIÓN DE HUEVOS 18
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....19

CAPÍTULO 3
PROCEDIMIENTO GENERAL PARA LA OBTENCIÓN DE DATOS EN EL LABORATORIO 21

Extracción y amplificación de ADN.....21
Genotipado.....22
Cálculo de los parámetros poblacionales.....22
Análisis de parentesco 22

CAPÍTULO 4
RESULTADOS GENERALES DE LOS DATOS OBTENIDOS A CAMPO Y EN EL LABORATORIO 26

RECOLECCIÓN DE HUEVOS DE TORDO RENEGRIDO.....26
ANÁLISIS GENÉTICOS.....27
Cálculo de los parámetros poblacionales.....28
Análisis de parentesco 29

CAPÍTULO 5
ESTUDIO DE LA ESTRATEGIA DE USO DE NIDOS DE HOSPEDADORES POR LAS HEMBRAS DE TORDO RENEGRIDO 30

INTRODUCCIÓN 30
MÉTODOS 33
RESULTADOS.....34
DISCUSIÓN 36
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 41

CAPÍTULO 6
ESTUDIO DE LA CONSTANCIA A NIVEL INDIVIDUAL EN LOS PATRONES DE COLORACIÓN DE LOS HUEVOS DE TORDO RENEGRIDO.....45

INTRODUCCIÓN 45
MÉTODOS 46
Análisis espectrofotométrico 47
Análisis de las imágenes fotográficas 47
Análisis estadísticos 48
RESULTADOS 49
DISCUSIÓN 53
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 55

CAPÍTULO 7
ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DEL POLIMORFISMO DEL HUEVO PARÁSITO EN EL COMPORTAMIENTO DE RECONOCIMIENTO Y RECHAZO DE UN HOSPEDADOR CON RECHAZO PARCIAL, LA CALANDRIA GRANDE 59

INTRODUCCIÓN 59
Evaluación de los atributos relevantes utilizados por la calandria para aceptar/rechazar un huevo parásito 60
Influencia del grado de polimorfismo de los huevos presentes en el nido de calandria sobre su decisión de rechazar/aceptar un huevo parásito. 61
MÉTODOS 63
Experimento 1 63
Diseño de los huevos experimentales 63
Diseño experimental 65
Análisis estadísticos 66
Experimento 2 67
Diseño de los huevos experimentales 67
Diseño experimental 67
Análisis estadísticos 68
RESULTADOS 69
Experimento 1 69
Experimento 2 71
DISCUSIÓN 72
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 74

CAPÍTULO 8
DISCUSIÓN GENERAL 80

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 84

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN AL PARASITISMO DE CRÍA INTERESPECÍFICO EN AVES

EL PARASITISMO DE CRÍA COMO ESTRATEGIA REPRODUCTIVA

El parasitismo de cría interespecífico en aves es una estrategia reproductiva en la que un individuo, el parásito, deposita sus huevos en el nido de un individuo de otra especie, el hospedador. Éste se encarga de la incubación de los huevos y de la alimentación de los pichones. Para la especie parásita, el parasitismo es una estrategia reproductiva obligada, ya que perdió su capacidad de reproducirse en forma independiente y depende completamente de su hospedador para completar su ciclo reproductivo (Ortega 1998, Davies 2000); las hembras parásitas de cría obligada no poseen la habilidad de construir nidos y de incubar huevos, ni tampoco pueden alimentar a sus pichones (Sealy y col. 2002). Esta estrategia reproductiva poco común está presente en alrededor de 90 especies (Sorenson y Payne 2002), que equivale a aproximadamente al 1% de las especies de aves (Davies 2000), y se cree que evolucionó de manera independiente al menos siete veces (revisión en Sorenson y Payne 2002). Estos eventos ocurrieron en dos subfamilias de cuclillos (Cuculinae y Neomorphinae), en los pinzones parásitos africanos (*Anomalospiza imberbis* y los viduas dentro de la familia Estrildidae), en los "indicadores de miel" (Indicatoridae), en los tordos (Icterinae) (Payne 1977, Rothstein 1990) y en el pato *Heteronetta atricapilla* (Anatidae) (Rothstein y Robinson 1998).

El éxito de esta peculiar estrategia de reproducción se basa principalmente en la habilidad de los parásitos en seleccionar un nido hospedador. Comenzando por la detección del nido, donde los parásitos generalmente utilizan claves comportamentales de los hospedadores para ubicar el nido candidato (Norman y Robertson 1975, Smith y col. 1984, Grieef y Sealy 2000, Fiorini y col. 2006), aunque también hay evidencias de que pueden hallarlos sin la presencia de la pareja reproductora (Svagelj y col. 2003). Luego, algunas especies monitorean el nido de modo de sincronizar el evento de parasitismo con la puesta del hospedador, disminuyendo de esta manera la probabilidad de abandono del nido o de rechazo de los huevos (Briskie y Sealy 1987, Hill y Sealy 1994, Fraga 1998, Fiorini y col. 2009). Además, la hembra parásita pone su huevo en apenas unos pocos segundos (Arias de Reyna y col. 1982, Sealy y col. 1995, Gloag y col. 2012) minimizando la probabilidad de ser detectada por los hospedadores y aumentando las chances de que su huevo sea aceptado en el nido (Sealy y col. 1995, Mosksnes y col. 2000). Comportamientos como la picadura de los huevos presentes en el nido durante la puesta o la remoción de un huevo antes de depositar el propio aumentarían el éxito del

parasitismo (Davies y Brooke1988, Massoni y Reboreda 1999). Asimismo, existen especies parásitas que al nacer eliminan los huevos y pichones del hospedador (Wyllie 1981).

Esta estrategia reproductiva también se encuentra favorecida por algunas características morfológicas y fisiológicas de los parásitos de cría. En general, los huevos de las especies parásitas tienen cáscaras más fuertes de lo esperado para su tamaño (Sealy y col. 2002). Además, en muchos casos presentan una mayor esfericidad, lo que los hace más difíciles de perforar y eliminar por los hospedadores (Rohwer y Spaw 1988, Picman 1989, Soler 1990). Por último, suelen ser más pequeños que los de su hospedador y poseen un período de incubación más corto (Payne 1974, Briskie y Sealy 1990, Soler 1990, pero ver Mermoz y Ornelas 2004). En muchos casos, los pichones parásitos presentan una superioridad competitiva (Wiley 1986, Marvil y Cruz 1989, Soler y Soler 1991, Kattan 1996, Lichtenstein y Sealy 1998) que puede conducir a la mortalidad de sus compañeros de nido (Kilner 2005).

Los parásitos de cría obligados pueden clasificarse en generalistas, si utilizan varias especies hospedadoras, o especialistas, si parasitan una única o muy pocas especies. Las especies parásitas generalistas pueden desarrollar dos estrategias diferentes a nivel individual: pueden ser especialistas, con cada hembra parasitando consistentemente una especie hospedadora particular, o generalistas, con cada hembra parasitando varias especies hospedadoras durante su vida. En el primer caso, las hembras pueden formar linajes hospedador-específicos, con grupos de hembras especializadas en el uso de los nidos de una especie hospedadora (Avilés y Møller 2004, Brooke y Davies 1988, Starling y col. 2006, Gibbs y col. 2000). Se propusieron varias hipótesis para explicar cómo las hembras parásitas encuentran un hospedador específico: a) Por un proceso de "*imprinting*" con la especie hospedadora (Brooke y Davies 1991; Payne y col. 1998, 2000; Slagsvold y Hansen 2001), donde de pichones las hembras aprenden alguna característica de sus padres adoptivos antes de dejar el nido y luego, una vez maduras, parasitan individuos de la misma especie; b) por filopatría natal (Brooke y Davies 1991), donde las hembras regresan al área donde nacieron y utilizan las especies hospedadoras presentes en el lugar; c) por elección del sitio de nidificación de los hospedadores (Moksnes y Røskaft 1995), donde las hembras eligen un grupo de hospedadores con huevos y nidos similares, y buscan nidos al azar dentro de este grupo; y d) por un proceso de "*imprinting*" con el hábitat donde nacen (Teuschl y col. 1998, Vogl y col. 2002), donde las hembras buscan sitios con características similares al momento de parasitar.

EFECTOS DEL PARASITISMO EN LOS HOSPEDADORES

En mayor o menor medida, el parasitismo de cría tiene consecuencias negativas para el éxito reproductivo del hospedador. Generalmente las hembras parásitas pican o remueven uno o

más huevos del hospedador antes o durante la puesta de su propio huevo (Friedmann 1929, Moksnes y Røskaft 1989, Soler y col. 1996, Peer 2006) y, en algunos casos, también pueden destruir la puesta completa del hospedador (Soler y col. 1995, Arcese y col. 1996, Hoover y Robinson 2007).

El éxito de eclosión de los huevos del hospedador puede sufrir efectos negativos con la presencia de uno o más huevos parásitos, ya que se modifica la eficiencia de incubación, ya sea por el volumen aumentado de la puesta (Tuero y col. 2007) o por la interrupción de la incubación por el nacimiento temprano del parásito (Soler y col. 1996).

Por otro lado, los pichones parásitos pueden provocar la mortandad de los pichones del hospedador indirectamente cuando su mayor tamaño corporal o la asincronía en el nacimiento llevan a la exclusión competitiva de los pichones del hospedador (por ej. Soler y col. 1997, Hoover 2003). Dos casos extremos son los del Cuclillo Común *Cuculus canorus*, que al nacer empuja fuera del nido los huevos del hospedador (Wyllie 1981, Davies 2000) y el del Crespín *Tapera naevia*, que posee un gancho en el pico con el que mata a los pichones del hospedador (Kilner 2005).

Los costos del parasitismo pueden extenderse más allá del ciclo de nidificación si criar al pichón parásito reduce las expectativas de supervivencia y reproducción futura de los padres adoptivos (Davies 2000, Hoover y Reetz 2006).

EL PARASITISMO DE CRÍA COMO PROCESO CO-EVOLUTIVO: DEFENSAS Y CONTRA-DEFENSAS, UNA CARRERA ARMAMENTISTA

Los hospedadores pueden desarrollar defensas antiparasitarias efectivas para reducir el impacto negativo del parasitismo. La presión de selección que genera el parasitismo de cría ha favorecido la aparición de comportamientos o estrategias en los hospedadores que pueden reducir la eficacia de los parásitos (Davies 2000), y estas defensas son, a su vez, una importante fuerza de selección que resulta en la evolución de contra-defensas en los parásitos para contrarrestarlas. De este modo, entre el parásito y el hospedador se establece una carrera co-evolutiva, donde a cada paso evolutivo de uno responde el otro, similar a una carrera de armamentos (Dawkins y Krebs 1979, Davies y col. 1989, Davies y Brooke 1989, Rothstein y Robinson 1998, Davies 2000). Es por esto que los sistemas hospedador-parásitos han sido utilizados como modelos para el estudio de procesos co-evolutivos (Rothstein 1990).

La mejor defensa para los hospedadores sería impedir que las hembras parásitas accedan a su nido, reconociendo y agrediendo a las hembras parásitas (Sealy y col. 1998). Sin embargo, son pocos los ejemplos de que esta estrategia sea realmente efectiva para evitar el parasitismo (Mermoz y Fernández 1999). Además, las hembras de algunas especies parásitas tienen

estrategias para eludir esta defensa del hospedador, visitando los nidos cuando están desatendidos y poniendo sus huevos muy rápidamente (Sealy y col. 1995, Davies y Brooke 1998).

Aunque algunos hospedadores reconocen y rechazan a los pichones parásitos (Sato y col. 2010, Tokue y Ueda 2010, Delhey y col. 2011, De Mársico y col. 2012) o abandonan los nidos parasitados iniciando un nuevo intento reproductivo (Petit 1991, Davies 2000, Grzybowski y Pease 2000, Langmore y col. 2003), la estrategia de defensa predominante contra el parasitismo es el rechazo de los huevos parásitos (Rothstein 1990, Davies 2000, 2011, Peer y Sealy 2004, Kilner y Langmore 2011, Grim y col. 2011). Los parásitos que utilizan un único hospedador pueden contrarrestar evolutivamente esta defensa produciendo huevos miméticos en color o tamaño con los del hospedador (Mason y Rothstein 1986, Rothstein 1990). El caso mejor estudiado es el del Cuclillo Común, un parásito generalista a nivel poblacional con hembras especialistas a nivel individual, donde los linajes de hembras hospedador-específicos han adquirido huevos miméticos con los de su hospedador a lo largo de la evolución (Avilés y Møller 2004, Brooke y Davies 1988, Moksnes y Røskaft 1995, Stoddard y Stevens 2010, Antonov y col. 2010).

Si bien el comportamiento de rechazo de huevos parásitos es la defensa más frecuente que los hospedadores tienen contra el parasitismo de cría, este comportamiento implica costos para el hospedador, dado que existe una probabilidad no nula de cometer errores de reconocimiento o dañar los huevos propios durante la remoción del huevo parásito (Davies y Brooke 1989a, Davies y col. 1996). Según la "hipótesis del equilibrio" (Lotem y col. 1995) el balance entre costos y beneficios puede explicar la ausencia del rechazo de huevos o el rechazo parcial en algunos hospedadores regularmente parasitados, aunque también puede deberse a un "retardo evolutivo" donde el hospedador está un paso atrás en la carrera armamentista (Rothstein 1975).

EL TORDO RENEGRIDO COMO MODELO DE ESTUDIO

Uno de los grupos de aves en los que el parasitismo de cría ha evolucionado en forma independiente son los tordos del género *Molothrus* (Icterinae, Emberizidae). Este grupo comprende a cinco especies americanas (Lanyon 1992, Fig. 1.1), de las cuales el Tordo Renegrido *M. bonariensis* es la especie con distribución más amplia (Ortega 1998). Su distribución original incluía buena parte de América del Sur (con la excepción de Patagonia, Chile y la región Amazónica) y a partir de comienzos del siglo XX, esta especie comenzó a

colonizar las islas del Caribe llegando hacia fines de siglo al sur de los Estados Unidos de Norte América (Fig. 1.2b, Ortega 1998).

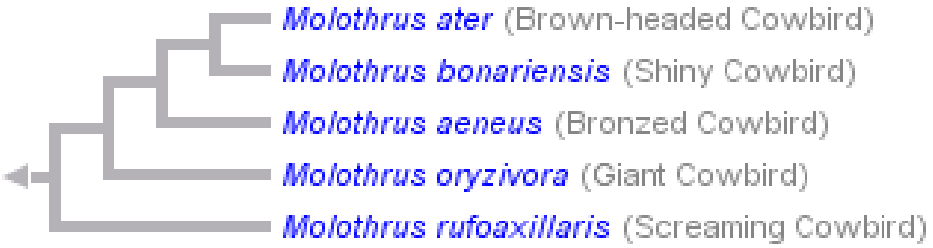

Figura 1.1: Filogenia del grupo Molothrus spp. (Lanyon 1992)

Una de las características más sobresalientes de este grupo es la gran variabilidad entre sus miembros en el uso de hospedadores. Mientras que el Tordo Pico Corto (*M. rufoaxillaris*) y el Tordo Gigante (*M. oryzivora*) son los más especialistas, utilizando tres y siete hospedadores, respectivamente (Ortega 1998, Jaramillo y Burke 1999), el Tordo Bronceado (*M. aeneus*) parasita un número intermedio de especies, con aproximadamente 70 registros. El Tordo Cabeza Marrón (*M. ater*) y el Tordo Renegrido, en cambio, son especies sumamente generalistas. Se han encontrado huevos de Tordo Renegrido en nidos de más de 250 especies (Lowther 2012) y se reportaron al menos 96 de ellas criando con éxito a sus pichones (Friedmann y Kiff 1985, Ortega 1998, Fraga 2002, Lowther 2012). Evidencias indirectas sugieren que a pesar del generalismo extremo a nivel poblacional, las hembras de Tordo Renegrido no depositan sus huevos en nidos al azar, sino que parasitan preferencialmente nidos de determinadas especies a nivel individual (López-Ortiz y col. 2006, Mahler y col. 2007, De Mársico y col. 2010).

El Tordo Renegrido presenta un marcado dimorfismo sexual en tamaño y coloración del plumaje (Ortega 1998). Los machos tienen un peso de 50-55 g (Reboreda y col. 1996) y un plumaje negro con iridiscencia púrpura y azul-verdosa (Ortega 1998, Fig.1.2a) mientras que el peso de las hembras es de 40-45 g (Reboreda y col. 1996) y el plumaje es de color marrón ceniciento (Ortega 1998, Fig. 1.2a). 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). Se alimentan de insectos y semillas que obtienen forrajeando en el suelo (muchas veces en bandadas mixtas con otros ictéridos) o picoteando en el lomo del ganado.

Los tordos parásitos tienen una temporada reproductiva relativamente extensa y variable según la región geográfica (Kattan 1997). En el área de estudio se reproducen desde mediados de septiembre hasta fines de enero (Mason 1986, Fiorini y Reboreda 2006, Tuero y col. 2007).

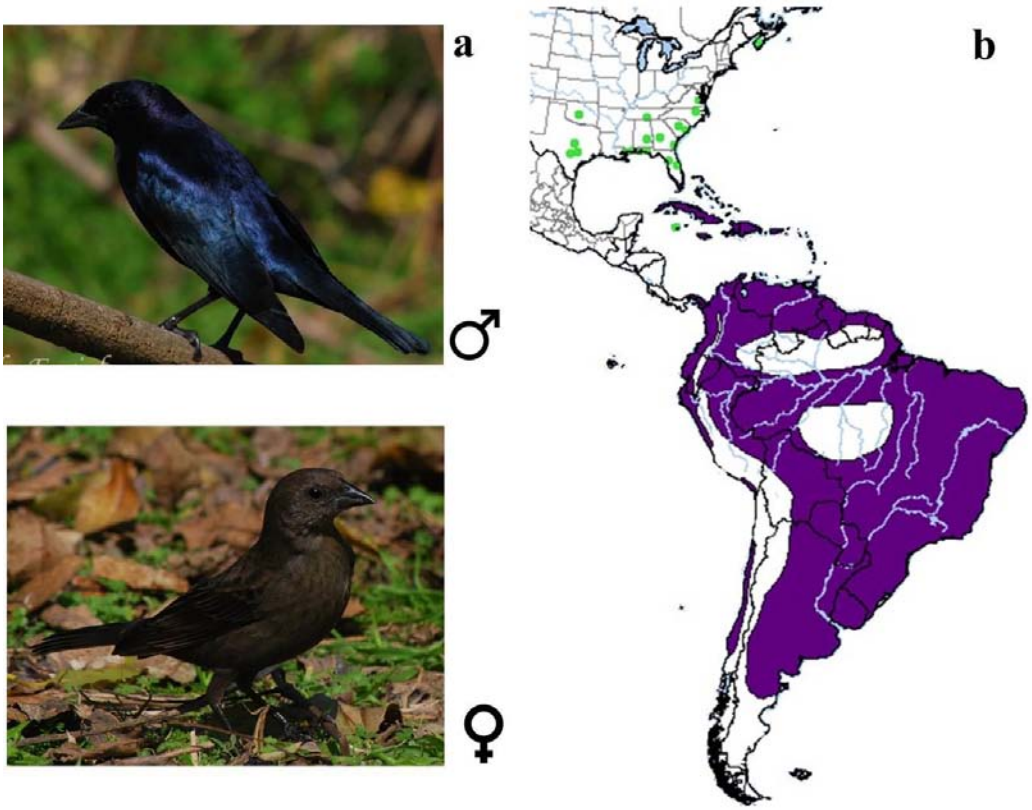

Figura 1.2: a) Macho (arriba) y hembra (abajo) de Tordo Renegrido (Fotos: F. Furiolo). b) Distribución geográfica estimada de la especie en América del Sur (violeta: residente permanente; verde: presencia ocasional. InfoNatura © 2007 NatureServe).

Se ha sugerido que las hembras pueden poner huevos en forma continua durante la mayor parte de la temporada (Kattan 1993). Aunque no hay evidencias directas acerca de la tasa de fecundidad efectiva (número de huevos puestos por temporada reproductiva) existen estimaciones que informan una variación de entre 60 (Hudson 1874, Friedmann y Kiff 1985) y 120 huevos (Kattan 1993) por hembra. La frecuente ocurrencia de parasitismo múltiple en los nidos de los hospedadores principales y las observaciones comportamentales indican que las hembras no defienden territorios (Hudson 1874, Fraga 1985, Kattan 1997, Reboreda y col. 2003, Gloag y col. 2012).

Una característica del Tordo Renegrido es el alto grado de polimorfismo que presentan sus huevos, tanto en el color de fondo como en el patrón de manchas (Fig. 1.3). Varían desde inmaculados (totalmente blancos) hasta manchados, con una densidad, tamaño y distribución de manchas altamente variable, y diversos colores de fondo (Hudson 1874, Friedmann 1929, Ortega 1998, Mahler y col. 2008, de la Colina y col. 2010). Los huevos blancos, que son

rechazados por algunos hospedadores, sólo son frecuentes en las regiones pampeanas de Argentina y Uruguay (Mason 1986, Mahler y col. 2008). El tamaño promedio de los huevos es de 23 mm de largo y de 19 mm de ancho (de la Colina y col. 2010) y su periodo de incubación es de 13 días (Fiorini 2007, Tuero y col. 2007).

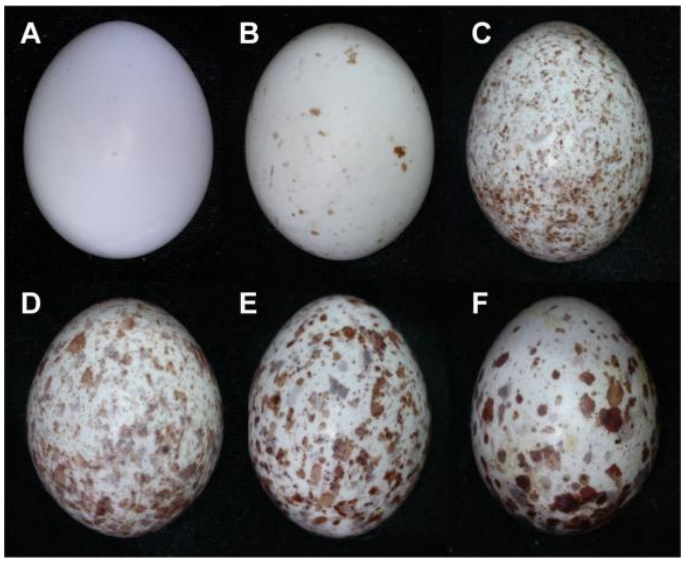

Figura 1.3. Variabilidad de los huevos del Tordo Renegrido. A) Morfo inmaculado, B–D) Morfo manchado, con densidad variable de manchas (fotos de A. de la Colina en Mahler y col. 2008)

La gran diversidad de especies que parasita el Tordo Renegrido y su amplia distribución en constante expansión lo hace particularmente interesante para estudiar las estrategias de selección de hospedadores.

OBJETIVOS

El objetivo general de este proyecto fue estudiar las estrategias individuales del Tordo Renegrido en la elección de nidos para realizar los eventos de parasitismo. En particular, asignando huevos o pichones a las distintas hembras de la población mediante el uso de microsatélites de ADN, se estudiaron:

a) La distribución espacial de nidos utilizados por las hembras de Tordo Renegrido.
b) El rango temporal de puesta y la duración de la temporada reproductiva en la zona de estudio.
c) Las preferencias en la selección de especies hospedadoras.
d) La constancia en el patrón de coloración de los huevos puestos por una misma hembra.

Además, se analizó cómo influye el polimorfismo de los huevos del Tordo Renegrido en el mecanismo de reconocimiento y rechazo en uno de sus principales hospedadores.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Antonov A, BG Stokke, JR Vikan, F Fossøy, PS Ranke, E Røskaft, A Moksnes, AP Møller y JA Shykoff. 2010. Egg phenotype differentiation in sympatric cuckoo *Cuculus canorus* gentes. Journal of Evolutionary Biology 23, no. 6: 1170-1182

Arcese P, JNM Smith y MI Hatch. 1996. Nest predation by cowbirds and its consequences for passerine demography. Proceedings of the National Academy of Sciences-USA 93: 4608-4611.

Arias de Reyna L, y SJ Hidalgo. 1982. An investigation into egg-acceptance by Azure-Winged Magpies and host-recognition by Great Spotted Cuckoo chicks. Animal Behaviour 30: 819-823.

Avilés JM, JJ Soler, M Soler y AP Møller. 2004. Rejection of parasitic eggs in relation to egg appearance in magpies. Animal Behaviour 67, 951–958.

Briskie JV y SG Sealy. 1987. Responses of least flycatchers to experimental inter and intraspecific brood parasitism. Condor 89: 899-901.

Briskie JV y SG Sealy. 1990. Evolution of short incubation periods in the parasitic cowbirds, Molothrus spp. Auk 107: 789–794.

Brooke MdL y NB Davies. 1988. Egg mimicry by cuckoos, *Cuculus canorus*, in relation to discrimination by hosts. Nature 335: 630-632.

Brooke MdL y NB Davies. 1991. A failure to demonstrate host imprinting in the cuckoo (*Cuculus canorus*) and alternative hypotheses for the maintenance of egg mimicry. Ethology 89:154–166.

Cavalcanti RB y TM Pimentel. 1988. Shiny Cowbird parasitism in Central Brazil. Condor 90: 40-43.

Davies NB y L Brooke. 1988. Cuckoos versus Reed Warblers: adaptations and counter adaptations. Animal Behaviour 36: 262-284.

Davies NB, AFG Bourke, MdL Brooke. 1989. Cuckoos and parasitic ants: Interspecific brood parasitism as an evolutionary arms race. Trends in Ecology and Evolution 4(9):274-8.

Davies NB. 2000. Cuckoos, cowbirds and other cheats. T. y A. D. Poyser, Londres.

Davies NB y MdL Brooke. 1989a. An experimental study of coevolution between the Cuckoo, *Cuculus canorus*, and its hosts. I. Host egg discrimination. Journal of Animal Ecology 58: 207-224.

Davies NB y MdL Brooke. 1989b. An experimental study of coevolution between the Cuckoo, *Cuculus canorus*, and its hosts. II. Host egg markings, chick discrimination and general discussion. Journal of Animal Ecology 58: 225-236.

Davies NB y MdL Brooke. 1998. Cuckoos versus hosts: experimental evidences for coevolution. En: Rothstein, S. I. y Robinson, S. K. (eds.) Parasitic birds and their hosts. Studies in coevolution. Oxford University Press, Nueva York.

Davies NB, MdL Brooke y A Kacelnik. 1996. Recognition error and probability of parasitism determine whether reed warblers should accept or reject mimetic cuckoo eggs. Proceedings of the Royal Society of London Series B 263: 925-931.

Dawkins R y JR Krebs. 1979. Arms races between and within species. Proceedings of the Royal Society of London Series B 205: 489-511.

de la Colina MA, B Mahler y JC Reboreda. 2010. Differences in morphology and colour pattern of shiny cowbird (*Molothrus bonariensis*) eggs found in nests of two hosts. Biological Journal of Linnean Society 102:838–845.

De Mársico MC, B Mahler, M Chomnalez, AG Di Giacomo y JC 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.

De Mársico MC, MG Gantchoff y JC Reboreda. 2012. Host-parasite coevolution beyond the nestling stage? Host fledgling mimicry in a specialist brood parasite. Proceedings of the Royal Society B 279: 3401-3408.

Delhey K, M Carrizo, L Verniere, B Mahler y A Peters. 2011. Rejection of brood-parasitic shiny cowbird *Molothrus bonariensis* nestlings by the firewood-gatherer *Anumbius annumbi*? Journal of Avian Biology 42(5):463-7.

Fiorini VD. 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 VD y JC Reboreda. 2006. Cues used by shiny cowbirds (*Molothrus bonariensis*) to locate and parasitize chalk-browed mockingbird (*Mimus saturninus*) nests. Behavioral Ecology and Sociobiology 60: 379-385.

Fiorini VD, DT Tuero y JC Reboreda. 2009. Shiny Cowbirds benefits of synchronizing parasitism and puncturing eggs in large and small hosts. Animal Behaviour 77, 561–568.

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

Fraga RM. 2002. Notes on new or rarely reported Shiny Cowbird hosts from Argentina. Journal of Field Ornithology 73:213–219

Fraga RM. 1998. Interactions of the parasitic screaming and shiny cowbird (*Molothrus rufoaxillaris and M. bonariensis*) with a shared host, the bay-winged cowbird (*M. badius*). En: Rothstein, S. I. y Robinson S. K. (eds) Parasitic birds and their hosts. Studies in co-evolution. Oxford University Press, Nueva York.

Friedmann H y LF Kiff. 1985. The parasitic cowbirds and their hosts. Proceedings of the Western Foundation of Vertebrate Zoology 2: 225–302.

Friedmann H. 1929. The cowbirds. A study in the biology of social parasitism. C. C. Thomas, Springfield, Illinois.

Gibbs LH, MD Sorenson, K Marchetti, MdL Brooke, NB Davies y H Nakamur. 2000. Genetic evidence for female host-specific races of the common cuckoo. Nature 407:183-186.

Gloag R, VD Fiorini, JC Reboreda y A Kacelnik. 2012. Brood parasite eggs enhance egg survivorship in a multiply parasitized host. Proceedings of the Royal Society B 279: 1831-1839.

Grim T, P Samăs, C Moskát, O Kleven, M Honza, A Moksnes, E Røskaft y BG Stokke. 2011. Constraints on host choice: why do parasitic birds rarely exploit some common potential hosts? Journal of Animal Ecology 80:508–518

Grzybowski JA y CM Pease. 2000. Comparing the relative effects of brood parasitism and nest predation on seasonal fecundity in passerine birds. En: Smith JNM, TL Cook.

Hill DP y SG Sealy. 1994. Desertion of nest parasitized by cowbirds: have Clay-Coloured Sparrow evolved an anti-parasite defense? Animal Behaviour 48: 1063-1070.

Hoover JP. 2003. Multiple effects of brood parasitism reduce the reproductive success of prothonotary warblers *Protonotaria citrea*. Animal Behaviour 65: 923-934.

Hoover JP y MJ Reetz. 2006. Brood parasitism increases provisioning rate, and reduces offspring recruitment and adult return rates, in a cowbird host. Oecologia 149: 165-173.

Hoover JP y SK Robinson. 2007. Retaliatory mafia behavior by a parasitic cowbird favors host acceptance of parasitic eggs. Proceeding of the National Academy of Sciences 104:4479-4483.

Hudson WH. 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.

InfoNatura: Animals and Ecosystems of Latin America [web application]. 2007. Version 5.0. Arlington, Virginia (USA): NatureServe. Available: http://www.natureserve.org/infonatura. (Accessed: July, 2013)

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

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

Kattan GH. 1993. Reproductive strategy of a generalist brood parasite, the Shiny Cowbird, in the Cauca Valley, Colombia. Ph. D. dissertation, University of Florida, Gainesville.

Kattan GH. 1997. Shiny Cowbirds follow the shotgun strategy of brood parasitism. Animal Behaviour 53: 647-654.

Kilner RM y NE Langmore. 2011. Cuckoos versus hosts in insects and birds: adaptations, counter-adaptations and outcomes. Biological Reviews 86:836–852

Kilner RM. 2005. The evolution of virulence in brood parasites. Ornithological Science 4: 55-

Langmore NE, S Hunt y RM Kilner. 2003. Escalation of a co-evolutionary arms race through host rejection of brood parasitic young. Nature 422:157-160.

Lanyon SM. 1992. Interspecific brood parasitism in blackbirds (Icterinae): A phylogenetic perspective. Science 255: 77-79.

Lichtenstein G y SG 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.

López-Ortiz R, EA Ventosa-Febles, KR Ramos-Alvarez, R Medina-Miranda y A Cruz. 2006. Reduction in host use suggests host specificity in individual Shiny Cowbirds (*Molothrus bonariensis*). Ornitología Neotropical 17: 259–269.

Lotem A, H. Nakamura y A. Zahavi. 1995. Constraints on egg discrimination and cuckoo-host co-evolution. Animal Behaviour 49: 1185-1209.

Lowther P. Lists of victims and hosts of the parasitic cowbirds (artículo en línea). Versión 11-Oct-2012. Disponible en: http://fm1.fieldmuseum.org/aa/Files/lowther/CBList.pdf (Consulta Abril 2013).

Mahler B, VA Confalonieri, I Lovette y JC 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: 1918–1933

Mahler B, VA Confalonieri, IJ Lovette y JC Reboreda. 2008. Eggshell spotting in brood parasitic shiny cowbirds (*Molothrus bonariensis*) is not linked to the female sex chromosome. Behavioral Ecology and Sociobiology 62: 1193–1199.

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

Mason P y SI Rothstein. 1986. Coevolution and avian brood parasitism: Cowbird eggs show evolutionary response to host discrimination. Evolution 40(6):1207-14.

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

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

Massoni V y JC 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 ME y G. Fernández. 1999. Low frequency of Shiny Cowbird parasitism on Scarlet-headed Blackbirds: Anti-parasite adaptations or nonspecific life-history traits? Journal of Avian Biology 30: 15-22.

Mermoz ME y JF Ornelas. 2004. Phylogenetic analysis of life-history adaptations in parasitic cowbirds. Behavioral Ecology 15: 109-119.

Moksnes A y E Røskaft. 1989. Adaptations of meadow pipits to parasitism by the common cuckoo. Behavioral Ecology and Sociobiology 4(1):25-30

Moksnes A y E Røskaft. 1995. Egg-morphs and host preference in the common cuckoo (*Cuculus canorus*): an analysis of cuckoo and host eggs from European museum collections. Journal of Zoology 236: 625–648.

Mosksnes A, E Røskaft, LG Hagen, M Honza, C Mork y PH Olsen. 2000. Common Cuckoos *Cuculus canorus* and host behaviour et Red Warble *Acrocephalus scirpaceus* nest. Ibis 142: 247-258.

Norman RF y RJ 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 RB. 1974. The evolution of the clutch size and reproductive rates in parasitic cuckoos. Evolution 28: 169-181.

Payne RB. 1977a. The ecology of brood parasitism in birds. Annual Review of Ecology and Systematics 8: 1-28.

Payne RB. 1977b. Clutch size, egg size and the consequences of single vs. multiple parasitism in parasitic finches. Ecology 58: 503-513.

Payne RB, LL Payne y JL Woods. 1998. Song learning in brood-parasitic indigobirds *Vidua chalybeata*: song mimicry of the host species. Animal Behaviour 55: 1537–1553.

Payne RB, LL Payne, JL Woods y MD Sorenson. 2000. Imprinting and the origin of parasite–host species associations in brood-parasitic indigobirds, *Vidua chalybeata*. Animal Behaviour 59: 69–81.

Peer BD y SG Sealy. 2004. Correlates of egg rejection in hosts of the brown-headed cowbird. Condor 106: 580–599

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

Petit LJ. 1991. Adaptive tolerance of cowbird parasitism by prothonotary warblers: a consequence of nest-site limitations? Animal Behaviour 41: 425-432.

Picman J. 1989. Mechanisms of increased puncture resistance of eggs of brown-headed cowbirds. Auk 106: 577–583.

Reboreda JC, NS Clayton y A Kacelnik. 1996. Species and sex differences in hippocampus size between parasitic and non-parasitic cowbirds. Neuro Report 7: 505-508.

Reboreda JC, ME Mermoz, V Massoni, AA Astié y FL Rabuffetti. 2003. Impacto del parasitismo de cría del Tordo Renegrido (*Molothrus bonariensis*) sobre el éxito reproductivo de sus hospedadores. Hornero 18: 77-88.

Rohwer S y CD Spaw. 1988. Evolutionary lag versus bill-size constraints: a comparative study of the acceptance of cowbird eggs by old hosts. Evolutionary Ecology 2: 27-36.

Rothstein SI. 1975. Evolutionary rates and host defenses against avian brood parasitism. American Naturalist 109: 161-176.

Rothstein SI. 1990. A model system for coevolution: avian brood parasitism. Annual Reviews in Ecology and Systematics 21: 481-508.

Rothstein SI y SK Robinson. 1998. The evolution and ecology of avian brood parasitism. An overview. En: Rothstein SI y SK Robinson. (eds.) Parasitic birds and their hosts. Studies in coevolution. Oxford University Press, Nueva York.

Sato NJ, K Tokue, RA Noske, OK Mikami y K Ueda. 2010. Evicting cuckoo nestlings from the nest: a new anti-parasitism behaviour. Biology Letters 6:67-69.

Sealy SG, DG McMaster y BD Peer. 2002. Tactics of obligate brood parasite to secure suitable incubators. En Avian Incubation: Behaviour, Environment and Evolution, D.C. Deeming, ed. Oxford University Press, Oxford, UK.

Sealy SG, DL Neudorf y DP Hill. 1995. Rapid laying by Brown-headed cowbirds *Molothrus ater* and other parasitic birds. Ibis 137: 76-84.

Sealy SG, DL Neudorf, KA Hobson y SA Gill. 1998. Nest defense by potential hosts of the brown-headed cowbird: methodological approaches, benefits of defense, and coevolution. En: Rothstein, S. I. y Robinson, S. K. (eds.) Parasitic birds and their hosts. Studies in coevolution. Oxford University Press, Nueva York.

Slagsvold T y BT Hansen. 2001. Sexual imprinting and the origin of obligate brood parasitism in birds. The American Naturalist 158, 354–367.

Smith JNM, P Arcese y IG McLean. 1984. Age, experience and enemy recognition by wild Song Sparrows. Behavioral Ecology and Sociobiology 14:101–106.

Soler M. 1990. Relationship between the Great Sppoted Cuckoo *Clamator glandarius* and its corvid hosts in a recently colonized area. Ornis Scandinavica 21: 212-223

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

Soler JJ, M Soler, AP Moller y JG Martinez. 1995. Does the great spotted cuckoo choose magpie hosts according to their parenting ability? Behavioral Ecology and Sociobiology 36: 201-206.

Soler M, JG Martínez y JJ Soler. 1996. Effects of brood parasitism by the great spotted cuckoo on the breeding success of the magpie host: an experimental study. Ardeola 43: 87-96

Soler M, JJ Soler y JG Martínez. 1997. Great spotted cuckoos improve their reproductive success by damaging magpie host eggs. Animal Behaviour 54: 1227-1233.

Sorenson MD y RB Payne. 2002. Molecular genetic perspectives on avian brood parasitism. Integrative and Comparative Biology 42: 388-400.

Starling M, R Heinsohn, A Cockburn y NE Langmore. 2006. Cryptic gentes revealed in pallid cuckoos *Cuculus pallidus* using reflectance spectrophotometry. Proceedings of the Royal Society B (London) 273 1596: 1929-1934.

Stoddard MC y M Stevens. 2010. Pattern mimicry of host eggs by the common cuckoo, as seen through a bird's eye. Proceedings of the Royal Society B 277:1387–1393

Svagelj WS, ME Mermoz y GJ Fernández. 2003. Effect of egg type on the estimation of nest predation in passerines. Journal of Field Ornithology 74: 243–249.

Teuschl Y, B Taborsky y M Taborsky. 1998. How do cuckoos find their hosts? The role of habitat imprinting. Animal Behaviour 56: 1425–1443.

Tokue K y K Ueda. 2010. Mangrove gerygones *Gerygone laevigaster* eject little bronze-cuckoo *Chalcites minutillus* hatchlings from parasitized nests. Ibis152: 835 – 839

Tuero DT, VD Fiorini y JC Reboreda. 2007. Effects of Shiny Cowbird *Molothrus bonariensis* parasitism on different components of House Wren *Troglodytes aedon* reproductive success. Ibis 149: 521-529.

Vogl W, M Taborsky, B Taborsky, Y Teuschl y M Honza. 2002. Cuckoo females preferentially use specific habitats when searching for host nests. Animal Behaviour 64: 843–850.

Wiley JW. 1986. Growth of Shiny Cowbird and host chicks. Wilson Bulletin 98: 126-131.

Wyllie I. 1981. The cuckoo. Batsford, London.

CAPÍTULO 2

PROCEDIMIENTO GENERAL PARA LA OBTENCIÓN DE DATOS A CAMPO

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 Provincia de Buenos Aires (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. Estos cordones poseen un suelo de alto drenaje donde se asientan parches de bosque cuyas especies dominantes son el Tala *Celtis tala* y el Coronillo *Scutia buxifolia* (Figura 2.1). Este estrato arbóreo alcanza una altura de 9 a 10 m (Cagnoni y col. 1996).

Figura 2.1: Paisaje del área de estudio, que se caracteriza por la presencia de parches de bosque, principalmente de Tala y Coronillo. (Foto: A. de la Colina)

HOSPEDADORES

Se recolectaron huevos de tordo encontrados en los nidos de sus principales hospedadores en la zona de estudio. Si bien hay diversas especies hospedadoras presentes en esta área, tales como el Hornero *Furnarius rufus*, el Picabuey *Machetornis rixosus*, el Zorzal

Colorado *Turdus rufiventris*, el Zorzal Chalchalero *Turdus amaurochalinus*, El Tordo Músico *Agelaioides badius*, el Jilguero Dorado *Sicalis flaveola* y el Chingolo *Zonotrichia capensis* (Mason 1986), dos especies son los principales hospedadores: la Calandria Grande *Mimus saturninus* y la Ratona Común *Troglodytes aedon* (De Mársico y col. 2010). La primera presenta una frecuencia de parasitismo del 66% (Fiorini y Reboreda 2006), y en la segunda alcanza el 60% (Tuero y col. 2007). Por lo tanto, se monitorearon los nidos y recolectaron los huevos de Tordo Renegrido principalmente en estas dos especies. Además, se recolectaron huevos de tordos de nidos de Chingolo, Zorzal Colorado y Hornero que fueron encontrados en forma ocasional. La zona de colecta representó un área de aproximadamente 580 has dentro de la reserva y se subdividió en tres parches de colecta separados entre sí por bosques de especies exóticas (*Ligustrum spp* y *Eucalyptus spp*) y una zona utilizada para otros experimentos del grupo de investigación.

Calandria Grande

La Calandria Grande (Figura 2.2a), de aquí en adelante calandria, es la especie más grande de su género en la Argentina; sus adultos pueden pesar hasta 75 g (Sackmann y Reboreda 2003). Habita zonas semiabiertas, incluyendo ambientes urbanizados (Fraga 1985). Se la encuentra desde las sabanas dispersas al norte de la parte más baja del Río Amazonas hasta los 40º de latitud Sur en la Argentina por el Este de Sudamérica. Su rango de distribución está incluido en su totalidad dentro del rango del Tordo Renegrido (Olrog 1979, Ortega 1998). Fraga (1985) estudió la biología reproductiva de las calandrias en la localidad de Lobos, provincia de Buenos Aires, reportando que forman parejas que se mantienen durante todo el año y se reproducen desde septiembre hasta enero. Los adultos poseen un comportamiento sumamente sedentario y durante el invierno utilizan como perchas los mismos árboles donde construyen sus nidos en la etapa reproductiva. Los nidos tienen forma de gran taza, de 20-25 cm de diámetro, y son fabricados con ramitas, un relleno de barro y tapizados con pasto fino y pelos de caballo. En general, son construidos en arbustos o pequeños árboles con follaje denso a una altura de entre 1 y 3 m del suelo. El tamaño de puesta varía entre 3 y 5 huevos (Figura 2.2b, Fraga 1985). El tamaño promedio de los huevos, de coloración verde-celeste con machas marrones (Figura 2.2c), es de 27,6 mm de largo y 20,5 mm de ancho (Sackman y Reboreda 2003). El periodo de incubación es de 14 días. Una vez que eclosionan, los pichones permanecen en el nido entre 12 y 14 días. La frecuencia promedio de parasitismo reportada para el sitio de estudio es del 66% (Fiorini y Reboreda 2006), con una intensidad de 2,3 huevos por nido (Fiorini y col. 2005).

La búsqueda de nidos de calandria se realizó a partir de la observación directa de la actividad de las parejas reproductivas en su territorio, usando como guía las vocalizaciones de

alarma que emiten los adultos cuando se acerca un intruso a las proximidades del nido. Dentro del territorio, se realizó una búsqueda exhaustiva en los potenciales sitios de nidificación. El seguimiento de los nidos fue diario durante la etapa de construcción avanzada y puesta para detectar los eventos de parasitismo.

Figura 2.2: (a) Individuo adulto de Calandria Grande, (b) nido con huevos y (c) variabilidad en el morfo de huevos de calandria. (Fotos: a y b: F. Furiolo – c: A. de la Colina)

Mediante la utilización de redes de niebla se capturaron 25 parejas de calandrias en 2009 y 26 parejas en 2010. Cada individuo se identificó con una combinación única de anillos de colores, lo que permitió hacer el seguimiento de los intentos reproductivos a lo largo de la temporada. Ocho parejas capturadas en 2009 conservaron sus territorios en 2010 y siete parejas mantuvieron un solo miembro respecto del año anterior.

Ratona Común

La Ratona Común, de aquí en más ratona, es una especie de pequeño tamaño (15,4 g; Kattan 1996, Fig. 2.3a), cuyo rango de distribución abarca prácticamente todo el continente americano. Su límite norte se encuentra en Canadá y su límite sur en Tierra del Fuego (Brumfield y Capparella 1996). El rango de distribución del Tordo Renegrido está incluido en su totalidad dentro del rango de distribución de la ratona. Su hábitat comprende zonas semiabiertas, bosques abiertos o jardines. Los sitios de nidificación son siempre cerrados (cavidades) y muy variados, pudiendo ser naturales (cavidades en árboles, nidos abandonados de pájaros carpinteros, etc.) como de origen antrópico (por ejemplo, cavidades en techos de edificaciones, Skutch 1953). En el área de estudio las ratonas anidan desde principios de octubre hasta fines de enero. El tamaño medio de puesta es de 5 huevos (Tuero y col. 2007). Los huevos tienen un tamaño promedio de 17,5 mm de largo y 13,1 mm de ancho (Tuero y col. 2007) y son de color crema-rosado con manchas marrón-rojizas (Fig. 2.3b). El período 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 muy

frecuente en esta especie, con un 60% de los nidos parasitados y una intensidad de 1,7 ± 0,1 huevos por nido parasitado (Tuero y col. 2007). Para facilitar el seguimiento de los nidos y la manipulación de su contenido se instalaron y utilizaron cajas nido de madera (Figuras 2.3c y 2.4).

Figura 2.3: (a) Individuo adulto de Ratona Común, (b) nido con huevos y (c) caja nido activa. (Fotos: a y c: F. Furiolo – b: A. de la Colina)

Las cajas nido utilizadas poseen una entrada circular de 4,5 cm de diámetro, que permite irrestrictamente el ingreso de los tordos, y un techo o tapa móvil que permite revisar fácilmente su contenido. En el área de estudio se colocaron un total de 54 cajas nido. Éstas se dispusieron dentro de los parches de bosque y en sus bordes en toda el área de colecta. Las cajas fueron colocadas en talas y coronillos a una altura de entre 1,5 y 2 m y fueron revisadas regularmente desde el inicio hasta el final de la temporada reproductiva. Las ratonas utilizaron en promedio el 57% de las cajas para construir sus nidos, compuestos por una base de ramitas y una copa formada con pastos y pelos de caballo tapizada con plumas. El seguimiento de las cajas con nidos en la etapa de construcción avanzada y puesta se realizó cada 2 días.

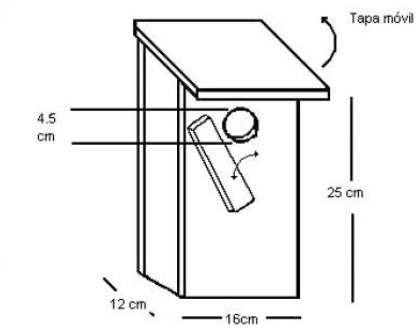

Figura 2.4: Esquema de las cajas nido para Ratona Común utilizadas en este estudio

RECOLECCIÓN DE HUEVOS

Durante las temporadas reproductivas de los años 2008, 2009 y 2010 se recorrió la zona de estudio desde principios de octubre hasta mediados de enero del año siguiente. La temporada reproductiva del Tordo Renegrido comienza hacia fines de septiembre y dura hasta principios de febrero (Fraga 1985), lo que hace que el parasitismo se extienda a lo largo de todo el período reproductivo de ambos hospedadores.

La búsqueda e inspección de los nidos fue realizada como se describió previamente salvo en los días de precipitaciones mayores a 10 mm/día (1 día durante la temporada 2008, 14 días durante la temporada 2009 y 6 en la temporada 2010) para no interferir con las actividades de vigilancia y cuidado del nido de los hospedadores y no aumentar las probabilidades de abandono o fracaso del intento reproductivo. Las visitas a los nidos se realizaron entre las 10 y las 19 hs, dado que las calandrias suelen depositar sus huevos entre las 8 y las 10 hs (*observación personal*).

Los datos registrados en cada visita fueron: la especie hospedadora, la fecha de inicio de la puesta (aparición del primer huevo del hospedador) y la fecha de puesta de cada huevo del hospedador, que permite estimar la disponibilidad de nidos, así como el nido y la fecha de puesta del huevo parásito extraído (los huevos fueron rotulados con un marcador indeleble para su posterior identificación individual). En caso de encontrar un nido con la puesta avanzada (con los huevos aún sin incubar), se esperó hasta la finalización de la puesta y se estimó la fecha de inicio a partir del día de puesta del último huevo, asumiendo una puesta de 4 huevos para el caso de las calandrias y de 5 huevos para las ratonas. En caso de encontrar un nido en incubación (huevos tibios), se determinó la fecha de inicio calculando desde la fecha de eclosión del primer huevo considerando un período de incubación de 14 días para las calandrias y de 15 días para las ratonas. Para las calandrias, que mantienen sus territorios a lo largo de toda la temporada reproductiva, se registraron además los intentos reproductivos (construcción de un nido nuevo) para cada una de las parejas. Se consideró que un intento reproductivo había finalizado cuando el nido estaba predado, abandonado o finalizó exitosamente. Un nido se determinó como predado cuando su contenido (huevos o pichones) había desaparecido entre dos visitas consecutivas y como abandonado si los huevos estaban fríos al tacto (luego de completada la puesta) en dos visitas consecutivas. Se lo consideró exitoso cuando se produjo la independencia de los pichones. De los nidos de Chingolo, Hornero y Zorzal Colorado encontrados ocasionalmente, solamente se registró la ubicación geográfica y si estaba en puesta o incubación.

Durante la campaña 2008, se registró la ubicación de todos los nidos encontrados con un GPS Garmin 12XL y además las posiciones exactas fueron marcadas en una imagen satelital por

medio del software libre Google Earth®. Las coordenadas obtenidas por el programa se compararon con las obtenidas con el GPS, siendo el error estimado entre ambos procedimientos de aproximadamente 1 m. Considerando este error despreciable a los efectos del estudio, se decidió prescindir del GPS y trabajar solamente con imágenes de Google Earth® durante las campañas 2009 y 2010.

Los huevos de tordo colectados de los nidos de los hospedadores fueron medidos (largo y ancho) utilizando un calibre con un error de 0,1 mm. Aquellos colectados durante el periodo de puesta fueron incubados artificialmente a 38,5 °C por 2-3 días para garantizar un desarrollo mínimo del embrión. Posteriormente fueron congelados hasta su análisis. Aquellos colectados durante la incubación fueron congelados directamente. En los casos en los que se encontraron pichones de tordo en los nidos de las especies hospedadoras, se tomaron muestras de sangre de los mismos a los 6-9 días de edad. Las muestras (aprox. 10 µl) fueron extraídas de la vena braquial y rápidamente disueltas en 500 µl de buffer de lisis (100mM TRIS, 100mM EDTA, 10mM NaCl, 2% SDS). Las muestras de sangre fueron conservadas a temperatura ambiente hasta su procesamiento.

Durante los meses de julio, agosto y septiembre de 2008 y octubre de 2009 se capturaron individuos adultos de Tordo Renegrido en la zona de estudio mediante la utilización de trampas y redes de niebla. A cada individuo se le tomó una muestra de sangre utilizando la misma metodología que en el caso de los pichones y se lo marcó con una combinación única de anillos de colores y un anillo metálico numerado antes de ser liberado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Brumfield RT y AP Capparella. 1996 . Genetic differentiation and taxonomy in the House Wren species group. Condor 98: 547-556.

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

De Mársico MC, B Mahler, M Chomnalez, AG Di Giacomo y JC 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.

Fiorini VD, AA Astié, DT Tuero y JC Reboreda. 2005. Éxito reproductivo del Tordo Renegrido (*Molothrus bonariensis*) en hospedadores de distinto tamaño corporal. Hornero 20: 173-182.

Fiorini VD y JC Reboreda. 2006. Cues used by Shiny Cowbirds *(Molothrus bonariensis*) to locate and parasitize Chalk-browed Mockingbird (*Mimus saturninus*) nests. Behavioral Ecology and Sociobiology 60: 379-385.

Fiorini VD, DT Tuero y JC Reboreda. 2009. Shiny Cowbirds synchronize parasitism with host laying and puncture host eggs according to host characteristics. Animal Behaviour 77: 561–568.

Fraga RM. 1985. Host-parasite interactions between Chalk-browed Mockingbirds and Shiny Cowbirds. En: Neotropical Ornithology (Ed. By PA Buckley, MS Foster, ES Morton, RS Ridgely y FG Buckey), pp. 829-844. Washington, D. C.: American Ornithological Union.

Google Earth®: http://earth.google.com

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

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

Olrog CC. 1979. Nueva lista de la avifauna Argentina. Inst. Lillo, Tucumán, Argentina.

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

Sackmann P y JC 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 AF. 1953. Life history of the southern House Wren. Condor 55: 121-149.

Tuero DT. 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 DT, VD Fiorini y JC 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

PROCEDIMIENTO GENERAL PARA LA OBTENCIÓN DE DATOS EN EL LABORATORIO

ANÁLISIS GENÉTICOS

Extracción y amplificación de ADN

Antes de comenzar con los análisis genéticos, todos los huevos fueron fotografiados y medidos espectrográfica- y morfométricamente (ver Capítulo 6). Para la obtención de tejido, los huevos fueron diseccionados. Una vez abiertos, se tomaron muestras de tejido embrionario que fueron conservadas a temperatura ambiente en 1 ml de buffer DMSO (20% Dimetil sulfóxido V/V, 250 mM EDTA, NaCl sobresaturado) hasta la extracción de ADN. Ésta se realizó siguiendo un protocolo estándar de deshidratación y precipitación con etanol y NaCl (Miller y col. 1988).

Se amplificaron siete loci de secuencias microsatélites por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en un termociclador modelo Multigene de Labnet International. Para ello, se utilizaron cebadores (primers) diseñados para el Tordo Cabeza Marrón: CB.1, CB.12, CB.15, Maμ 20, Maμ 25, Maμ 29 y Dpμ 15b (Gibbs y col. 1997, Alderson y col.1999, Longmire y col. 2001). Para la puesta a punto del protocolo de amplificación para cada uno de los primers en el Tordo Renegrido, se modificó el protocolo utilizado para el Tordo Cabeza Marrón (B. Strausberger, *com. pers.*) realizando algunos ajustes de temperatura y número de ciclos, hasta obtener una amplificación exitosa de los 7 loci probados.

La amplificación final se realizó mediante PCR multiplex, agrupando los primers en dos sets (set I: CB.1, CB.12 y CB.15, set II: Maμ 20, Maμ 25, Maμ 29 y Dpμ15b) que optimizaron la combinación de colores de la marcación fluorescente (FAM, VIC, PET y NED) para los pesos moleculares de los loci. Para ambos sets se utilizó un volumen total de 10 μl con un contenido estimado de ADN de 20 a 60 ng y un mix de reacción conteniendo: 0,2 μM de cada uno de los cebadores (los cebadores sentido llevaban la marcación fluorescente para el análisis de fragmentos), 0,2 mM de cada dNTP, 2,5 mM $MgCl_2$, 1mM PCR buffer y 0.125 U de *Taq* Polimerasa (Invitrogen). Se realizó una touchdown PCR con los siguientes ciclos: una etapa inicial de desnaturalización de 4 minutos a 95ºC, seguida por 10 ciclos: 30 segundos a 94ºC, 45 segundos bajando la temperatura de 55ºC a 53ºC (bajando medio grado cada 2 ciclos) y 45

segundos a 72 ºC, luego 35 ciclos: 30 segundos a 94ºC, 45 segundos a 53ºC y 45 segundos a 72ºC, seguidos por una extensión final a 72ºC por 40 minutos.

Genotipado

Los productos de amplificación fueron procesados en un secuenciador Applied Biosystems 3100-Avant Genetic Analyzer (muestras de la campaña 2008) perteneciente a Landcare Research, Nueva Zelanda, y en un secuenciador automático Applied Biosystems 3130 perteneciente al Departamento de Ecología, Genética y Evolución de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires (muestras de las campañas 2009 y 2010).

El análisis de fragmentos se realizó utilizando el software libre Peak Scanner ™ v.1.0 (Applied Biosystems). Se determinó el peso molecular de los alelos para los siete loci y se asignó el genotipo a cada una de las muestras. Los datos obtenidos a partir de la utilización de diferentes secuenciadores se calibraron para corregir corrimientos en los pesos moleculares asignados.

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Cálculo de los parámetros poblacionales

Se utilizó el software libre *Micro-checker* versión 2.2.3 (van Oosterhout y col. 2004) para analizar la ocurrencia de errores de genotipado que pueden darse por mutaciones en las regiones correspondientes a los primers, dando lugar a alelos no amplificados (alelos nulos) o bien por artefactos en el proceso de amplificación que producen la ausencia de alelos (*allelic dropout*) o donde pueden ocurrir deleciones y por lo tanto pequeños cambios en el peso de algunos alelos acentuando el efecto de "*stuttering*" (mayor número de picos alrededor del pico correspondiente al verdadero alelo) que puede dar lugar a errores de interpretación en el proceso de genotipado.

Los parámetros poblacionales fueron estimados a partir de las muestras de individuos adultos (N=33). Para cada locus, se estudió la diversidad alélica, la heterocigosis observada y esperada y el ajuste al equilibrio de Hardy-Weinberg, utilizando el software libre *Genepop* versión 4.0 *en línea* (Raymond y Rousset 1995). También se analizó la existencia de desequilibrio por ligamiento entre los loci.

Análisis de parentesco

El coeficiente *r* es una medida continua de la similitud genética relativa entre dos individuos respecto a dos individuos aleatorios de una población de referencia y expresa la proporción de alelos idénticos compartidos en promedio por descendencia directa. Los valores

teóricos que el coeficiente *r* puede tomar para las relaciones de parentesco más comunes pueden observarse en la Figura 3.1. Con la utilización del software libre *iRel* versión 1.0 (Gonçalves da Silva y Russello 2011), se calcularon los coeficientes de parentesco según Queller y Goodnight (1989) y Lynch y Ritlands (1999) y se evaluó, siguiendo la metodología descripta en Russello y Amato (2004), el desempeño de cada estimador según la distribución de frecuencias alélicas de la muestra. Una vez seleccionado el mejor estimador, se calculó el coeficiente de parentesco entre muestras utilizando el software libre *ML-Relate* (Kalinowski y col. 2006).

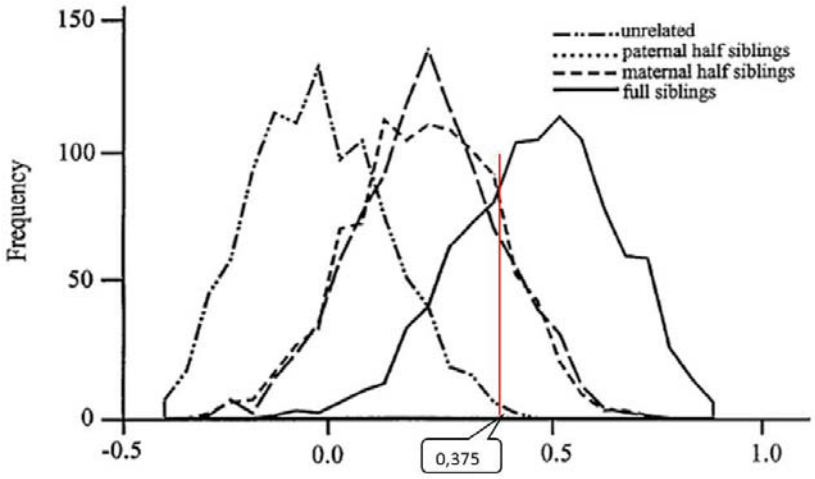

Figura 3.1: Distribución de probabilidades del coeficiente de parentesco (valor r) para individuos no relacionados (línea con puntos), medio hermanos maternos y paternos (líneas incompletas), y hermanos completos (línea completa) (tomado de Queller y Goodnight 1989).

El programa *ML-Relate* calcula el coeficiente entre individuos evaluando los casos de a pares y utilizando el método de estimación de *r* por máxima verosimilitud (Blouin 2003, Wagner y col. 2006). Milligan (2003) demostró que las estimaciones del coeficiente de parentesco por este método estadístico usualmente poseen menor error que otros estimadores.

A partir de los valores de *r* para cada par de muestras, se identificaron aquellos pares que correspondían a hermanos completos. Esto incluiría pares de huevos puestos por la misma hembra y fertilizados por el mismo macho. No se utilizaron aquellos pares de huevos correspondientes a medios hermanos dado que no se puede distinguir si son medio hermanos paternos o maternos. El valor de corte teórico para distinguir entre medio hermanos y hermanos completos es $r = 0.375$ (ver fig. 3.1, Blouin y col. 1996). Al existir una probabilidad no nula de asignar erróneamente una relación de parentesco si el valor de *r* observado cae por fuera del rango de valores de *r* esperados teóricamente, para minimizar este error se calculó el valor de

corte específico para las muestras del presente estudio (obtenido de utilizar las frecuencias alélicas muestrales) utilizando el software *iRel* según el procedimiento detallado en Russello y Amato (2004).

Una vez calculado el coeficiente *r* se estableció la relación de parentesco con la mayor probabilidad para cada par de pichones que presentaron valores de *r* mayores al valor de corte. Para ello se utilizó el programa *ML-Relate* que compara la probabilidad de las diferentes relaciones de parentesco posibles entre dos individuos, basado en simulaciones y en los datos genotípicos. La robustez de estas estimaciones se puso a prueba utilizando una prueba de hipótesis específica para cada par de individuos, donde se plantea como relación putativa y relación alternativa la de hermanos completos *versus* medio hermanos con 10.000 simulaciones (Kalinowski y col. 2006). Este procedimiento permite maximizar la potencia para rechazar la hipótesis alternativa ($p < 0,05$) y de este modo reducir la probabilidad de cometer un error de tipo I (tomar una relación entre pichones como hermanos completos cuando son medio hermanos). Las metodologías estadísticas que utiliza el *ML-Relate* para estos test son las mismas que comúnmente se utilizan en los análisis de pedigrí (Marshall y col. 1998, Goodnight y Queller 1999, McPeek y Sun 2000, Kalinowski y col. 2006).

Para cada temporada reproductiva se agruparon aquellos huevos con valores de *r* mayores al valor de corte empírico obtenido anteriormente y que fueron asignados inequívocamente como hermanos completos por la prueba de hipótesis. No se integraron al grupo aquellos huevos que presentaron valores de *r* menores al valor de corte con alguno de los miembros del grupo y/o no pudiera descartarse la posibilidad de la relación de medio hermanos con la prueba de hipótesis correspondiente. De esta forma se obtuvieron grupos de huevos puestos por una misma hembra, que además habían sido fecundados por el mismo macho.

A partir de cada grupo de huevos se estudió la estrategia de puesta de las hembras de la población y la constancia en los patrones de coloración de sus huevos (ver capítulos subsiguientes).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alderson GW, HL Gibbs y SG Sealy. 1999. Determining the reproductive behaviour of individual Brown-headed Cowbirds using microsatellite DNA markers. Animal Behaviour 58: 895-905.

Blouin MS, M Parsons, V Lacaille y S Lotz. 1996: Use of microsatellite loci to classify individuals by relatedness. Molecular Ecology 5:393-401.

Blouin MS. 2003: DNA-based methods for pedigree reconstruction and kinship analysis in natural populations. Trends in Ecology and Evolution 18:503-511.

Gibbs HL, P Miller, G Alderson y SG Sealy.1997. Genetic analysis of brown-headed cowbirds *Molothrus ater* raised by different hosts: data from mtDNA and microsatellite DNA markers. Molecular Ecology 6: 189-193.

Goodnight KF y DC Queller. 1999. Computer software for performing likelihood tests of pedigree relationship using genetic markers. Molecular Ecology 8: 1231–1234.

Gonçalves da Silva A y MA Russello. 2011. iRel: software for implementing pairwise relatedness estimators and evaluating their performance. Conservation Genetics Resources 3: 69-71. URL: http://irel.ok.ubc.ca:8080/webMathematica/irel/irel.html

Guo SW y EA Thompson. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportions for multiple alleles. Biometrics 48: 361-372.

Kalinowski ST, AP Wagner y ML Taper. 2006. ML-Relate: a computer program for maximum likelihood estimation of relatedness and relationship. Molecular Ecology Notes 6:576-579.

Longmire JL, JL Roach, M Maltbie, PS White, OL Tatum y KL Makora. 2001. Tetranucleotide microsatellite markers for the Brown-headed cowbird (*Molothrus ater)*. Journal of Avian Biology 31:76-78.

Lynch M y K Ritland. 1999: Estimation of pairwise relatedness with molecular markers. Genetics 152:1753-1766.

Marshall TC, J Slate, LEB Kruuk y JM Pemberton. 1998. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. Molecular Ecology 7: 639–655.

McPeek MS y L Sun. 2000. Statistical test for detection of misspecified relationships by use of genome-screen data. The American Journal of Human Genetics 66: 1076–1094.

Miller SA, DD Dykes y HF Polesky. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Research 16:1215.

Milligan BG. 2003. Maximum-likelihood estimation of relatedness. Genetics 163: 1153–1167

Queller DC y KF Goodnight. 1989. Estimating relatedness using genetic markers. Evolution 42: 258-275.

Raymond M y F Rousset. 1995. GENEPOP Version 1.2: population genetics software for exact tests and ecumenicism. Journal of Heredity 86:248–249.

Rousset F y M Raymond. 1995. Testing heterozygote excess and deficiency. Genetics 140: 1413-1419.

Russello MA y G Amato. 2004. Ex situ population management in the absence of pedigree information. Molecular Ecology 13: 2829-2840.

Van Oosterhout CV, WF Hutchinson, DPM Wills y P Shipley. 2004. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. Molecular Ecology Notes 4:535–538.

Wagner AP, S Creel y ST Kalinowski. 2006. Estimating relatedness and relationships using microsatellite loci with null alleles. Heredity 97:336–345.

CAPÍTULO 4

RESULTADOS GENERALES DE LOS DATOS OBTENIDOS A CAMPO Y EN EL LABORATORIO

RECOLECCIÓN DE HUEVOS DE TORDO RENEGRIDO

En total, se registraron 323 nidos durante las tres temporadas reproductivas, de los cuales se colectaron 373 muestras de Tordo Renegrido. La tabla 4.1 muestra el número de nidos registrados por hospedador para cada temporada reproductiva y la cantidad de esos nidos que se encontraron parasitados. La figura 4.1 muestra la posición geográfica de todos los nidos dentro de la zona de estudio. Se puede observar la agrupación de nidos en tres parches.

Tabla 4.1: Detalle de los nidos registrados en las tres temporadas reproductivas (2008-2010) por especie hospedadora. N: número de nidos encontrados, N_P: número de nidos parasitados, I: intensidad de parasitismo (número promedio de huevos parásitos por nido parasitado).

	2008			**2009**			**2010**		
	N	N_P	*I*	*N*	N_P	*I*	*N*	N_P	*I*
Calandria	77	50	2,3 ±1,8	68	42	2,5 ±1,6	75	43	1,8 ±1,0
Ratona	35	14	1,2 ±0,4	40	15	1,2 ±0,4	21	9	1,2 ±0,4
Chingolo	2	2		2	2		0	0	
Zorzal	0	0		0	0		1	1	
Hornero	0	0		2	2		0	0	
Número de muestras colectadas		134			150			89	

Durante la campaña 2008, 50 de los 77 nidos de calandria estaban parasitados, mientras que 14 de 35 nidos de ratona se encontraron parasitados. Se encontraron 2 nidos de chingolo parasitados, uno próximo (a una distancia menor a 5 metros) a cajas nido activas de ratona y otro próximo a un nido activo de calandria. En total, se colectaron 134 huevos de tordo. Durante la campaña 2009 se encontraron 68 nidos de calandria, 42 de ellos parasitados. Para ratona, se encontraron 40 nidos, 15 de ellos parasitados. También se encontraron 2 nidos de chingolo y 2 nidos de hornero parasitados, todos cercanos a nidos activos de calandria. Durante esta temporada se colectaron 139 huevos de tordo. Además, se encontraron 11 pichones de tordo (6 pichones en nidos de calandria, 4 pichones en nidos de ratona y 1 en un nido de hornero), de los cuales se tomaron muestras de sangre. Durante la campaña 2010 se encontraron 75 nidos de calandria, 43 de ellos parasitados. En ratona, se encontraron solamente 21 nidos, de los cuales 9 fueron parasitados. Se encontró además un nido de zorzal parasitado cercano a un nido activo de

calandria y un pichón de tordo en un nido de calandria. En total, en esta temporada se obtuvieron 89 muestras. La frecuencia promedio de nidos parasitados fue de 61% para calandria y 39% para ratona. Mientras que la frecuencia de parasitismo en calandria se ajusta a lo encontrado en trabajos previos (66%, Fiorini y Reboreda 2006), el parasitismo en ratona resultó ser menor al 60% reportado por Tuero y colaboradores (2007). El número promedio de huevos de tordo encontrados en nidos de calandria fue de 2,2 huevos y en nidos de ratona de 1,2 huevos (Tabla 4.1).

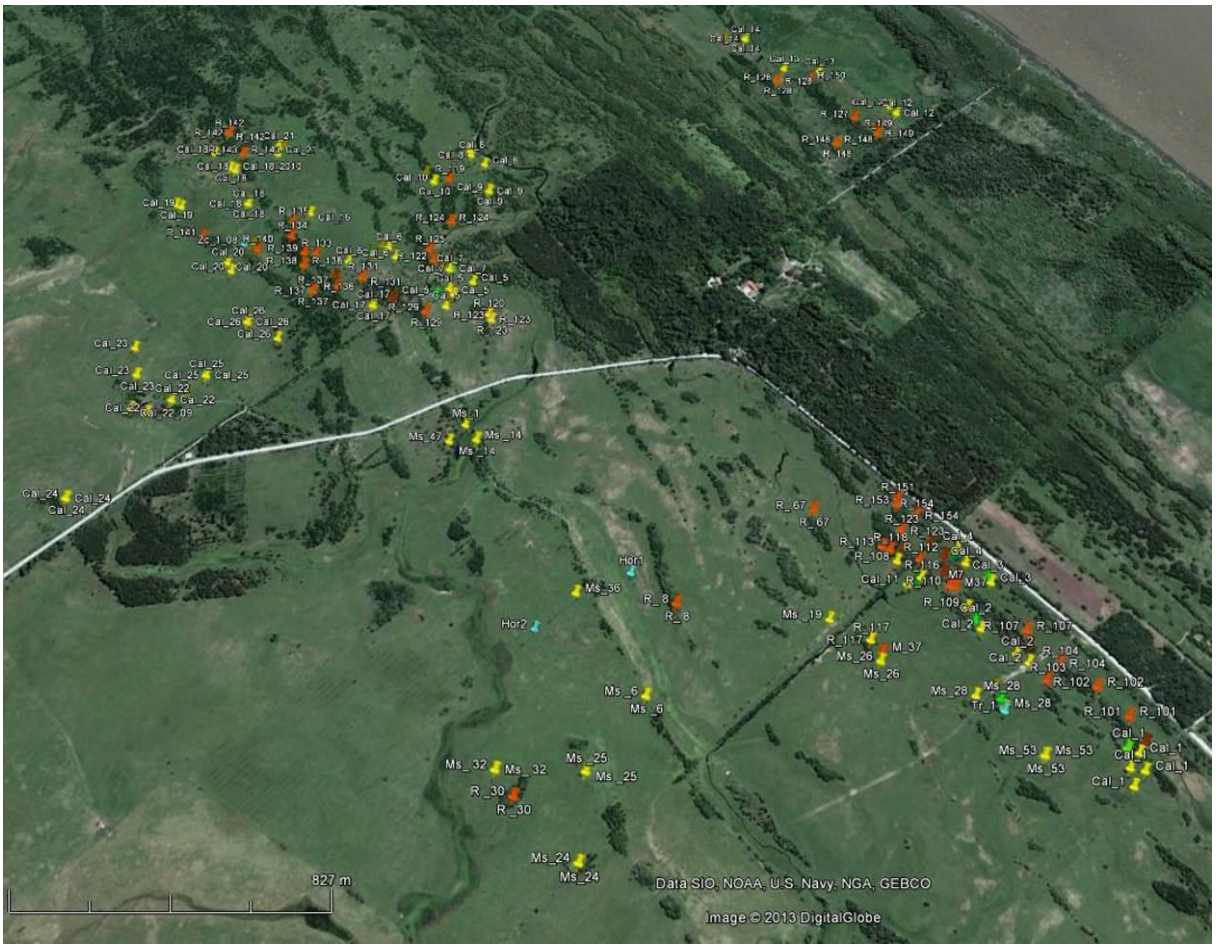

Fig. 4.1: Imagen con la ubicación geográfica de todos los nidos registrados. Las marcas en amarillo corresponden a los nidos de calandria (N = 220), las marcas en rojo a los nidos de ratona (N = 96) y las marcas en celeste a los nidos de zorzal, chingolo y hornero (N = 7)

ANÁLISIS GENÉTICOS

En total, se recolectaron 361 huevos de Tordo Renegrido durante las tres campañas, de los cuales 187 pudieron ser genotipados exitosamente. Para los restantes 174 huevos no se obtuvo desarrollo embrionario, a pesar de la incubación previa por 48 hs, o la muestra de ADN extraída no fue suficiente, en cantidad y/o calidad, como para producir intentos de amplificación y genotipado exitosos. Además, se lograron genotipar 11 de las muestras de sangre de los 12

pichones encontrados. La tabla 4.2 muestra la cantidad de muestras que se incluyeron en los análisis, por hospedador y por temporada.

Tabla 4.2: Número de muestras colectadas y genotipadas según el hospedador donde fueron encontradas.

	Nº muestras colectadas	*Nº muestras genotipadas*		
		2008	*2009*	*2010*
Calandria	311	55	69	43
Ratona	53	5	12	9
Chingolo	5	1	3	0
Hornero	3	0	1	0
Zorzal	1	0	0	0
Total	373		198	

Cálculo de los parámetros poblacionales

Para calcular los parámetros poblacionales (Tabla 4.3) se utilizaron los genotipos de los individuos adultos. Dpμ 15*b* presentó muchos problemas para la amplificación por lo que fue excluido de los análisis.

No se encontraron evidencias de desequilibrio de ligamiento entre los pares de loci, y sólo el marcador CB.1 mostró una desviación al equilibrio de Hardy-Weinberg (Tabla 4.3). Dicho marcador también mostró evidencia de presencia de alelos nulos, razón por la cual fue excluido de los análisis de parentesco.

Tabla 4.3: Características de los seis loci microsatélites analizados. N: número de individuos analizados, k: número de alelos, y su rango de pesos moleculares, Ho: heterocigosis observada, He: heterocigosis esperada, P-val $_{EHW}$: valor de significancia para el ajuste al equilibrio de Hardy-Weinberg.

	N	**k**	**Rango (pb)**	**Ho**	**He**	**P-val $_{EHW}$**
CB. 1	32	12	203-267	0.688	0.884	**0.0003**
CB. 12	22	14	152-248	0.955	0.905	0.7709
CB. 15	32	8	241-273	0.938	0.844	0.9831
Maμ 20	31	14	120-172	0.903	0.840	0.2274
Maμ 25	24	10	122-154	0.917	0.850	0.2567
Maμ 29	24	11	115-179	0.708	0.811	0.1053

Análisis de parentesco

De los dos estimadores del coeficiente de parentesco *r* evaluados (Lynch y Ritlands 1999, r_{LR} y Queller y Goodnight 1989, r_{QG}), el r_{QG} mostró mayor poder de discriminación entre categorías de parentesco contiguas. Por esta razón, se utilizó este estimador para los análisis subsiguientes con el programa *ML-Relate*. El valor de corte utilizado para la asignación de hermanos completos fue el obtenido para la muestra por el software *iRel*, que resultó menor al valor teórico (*r*=0,363 vs r=0,375). Luego de aplicar la prueba de hipótesis a los pares de huevos con valores mayores de *r*, se identificaron 26 grupos de hermanos completos con entre 2 y 7 muestras cada uno y una media ± D.E. de 3,3 ± 1,6 individuos cada grupo (Tabla 4.4).

Tabla 4.4: Resultado de la agrupación de hermanos completos. Número de hembras para las que se generaron grupos de hermanos completos por temporada y el número de muestras por grupo ordenados de menor a mayor.

Hembras	2008	2009	2010
1	2	2	2
2	2	2	2
3	2	2	3
4	3	2	4
5	3	2	
6	3	2	
7	3	3	
8	3	4	
9	4	6	
10	7	6	
11	7	6	

Para las temporadas 2008 y 2009 se generaron 11 grupos, respectivamente, mientras que para la temporada 2010 se generaron 4 grupos (Tabla 4.4). Los grupos de cada temporada se consideraron como independientes, es decir, pertenecientes a diferentes hembras.

A partir de la identificación de grupos de hermanos completos se estudió la estrategia de puesta de las hembras a nivel individual y la constancia en el patrón de coloración de sus huevos (capítulos 5 y 6).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Lynch M y K Ritland. 1999: Estimation of pairwise relatedness with molecular markers. Genetics 152:1753-1766.

Queller DC y KF Goodnight. 1989. Estimating relatedness using genetic markers. Evolution 42: 258-275.

CAPÍTULO 5

ESTUDIO DE LA ESTRATEGIA DE USO DE NIDOS DE HOSPEDADORES POR LAS HEMBRAS DE TORDO RENEGRIDO

INTRODUCCIÓN

En las aves parásitas de cría es sumamente difícil la estimación de algunos de los parámetros reproductivos, tales como la fecundidad (número de huevos puestos por temporada reproductiva), los patrones espacio-temporales de parasitismo (tamaño del área de parasitismo y extensión de la temporada reproductiva) y la especificidad en la selección de la especie hospedadora (número de especies parasitadas por una hembra). Esta falta de información se debe fundamentalmente a la dificultad de realizar observaciones sobre el comportamiento reproductivo de los individuos como consecuencia de la ausencia de comportamientos parentales claros alrededor de un nido, la dificultad de determinar el momento de puesta de cada hembra, su alta movilidad al alejarse del nido que parasita para alimentarse o pernoctar, y la dificultad de asignar los huevos o pichones a una determinada hembra (Fitch y Shugart 1984, Fleischer 1985).

La reciente disponibilidad de marcadores genéticos altamente variables, tales como los microsatélites (Queller y col. 1993), ofrece una nueva metodología para los estudios reproductivos en poblaciones de aves parásitas a través de la inferencia del comportamiento de puesta individual de las hembras *a posteriori* (Hahn y Fleischer 1995, Gibbs y col. 1997, Jones y col. 1997, Marchetti y col. 1998, Alderson y col. 1999, Hahn y col. 1999, Sorenson y Payne 2002, Strausberger y Ashley 2003, Ellison y col. 2006, Langmore y col. 2007, Hauber y col. 2012, Rivers y col. 2012). Su alta variabilidad y su herencia co-dominante han permitido establecer relaciones de parentesco incluso en ausencia del genotipo de los padres (Emery y col. 2001, Smith y col. 2001, Strausberger y Ashley 2003).

Para el Tordo Cabeza Marrón, diferentes autores han reportado un porcentaje variable de coexistencia de hembras hospedador-especialistas y otras hospedador-generalistas en poblaciones geográficamente distantes (Alderson y col. 1999, Woolfenden y col. 2003, Strausberger y Ashley 2005). También se encontró una flexibilidad a nivel individual en la estrategia de puesta de estas hembras, con una especificidad que puede estar asociada a la disponibilidad y/o calidad del hospedador y que puede variar para diferentes temporadas reproductivas (Woolfenden y col. 2003). La estrategia de parasitismo puede depender además de la densidad de hembras parásitas, que se relaciona con la intensidad de la competencia por el acceso a los nidos (Rivers y col. 2012).

En el caso del Tordo Renegrido, que al igual que el Tordo Cabeza Marrón es altamente generalista a nivel poblacional, evidencias indirectas sugieren que las hembras no depositan sus huevos en nidos al azar, sino que parasitan preferencialmente nidos de determinadas especies (López Ortiz y col. 2006, Mahler y col. 2007). Ésta preferencia puede variar entre diferentes comunidades de aves dependiendo de las especies hospedadoras que las componen (De Mársico y col. 2010). En un estudio en Puerto Rico se observó, dentro del marco de un programa de control de Tordos Renegridos, que al remover huevos y pichones del parásito de nidos de un determinado hospedador, se reducía el nivel de parasitismo en esa especie pero no en otras (López-Ortiz y col. 2006). En base a estos resultados los autores sugirieron que las hembras tendrían un comportamiento de puesta hospedador-especialista. En otra investigación realizada sobre la población de estudio del presente trabajo, Mahler y colaboradores (2007) encontraron evidencias indirectas que apoyan una preferencia en la selección de ciertos hospedadores por parte de las hembras: la secuenciación de un fragmento de la región control de ADN mitocondrial mostró una diferenciación genética entre las hembras de Tordo Renegrido que parasitaban hospedadores con distintos tipos de nido (cavidades vs. nidos abiertos). Los autores sugirieron que estas preferencias estarían dadas por un proceso de "*imprinting".* Este proceso fue propuesto para otros parásitos de cría y se basa en que los pichones generan una asociación con alguna característica morfológica, comportamental o ecológica del hospedador y al llegar a la edad reproductiva, buscan esa característica para poner sus huevos, resultando en matrilíneas hospedador-específicas (Mosknes y Røskaft 1995, Teuschl y col. 1998, Payne y col. 2002, Langmore y Kilner 2007). Otras evidencias indirectas encontradas en el sitio de estudio apoyan la preferencia por el uso de hospedador en el Tordo Renegrido: comparaciones de la puesta de los tordos en calandrias y ratonas mostraron diferencias morfológicas entre huevos encontrados en los nidos de ambos hospedadores (de la Colina y col. 2010, Tuero y col. 2012) y comportamientos hospedador-específicos donde la sincronización de la puesta y el comportamiento de picaduras de huevos entre estos dos hospedadores varían (Fiorini y col. 2009a). Sin embargo, las evidencias sugieren que la preferencia por un hospedador no es total y que puede haber eventos de cambio de hospedador (Mahler y col. 2007). Como para cualquier sistema de reconocimiento, el "*imprinting"* puede tener errores (Sherman y col. 1997) y una hembra en ciertas ocasiones podría depositar huevos "erróneamente" en nidos de hospedadores distintos al que la crio (Davies 2000, Cherry y Bennett 2001, Moksnes y Røskaft 1995, Starling y col. 2006, Mahler y col. 2007, Di Giácomo y col. 2010).

La inversión parental más importante que una hembra parásita puede hacer es elegir adecuadamente dónde y cuándo poner sus huevos, siendo crítica su evaluación en cuanto a la

presencia de hospedadores (Teuschl y col. 1998, Hahn y col. 1999, Langmore y Kilner 2007), la elección del nido (Soler y col. 1995, Polačiková y col. 2008, Fiorini y col. 2009a, Soler y Pérez-Contreras 2012) y la sincronización con la puesta de los huevos del hospedador (Davies y Brooke 1988, Ellison y col. 2006, Moskat y col. 2006, Fiorini y col. 2009b). Se ha sugerido que las hembras evitarían utilizar un nido que ya ha sido parasitado para evitar la competencia entre los pichones parásitos (Strausberger 1998, Hahn y col. 1999, Trine 2000, Hoover 2003, McLaren y col. 2003, Moskat y col. 2006, Goguen y col. 2011). Sin embargo, si el hospedador es capaz de criar a más de un pichón parásito, esta competencia co-específica podría ser menos costosa que invertir tiempo y energía en la búsqueda de un nuevo nido (Martínez y col. 1998). El parasitismo múltiple es bastante común en el Tordo Renegrido (Ortega 1998, Gloag y col. 2012) y está dado por una ausencia de territorialidad y comportamientos defensivos por parte de las hembras parásitas (Mermoz y Reboreda 2003). Para el Tordo Cabeza Marrón, varios estudios reportan que pese a que esta especie presenta defensa de territorios durante la temporada reproductiva, en determinadas poblaciones ocurre parasitismo múltiple con varias hembras parasitando el mismo nido o bien una misma hembra parasitando varias veces el mismo nido ("parasitismo repetido"; Alderson y col. 1999, Hahn y col. 1999, McLaren y col. 2003, Ellison y col. 2006). Esto se da con particular frecuencia cuando hay una alta densidad de hembras y una baja disponibilidad de nidos (Strausberger y Ashley 2003, Rivers y col. 2012). Para el Tordo Renegrido, en cambio, no se han encontrado eventos de parasitismo repetido. Gloag y col. (*enviado*) no encontraron ningún caso de una hembra utilizando el mismo nido más de una vez y Kattan (1997) y Lyon (1997) encontraron que las hembras utilizan siempre la misma colonia de hospedadores (de Ratona Común y Varillero *Agelaius ruficapillus*, respectivamente) con una alta tasa de parasitismo múltiple pero ningún evento de parasitismo repetido.

No hay evidencias directas de la tasa de fecundidad efectiva (número de huevos puestos por temporada reproductiva) de las hembras de Tordo Renegrido, aunque existe una estimación de 120 huevos (Kattan 1993) por hembra. Este valor máximo fue calculado por medio del estudio del tamaño de los folículos post-ovulatorios en hembras capturadas en el Valle del Cauca, Colombia, y fue sugerido como la fecundidad potencial para una temporada reproductiva de 6 meses (G. Kattan, *com. pers*.). También se ha propuesto que la fecundidad se encuentra influenciada por la disponibilidad de nidos hospedadores (Holford y Roby 1993).

El objetivo de este trabajo fue estudiar el patrón individual de puesta de las hembras de tordo, analizando la elección de la especie hospedadora, el patrón temporal de puesta y el patrón espacial de puesta en cuanto al territorio y los nidos utilizados.

MÉTODOS

Los datos analizados en este capítulo fueron los correspondientes a los huevos de Tordo Renegrido recolectados durante las temporadas reproductivas 2008, 2009 y 2010. La estrategia de puesta a nivel individual se analizó en base a las 26 hembras de Tordo Renegrido inferidas a partir de la identificación de grupos de hermanos completos según lo detallado en el capítulo anterior (Tabla 4.4).

Para analizar la distribución espacial de los nidos parasitados por una misma hembra se utilizaron las coordenadas obtenidas de la ubicación de los nidos de origen de todos los huevos colectados como se detalló en el capítulo 2 y se midieron las distancias entre todos esos nidos utilizando el paquete "Geosphere" (Hijmans y Williams 2012) para el software libre R. El análisis de distribución de nidos se llevó a cabo por medio del test no paramétrico de Kolmogorov-Smirnov, realizado con el programa InfoStat v.2012 (Di Rienzo y col. 2012). Se compararon las distribuciones de los datos de distancia de los nidos parasitados con huevos emparentados (i.e. pertenecientes a la misma hembra) y la distribución de los datos de distancia de los huevos no emparentados. Para el primer grupo se incluyeron las 87 muestras (85 huevos y 2 pichones) asignadas a 26 hembras, mientras que para el segundo grupo se incluyeron 111 muestras (102 huevos y 9 pichones) con valores de $r < 0{,}363$ entre sí. Esto generó 131 valores de distancia para las muestras del primer grupo, correspondientes a las distancias entre los nidos con descendencia de una misma hembra. Para el segundo grupo se obtuvieron 5460 valores de distancia, correspondientes a las distancias entre nidos con huevos no emparentados.

Para el análisis de especificidad del hospedador y repetitividad en el uso del nido por las hembras de tordo, se utilizaron los registros de identidad de la pareja reproductora de los nidos utilizados, el número de intento reproductivo y las fechas de inicio y finalización de cada uno de los nidos (Capítulo 2). Para algunos nidos no se pudo determinar la fecha de iniciación al haber sido encontrados durante el período de incubación y predados antes de la eclosión (2008: 3 nidos; 2009: 5 nidos; 2010: 1 nido). Para otros nidos se encontraron huevos de tordo pero no del hospedador (2008: 1; 2009: 3). Sin embargo, el número de intento reproductivo pudo determinarse sin ambigüedad en todos los casos al no encontrar más de un nido activo por territorio simultáneamente. Para la fecha de puesta de los huevos de tordo se utilizó la fecha exacta de puesta en los casos en que pudo ser determinada y se estimó la fecha de puesta como el día medio del rango probable de puesta que incluye la puesta y los primeros días de incubación del hospedador (3 días para calandria y 5 para ratona, Fiorini 2007) en los casos en los que la fecha no pudo ser determinada con exactitud. En los casos donde el nido no fue visitado en días consecutivos (i.e. día por medio), se presumió que en la mitad de los casos, el

huevo era puesto el día antes y en la otra mitad de los casos el mismo día que se encontró el huevo (Fiorini 2007).

Se estimó la fecundidad potencial máxima para las hembras de tordo del área de estudio multiplicando la tasa de puesta máxima encontrada por Kattan (1993, de 0,66 de huevos puestos por día) por el rango máximo de puesta (en días) encontrado a nivel individual para las hembras estudiadas. Esta estimación representa el límite superior de fecundidad, ya que no toma en cuenta las variaciones en la tasa de puesta a lo largo de la temporada reproductiva que podrían existir para cada hembra, como tampoco las variaciones en los períodos de puesta entre hembras.

RESULTADOS

El análisis de distribución espacial mostró que los nidos parasitados por la misma hembra tienen una distribución espacial significativamente diferente a la distribución espacial de los nidos parasitados con huevos no emparentados (Test de Kolmogorov-Smirnov, KS=0,54, $p < 0,01$, Fig. 5.1). Los nidos con huevos emparentados se encontraron más cercanos entre sí, con una distancia promedio de 488,72 metros. La mayoría de los huevos puestos por una misma hembra (73%) se encontraron a menos de 600 metros dentro del mismo parche de colecta (Fig. 4.1). En contraste, los huevos puestos por diferentes hembras mostraron una distribución bimodal, con huevos puestos en el mismo parche y en parches distantes.

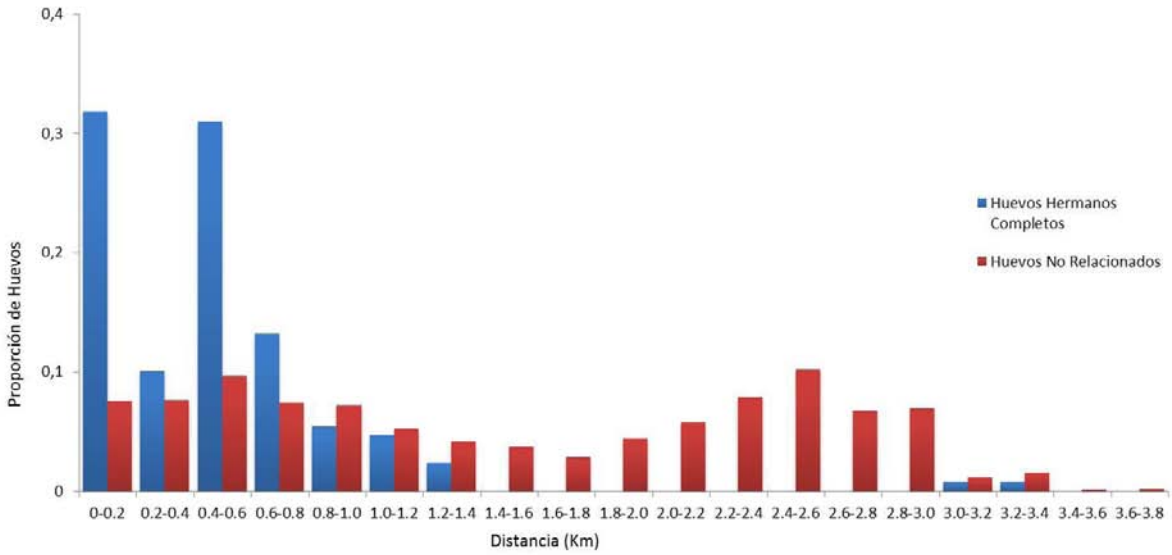

Figura 5.1: Distribución espacial de los nidos parasitados con huevos de la misma hembra (azul) y con huevos no emparentados (rojo). Test de Kolmogorov-Smirnov, KS=0,54, p<0,01.

El análisis temporal mostró una temporada de puesta promedio de 86,6 días para los tordos renegridos del área de estudio (Tabla 5.1). En general, el primer huevo apareció durante la

primera quincena de octubre y el último huevo parásito se observó durante los primeros diez días de enero. El período de puesta individual máximo fue de 79 días (Fig. 5.2). Para esta hembra se encontraron 7 huevos desde el 9 de octubre al 27 de diciembre de 2008. Esto indica que al menos algunas de las hembras parásitas depositan sus huevos en los nidos de las especies hospedadoras a lo largo de toda la temporada reproductiva. Por otro lado, se observó un valor máximo de tasa de puesta de 0,67 huevos por día, correspondiente a 4 huevos encontrados para una hembra en un rango temporal de 6 días (Fig. 5.2). Este valor es similar al documentado por Kattan (1993) de 0,66 huevos por día. Tomando este valor, la fecundidad potencial por temporada para una hembra de Tordo Renegrido sería de 52 huevos, considerando la tasa máxima de puesta a lo largo de toda la temporada (temporada individual máxima = 79 días).

Tabla 5.1: Detalle de las fechas y duración de cada temporada de puesta

Temporada	Fecha de puesta del primer huevo encontrado de la temporada	Fecha de puesta del último huevo encontrado de la temporada	Duración de la temporada (días)
2008	3 de Octubre	6 de Enero del 2009	95
2009	10 de Octubre	5 de Enero del 2010	87
2010	12 de Octubre	27 de Diciembre del 2011	76

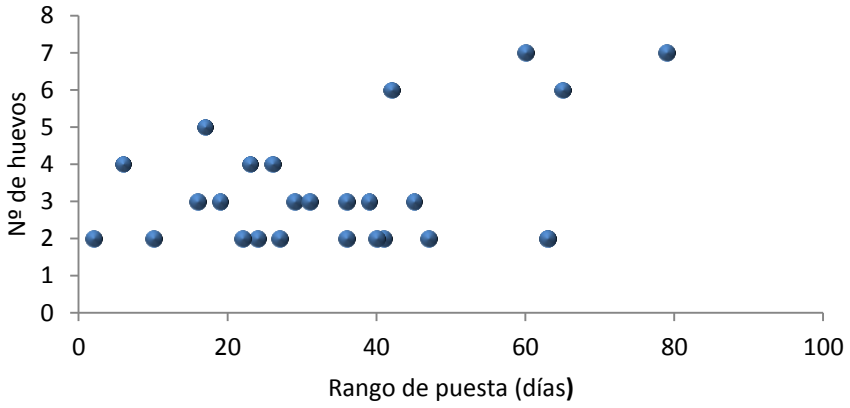

Figura 5.2: Número de huevos encontrados en función del rango temporal de puesta para las 26 hembras estudiadas.

De las 26 hembras estudiadas, 21 pusieron sus huevos en los nidos de una única especie hospedadora. Veinte utilizaron exclusivamente nidos de calandria y una utilizó únicamente nidos de ratona (Fig. 5.2). Las cinco hembras restantes utilizaron el nido de más de una especie hospedadora, cuatro parasitaron calandria y ratona, y una, calandria y chingolo. Sin embargo, se

puede ver que salvo para una de estas hembras, para la que se encontraron únicamente dos huevos (Hembra 1, Año 2009, Fig. 5.2), hay una preferencia por alguno de los hospedadores utilizados, ya que la mayoría de los huevos se encuentran en los nidos de uno de ellos (Fig. 5.2).

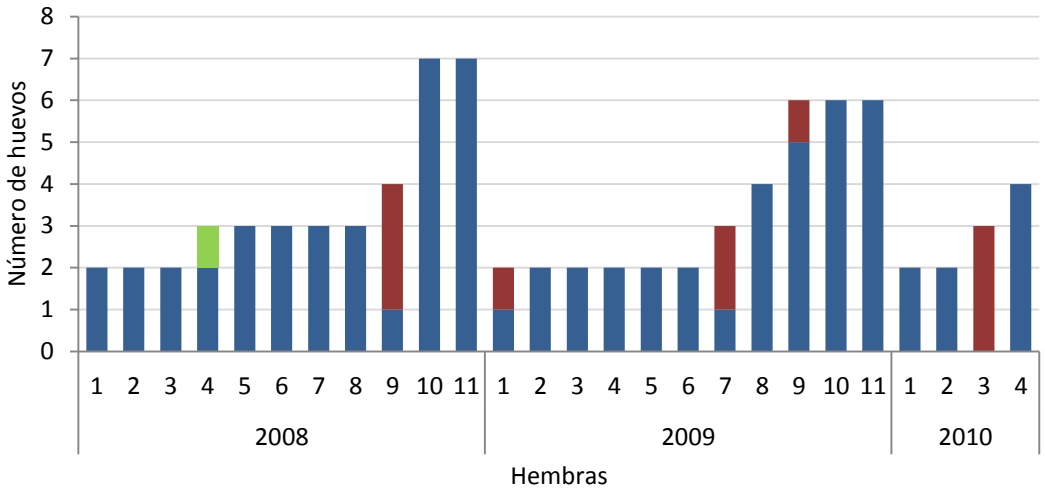

Figura 5.2: Detalle de los hospedadores utilizados por cada una de las 26 hembras estudiadas: calandria (azul), ratona (rojo) y chingolo (verde).

Para las 25 hembras que parasitaron el mismo hospedador más de una vez, se encontró que en 15 casos parasitaron siempre a parejas diferentes. Para 10 hembras, se encontraron huevos en nidos de la misma pareja reproductiva. Cuatro hembras parasitaron exclusivamente intentos reproductivos diferentes, correspondientes tanto a intentos sucesivos como espaciados. Para seis hembras se encontraron huevos en el nido durante el mismo intento reproductivo, y para una de ellas, dos veces en dos parejas reproductivas diferentes. Esto indica que al menos seis hembras realizaron parasitismo repetido. La utilización del mismo nido se realizó con uno a cuatro días de diferencia.

DISCUSIÓN

El estudio de la puesta de Tordo Renegrido indicó que la mayoría de las hembras presentaron una alta fidelidad a un sitio de puesta. Los huevos puestos por la misma hembra se encontraron mayormente a menos de 1 km de distancia, con una distancia promedio de 488 m. Estos resultados son consistentes con los encontrados por R. Scardamaglia (*com. pers.*) que estudió el patrón de movimiento de esta especie durante la época reproductiva mediante radiotelemetría y determinó que el área de actividad de las hembras de tordo fue en promedio de 25,4 ha. Esta área incluyó los eventos de parasitismo y la búsqueda de nidos disponibles. Los resultados de nuestro trabajo indican que las hembras se mueven en un área acotada para

parasitar los nidos de los hospedadores y mantienen esta área a lo largo de la temporada reproductiva.

La tasa de puesta (0,67 huevos por día) y la fecundidad potencial estimada de 52 huevos representan los valores máximos encontrados para una hembra. Los datos de este estudio no permiten calcular una fecundidad promedio, ya que las diferencias en las tasas y en los rangos temporales de puesta encontrados entre hembras pueden ser consecuencia de que no se recolectaron y genotiparon todos los huevos pertenecientes a cada individuo y no a una diferencia real entre individuos en estos parámetros. El valor máximo para la tasa de puesta encontrado en nuestra población de estudio es similar al estimado por estudios morfológicos para una población de Centroamérica de 0,6 huevos por día (Kattan 1993, Rueda-Cediel y col. 2008).

Dentro del área de puesta, las hembras utilizaron preferentemente una de las especies hospedadoras. Se encontró una mayor frecuencia e intensidad de parasitismo en nidos de calandria que de ratona (Tabla 4.1) y un mayor número de hembras parasitando calandrias exclusivamente (20 hembras de tordo con todos sus huevos encontrados en nidos de calandria vs. 1 hembra de tordo con todos sus huevos encontrados en nidos de ratona). Esto sugiere una preferencia de las hembras de este sitio de estudio hacia los nidos de calandria, apoyando la hipótesis de que el Tordo Renegrido prefiere ciertos hospedadores a nivel poblacional (Mason 1986, De Mársico y col. 2010). Por otro lado, se podría argumentar que un muestreo incompleto de nidos parasitados podría sesgar los resultados sobre el comportamiento de puesta individual de las hembras parásitas (Strausberger y Ashley 2005) y que no se hayan encontrado huevos de estas hembras en nidos de hospedadores alternativos. Sin embargo, realizamos el muestreo sobre las especies con mayor frecuencia de parasitismo en la zona de estudio, lo que nos asegura haber colectado la mayoría de los huevos parásitos. Otras especies hospedadoras poseen frecuencias de parasitismo considerablemente menores en esta zona (*Sicalis flaveola* 8%, *Furnarius rufus* 20%, *Agelaioides badius* 20%, Mason 1986) y en algunos casos no están disponibles en el área de estudio, como es el caso del Varillero y del Pecho Amarillo *Pseudoleistes virescens*, que nidifican en bañados.

El uso de la misma área de puesta durante toda la temporada llevó a la utilización de nidos de diferentes intentos reproductivos de la misma pareja hospedadora por parte de cuatro hembras parásitas. Además, se encontró que el mismo nido fue utilizado más de una vez por la misma hembra parásita en seis casos. Como consecuencia de la utilización de la misma área de puesta por varias hembras de tordo, el parasitismo múltiple es muy común en esta especie (Ortega 1998) y, en particular, en este sitio de estudio (Gloag y col. 2012). Sin embargo, no se

habían reportado hasta el momento eventos de parasitismo repetido por una misma hembra de Tordo Renegrido (Kattan 1997, Lyon 1997, Gloag y col. *enviado*). El parasitismo múltiple representa un costo para una hembra, por el riesgo de predación, las picaduras de los huevos por otros tordos y la competencia entre pichones parásitos, más aún si se trata de su propia descendencia. Martínez y colaboradores (1998) plantearon la hipótesis de que esta estrategia puede ser beneficiosa cuando los costos del parasitismo múltiple son superados por el beneficio de seleccionar un hospedador capaz de criar exitosamente a más de un pichón parásito, sobre todo en presencia de una baja disponibilidad de nidos (Lyon 1997). Se ha observado que ambas especies hospedadoras son capaces de criar con éxito a más de un pichón parásito (Fraga 1985, Tuero 2004, Fiorini 2007). Sin embargo, se observó una mayor frecuencia de parasitismo múltiple en calandria (el 57% de los nidos parasitados *versus* el 21% en ratona) y existen evidencias de que las calandrias crían con mayor frecuencia que la ratona a más de un pichón parásito exitosamente (Fraga 1985, Fiorini 2007). En ratona existe una alta mortandad de pichones parásitos en nidos con parasitismo múltiple (Tuero 2004, Kattan 1997). Tuero (2004) sugirió que la mortalidad de estos pichones sería atribuible a la competencia intraespecífica y no interespecífica.

Por otro lado, los eventos de parasitismo repetido podrían estar dados por la disponibilidad de nidos del hospedador. Un análisis detallado de la disponibilidad de nidos (en puesta e incubación temprana, Fiorini y col. 2009a) para los casos en que la hembra utilizó el mismo nido por segunda vez mostró que para 5 de los 6 casos encontrados, había entre 3 y 5 nidos disponibles de esa especie hospedadora en el momento de puesta. Para el otro caso había únicamente un nido disponible. Aunque no se puede descartar que los otros nidos no hayan sido detectados por las hembras, estas evidencias sugieren que las hembras no evitan activamente parasitar el mismo nido. Una estrategia de puesta podría estar dada por la utilización de nidos al azar dentro de los posibles candidatos. Si este fuese el caso, es posible que la presencia de eventos de parasitismo repetido sea el resultado de la densidad de nidos, donde existe una mayor probabilidad de repetir el nido por azar en un área con menor densidad de nidos respecto a un área con mayor densidad.

Al igual que lo encontrado para el Tordo Cabeza Marrón (Alderson y col. 1999, Woolfenden y col. 2003, Strausberger y Ashley 2005), nuestra población de estudio estaba compuesta por hembras hospedador-especialistas (N=21) y por hembras “generalistas”, que utilizaron los nidos de más de un hospedador (N=5). Sin embargo, para las hembras para las que se encontraron más de dos huevos (N=4), se encontró una preferencia por uno de los hospedadores utilizados. Estudios indirectos habían sugerido una preferencia en el uso de

hospedadores relacionada con el tipo de nido (Mahler y col. 2007), diferenciando genéticamente a las hembras que parasitan ratonas (nidos en cavidades) de las que parasitan calandrias y chingolos (nidos abiertos). Nuestros resultados muestran que en cuatro casos las hembras utilizan tanto nidos abiertos como cerrados, lo que podría explicar la asociación imperfecta encontrada entre el tipo de nido y el marcador genético por Mahler y col. (2007). Se ha planteado que una asociación débil en el proceso de "*imprinting*" puede conducir a errores de reconocimiento y en consecuencia a un cambio de hospedador (De Mársico y col. 2010). Errores de reconocimiento de hospedadores han sido documentados recientemente en el Tordo Pico Corto (Di Giacomo y col. 2010). Los autores reportan casos de hembras que parecen haber confundido nidos de su principal hospedador con nidos cercanos de especies que no habían sido reportadas como hospedadoras. A pesar de que estos eventos de parasitismo fracasaron, los autores sugieren que si hubieran sido exitosos podrían haber resultado en la incorporación de estas especies como hospedadoras del Tordo Pico Corto.

Si bien es necesario investigar con mayor profundidad las características que generan el "*imprinting*" en el Tordo Renegrido, se espera que los errores de reconocimiento ocurran entre hospedadores con características similares (tamaño, tipo de nido, etc.), o alternativamente, que ocurra por la cercanía de nidos. En este estudio se encontraron hembras parásitas utilizando simultáneamente calandrias y ratonas, dos hospedadores con características diferentes, tanto en la morfología como en el tipo de nido, y con los nidos lo suficientemente alejados como para descartar un error como el reportado por Di Giacomo y colaboradores (2010). El parasitismo de una hembra en ambas especies también fue registrado por Gloag y colaboradores (*enviado*) durante las filmaciones de los nidos hospedadores. Estos resultados sugieren que la preferencia por una especie hospedadora podría ser parcial o bien presentar cierta plasticidad en algunas hembras de acuerdo a las condiciones ambientales. Para el Tordo Cabeza Marrón se ha encontrado flexibilidad en la puesta dependiendo de la densidad de las hembras parásitas (Alderson y col. 1999, Hahn y col. 1999, McLaren y col. 2003, Ellison y col. 2006, Rivers y col. 2012) y la disponibilidad de nidos para parasitar (Strausberger y Ashley 2003, Rivers y col. 2012). Asimismo, en el cuclillo *Chalcites basalis*, se encontró cierta plasticidad en la preferencia por el hospedador y el hábitat, que permite utilizar hospedadores secundarios cuando el principal no se encuentra espacial- o temporalmente disponible (Langmore y Kilner 2007).

En nuestra población, la disponibilidad de nidos tampoco explicaría la utilización de nidos de hospedadores no preferidos. Se realizó un análisis de la disponibilidad de nidos para tres hembras que utilizaron un hospedador alternativo (hembras número 9 de la temporada 2008, y 7 y 9 de la temporada 2009, Fig. 5.2). Para la hembra 5 de la temporada 2008 no se pudo

estimar la fecha de puesta del huevo encontrado en el nido de chingolo y por lo tanto, no se pudo estimar la disponibilidad de nidos de calandria para el momento de puesta. El análisis mostró que en el día en que las tres hembras parasitaron al hospedador alternativo, había nidos del hospedador preferido disponibles (3, 5 y 3, respectivamente), vs. 3, 2 y 4 del hospedador alternativo. Estas evidencias sugieren que la elección del nido no está guiada exclusivamente por la disponibilidad de nidos, aunque no podemos confirmar cuántos de los nidos disponibles habían sido detectados por las hembras parásitas.

En el contexto de otros comportamientos, existen varios estudios que plantean que las preferencias parciales podrían ser explicadas tanto por errores como por una estrategia de "*sampling*" o "*muestreo*" (Krebs y col. 1977, Rechten y col. 1983). Esta estrategia consiste en un monitoreo regular de las opciones no preferidas y es favorecida en condiciones de variabilidad de los recursos. De esta manera, independientemente de los recursos disponibles, una estrategia similar puede estar siendo utilizada regularmente por las hembras parásitas. Los estudios de radiotelemetría en nuestra zona de estudio muestran que las hembras pasan la noche en dormideros comunales, de los cuales parten antes del amanecer para parasitar a sus hospedadores (Scardamaglia, *com. pers.*). Un alto porcentaje de los eventos de parasitismo ocurre con varias hembras de tordo (hasta 4) arribando simultáneamente al nido (Fraga 1985, Gloag, *com. pers.*). Estas observaciones sugieren que las hembras de tordo podrían detectar un nido disponible observando a otras hembras dentro de su área reproductiva. El "*muestreo*" de otras especies hospedadoras podría ocurrir al seguir a otras hembras, implicando un bajo costo para la hembra parásita.

En resumen, nuestros resultados muestran que las hembras utilizan un área acotada para efectuar los eventos de parasitismo a lo largo de toda la temporada reproductiva y que esta área es compartida por varias hembras llevando a eventos de parasitismo múltiple. Asimismo encontramos eventos de parasitismo repetido, que a diferencia de lo encontrado para el Tordo Cabeza Marrón parecería no estar influenciado por la disponibilidad de nidos del hospedador preferido en el momento de puesta. En la mayoría de los casos, las hembras utilizan una única especie hospedadora. Sin embargo, en la población también encontramos una baja proporción de hembras "generalistas" que parasitaron más de un hospedador, aunque siempre mayoritariamente a uno de ellos. Aunque no está claro el mecanismo que lleva a estos cambios ocasionales en el uso del hospedador, explica la ausencia de linajes maternos perfectos reportada por Mahler y col. (2007).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alderson GW, Gibbs HL y SG Sealy. 1999. Determining the reproductive behaviour of individual Brown-headed Cowbirds using microsatellite DNA markers. Animal Behaviour 58: 895-905.

Cherry MI y ATD Bennett. 2001. Egg colour matching in an African cuckoo, as revealed by ultraviolet-visible reflectance spectrophotometry. Proceedings of the Royal Society B 268: 565–571.

Davies NB. 2000. Cuckoos, Cowbirds and Other Cheats. Oxford University Press, Oxford.

Davies NB y L Brooke. 1988. Cuckoos versus Reed Warblers: adaptations and counter adaptations. Animal Behaviour 36: 262-284.

de la Colina MA, B Mahler y JC Reboreda. 2010. Differences in morphology and colour pattern of shiny cowbird (*Molothrus bonariensis*) eggs found in nests of two hosts. Biological Journal of Linnean Society 102:838–845.

De Mársico MC, B Mahler, M Chomnalez, AG Di Giacomo y JC 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.

Di Giacomo AG, B Mahler y JC Reboreda. 2010. Screaming Cowbird parasitism on nests of Solitary Caciques and Cattle Tyrants. Wilson Journal of Ornithology 122: 795-799.

Di Rienzo JA, F Casanoves, MG Balzarini, L Gonzalez, M Tablada y CW Robledo. 2012. InfoStat versión 2012. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL http://www.infostat.com.ar.

Ellison K, SG Sealy y HL Gibbs. 2006. Genetic elucidation of host use by individual sympatric bronzed cowbirds (*Molothrus aeneus*) and brown-headed cowbirds (*M. ater*). Canadian Journal of Zoology 84: 1269–1280.

Emery AM, IJ Wilson, S Craig, PR Boyle y LR Noble. 2001. Assignment of paternity groups without access to parental genotypes: multiple mating and developmental plasticity in squid. Molecular Ecology 10: 1265–1278.

Fiorini VD. 2007. Synchronization of parasitism and host selection in a generalist brood parasite, the shiny cowbird *Molothrus bonariensis* (Icterinae, Aves). Tesis Doctoral. Universidad de Buenos Aires. Argentina

Fiorini VD, DT Tuero y JC Reboreda. 2009a. Shiny Cowbirds benefits of synchronizing parasitism and puncturing eggs in large and small hosts. Animal Behaviour 77: 561-568.

Fiorini VD, DT Tuero y JC Reboreda. 2009b. Host behaviour and nest-site characteristics affect the likelihood of brood parasitism by shiny cowbirds on chalk-browed mockingbirds. Behaviour 146: 1387-1403.

Fitch MA y GW Shugart. 1984. Requirements for a mixed reproductive strategy in avian species. American Naturalist 124: 116–126

Fleischer RC. 1985. A new technique to identify and assess the dispersion of eggs of individual brood parasites. Behavioral Ecology and Sociobiology 17: 91–100.

Fraga RM. 1985. Host-parasite interactions between chalk-browed mockingbirds and shiny cowbirds. The Ornithological Monographs 36: 829–844.

Friedmann H y LF Kiff. 1985. The parasitic cowbirds and their hosts. Proceedings of the Western Foundation of Vertebrate Zoology 2: 225–302.

Gibbs HL, P Miller, G Alderson y SG Sealy. 1997. Genetic analysis of brown-headed cowbirds *Molothrus ater* raised by different hosts: data from mtDNA and microsatellite DNA markers. Molecular Ecology 6: 189–193.

Gloag R, VD Fiorini, JC Reboreda y A Kacelnik. 2012. Brood parasite eggs enhance egg survivorship in a multiply parasitized host. Proceedings of the Royal Society B 279: 1831-1839.

Goguen CB, DR Curson y NE Mathews. 2011. Costs of multiple parasitism for an avian brood parasite, the brown-headed cowbird (*Molothrus ater*). Canadian Journal of Zoology 89: 1237-1248.

Hahn DC y RC Fleischer. 1995. DNA fingerprint similarity between female and juvenile brown-headed cowbirds trapped together. Animal Behaviour 49:1577-1580.

Hahn DC, JA Sedgwick, IS Painter y NJ Casna. 1999. A spatial and genetic analysis of cowbird host selection. Studies in Avian Biology 18: 204–217.

Hauber ME, BM Strausberger, KA Feldheim, J Lock y P Cassey. 2012. Indirect estimates of breeding and natal philopatry in an obligate avian brood parasite. Journal of Ornithology 153:467–475.

Hijmans RJ y E Williams. 2012. Geosphere: spherical trigonometry. R package version 1.2-28. Available at http://CRAN.R-project.org/package=geosphere

Holford KC y DD Roby. 1993. Factors limiting fecundity of captive brown-headed cowbirds. Condor 95: 536-545.

Hoover JP, K Yasukaw y ME Hauber. 2006. Spatially and temporally structured avian brood parasitism affects the fitness benefits of hosts' rejection strategies. Animal Behavior 72: 881–890.

Hudson WH. 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.

Jones DA, HL Gibbs, T Matsuda, MD Brooke, H Ukida y MJ Bayliss. 1997. The use of DNA fingerprinting to determine the possible mating system of an obligate brood parasitic bird, the Cuckoo *Cuculus canorus.* Ibis 139:560-562.

Kattan GH. 1993. Reproductive strategy of a generalist brood parasite, the Shiny Cowbird, in the Cauca Valley, Colombia. Ph. D. dissertation, University of Florida, Gainesville.

Kattan GH. 1997. Shiny cowbirds follow the 'shotgun' strategy of brood parasitism. Animal Behavior 53: 647–654.

Krebs JR, JT Erichsen, MI Webber y EL Charnov. 1977. Optimal prey selection in the great tit (*Parus major*). Animal Behaviour 25: 30–38.

Langmore NE y RM Kilner.2007. Breeding site and host selection by Horsfield's bronzecuckoos, *Chalcites basalis*. Animal Behaviour 74: 995–1004.

López-Ortiz R, EA Ventosa-Febles, KR Ramos-Alvarez, R Medina-Miranda y A Cruz. 2006. Reduction in host use suggests host specificity in individual shiny cowbirds (*Molothrus bonariensis*). Ornitología Neotropical. 17: 259–269.

Lyon BE. 1997. Spatial patterns of shiny cowbird brood parasitism on chestnut-capped blackbirds. Animal Behavior 54: 927–939.

Mahler B, VA Confalonieri, IJ Lovette y JC 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.

Marchetti K, HL Gibbs y H Nakamura. 1998. Host-race formation in the common cuckoo. Science 282: 471–472.

Martínez JG, JJ Soler, M Soler y T Burke. 1998. Spatial patterns of egg laying and multiple parasitisms in a brood parasite: a non-territorial system in the great spotted cuckoo (*Clamator glamdarius*). Oecologia 117: 286-294.

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

McLaren CM, SG Sealy, BE Woolfenden, y HL Gibbs. 2003. Genetic and temporal patterns of multiple parasitism by brown-headed cowbirds (*Molothrus ater*) on song sparrows (*Melospiza melodia*). Canadian Journal of Zoology 81: 281.

Mermoz ME y JC Reboreda. 2003. Reproductive success of shiny cowbird (*Molothrus bonariensis*) parasitizing the larger brown-and-yellow marsh bird (*Pseudoleistes virescens*) in Argentina. Auk 120: 1128–1139.

Moskat C, Z Barta, ME Hauber y M Honza. 2006. High synchrony of egg laying in common cuckoos (*Cuculus canorus*) and their great reed warbler (*Acrocephalus arundinaceus*) hosts. Ethology Ecology & Evolution 18: 159-167.

Moksnes A y E Røskaft. 1995. Egg-morphs and host preference in the common cuckoo (*Cuculus canorus*): an analysis of cuckoo and host eggs from European museum collections Journal of Zoology 236: 625–648.

Ortega C, JC Ortega y A Cruz. 1994. Use of artificial brown-headed cowbirds eggs as a potential management tool in deterring parasitism. Journal Wildlife Management 58: 488-492.

Ortega CP. 1998. Cowbirds and Other Brood Parasites. University of Arizona Press, Tucson, Arizona.

Payne R, BK Hustler, R Stjernstedt, KM Sefc y MD Sorenson. 2002. Behavioural and genetic evidence of a recent population switch to a novel host species in brood-parasitic indigo birds *Vidua chalybeata*. Ibis 144: 373–383.

Polačiková L, P Procházka, MI Cherry y M Honza. 2008. Choosing suitable hosts: common cuckoos *Cuculus canorus* parasitize great reed warblers *Acrocephalus arundinaceus* of high quality. Evolutionary Ecology 23: 879-891.

Queller DC, JE Strassmann y CR Hughes. 1993. Microsatellites and kinship. Trends in Ecology & Evolution, 8: 285–288

Rechten C, M Avery y A Stevens. 1983. Optimal prey selection: why do great tits show partial preferences? Animal Behaviour 31 576–584.

Rivers JW, S Young, EG Gonzalez, B Horton, J Lock y RC Fleischer. 2012. High levels of relatedness between brown-headed cowbird (*Molothrus ater*) nest mates in a heavily parasitized host community. Auk 129: 623-631.

Rueda-Cediel P, G Kattan y MP Ramírez-Pinilla. 2008. Ovarian and oviductal morphology of a brood parasitic bird, *Molothrus bonariensis* (Passeriformes, Icteridae). Acta Zoologica (Stockholm) 89: 261–276.

Sherman PW, HK Reeve y DW Pfennig. 1997. Recognition systems. En: Krebs, J. R. y Davies, N. B. eds. Behavioral Ecology. An evolutionary approach. 4° Edición, Blackwell, Oxford.

Smith BR, CM Herbingerand y HR Merry. 2001. Accurate partition of individuals into full-sib families from genetic data without parental information. Genetics 158: 1329–1338.

Smith JNM y IH Myers-Smith. 1998. Spatial variation in parasitism of song sparrows by brown-headed cowbirds. Pp. 296-312. In, Brood parasites and their hosts. Rothstein SI, SK Robinson, eds. Oxford University Press, New York.

Soler JJ, M Soler, AP Moller y JG Martinez. 1995. Does the great spotted cuckoo choose magpie hosts according to their parenting ability? Behavioral Ecology and Sociobiology 36: 201-206.

Soler M y T Pérez-Contreras. 2012. Location of suitable nests by great spotted cuckoos: an empirical and experimental study. Behavioral Ecology and Sociobiology 66: 1305-1310.

Sorenson MD y RB Payne. 2002. Molecular genetic perspectives on avian brood parasitism. Integrative and Comparative Biology42: 388-400.

Starling M, R Heinsohn, A Cockburn y NE Langmore. 2006. Cryptic gentes revealed in pallid cuckoos *Cuculus pallidus* using reflectance spectrophotometry. Proceedings of the Royal Society B 273: 1929–1934.

Strausberger BM. 1998. Temporal patterns of host availability, brown-headed cowbird parasitism, and parasite egg mass. Oecologia 116: 267-274.

Strausberger BM y MV Ashley. 2003. Breeding biology of brood parasitic brown-headed cowbirds (*Molothrus ater*) characterized by parent-offspring and sibling group reconstruction. Auk 120: 433-445.

Strausberger BM y MV Ashley. 2005. Host use strategies of individual female brown-headed cowbirds *Molothrus ater* in a diverse avian community. Journal of Avian Biology. 36: 313–321.

Teuschl Y, B Taborsky y M Taborsky. 1998. How do cuckoos find their hosts? The role of habitat imprinting. Animal Behavior 56: 1425–1443.

Trine CL. 2000. Effects of multiple parasitism on cowbird and wood thrush nesting success. In: Ecology and management of cowbirds and their hosts. (eds. Smith, JNM., TL Cook, SI Rothstein, GE Robinson y SG Sealy). Austin, U.S.A: University of Texas Press, pp. 135-155.

Tuero DT. 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. Universidad de Buenos Aires. Argentina

Tuero DT, VD Fiorini, B Mahler y Reboreda JC. 2012. Shiny cowbird *Molothrus bonariensis* egg size and chick growth vary between two hosts that differ markedly in body size. Journal of Avian Biology 43: 227-233.

Woolfenden BE, HL Gibbs, SG Sealy y DG Mc. Master. 2003. Host use and fecundity of individual female brown-headed cowbirds. Animal Behavior 66: 95–106.

CAPITULO 6

ESTUDIO DE LA CONSTANCIA A NIVEL INDIVIDUAL EN LOS PATRONES DE COLORACIÓN DE LOS HUEVOS DE TORDO RENEGRIDO

INTRODUCCIÓN

Existen muchas hipótesis que intentan explicar la enorme variación en el patrón de manchas y en la coloración de fondo entre los huevos de diferentes especies de aves e incluso entre las hembras de una misma especie. Las más tradicionales incluyen cripsis (Wallace 1890, Lack 1958), filtrado de la radiación solar (Montevechi 1976), aposematismo (Swynnerton 1916), estrategias que reducen la variabilidad dentro de la nidada para evitar predadores y/o parásitos de cría (ver revisión de Kilner 2006), o selección sexual (Moreno y Osorno 2003, Moreno y col. 2006, Hanley y Doucet 2009, Avilés y col. 2011) aunque esta última hipótesis se encuentra actualmente bajo debate (Cherry y Gosler 2010, Riehl 2011, Cassey y col. 2012, Stoddard y col. 2012).

En los sistemas parásitos de cría – hospedador, la interacción entre ambos es una de las principales fuerzas de selección que actúa sobre la variación en la apariencia de los huevos (Øien y col. 1995, Soler y Møller 1996, Lahti y Lahti 2002). El caso mejor estudiado es el del Cuclillo Común *Cuculus canorus*, que es generalista a nivel poblacional y presenta huevos con un alto grado de polimorfismo, pero donde las hembras de un linaje hospedador-específico ponen huevos muy similares entre sí y miméticos con los de su hospedador (Brooke y Davies 1988, Moksnes y Røskaft 1995, Gibbs y col. 2000, Avilés 2008, Stoddard y Stevens 2010). Este mimetismo surge de un proceso co-evolutivo en el que los hospedadores rechazan los huevos distintos a los propios y en respuesta a ello, en los parásitos se ve favorecida la evolución de huevos miméticos con los del hospedador (Davies 2011). Esta interacción implica la existencia de linajes hospedador-específicos, donde las hembras comparten el uso del hospedador y la coloración de sus huevos con sus madres (Gibbs y col. 2000). Sin embargo, este proceso es improbable en especies parásitas donde cada hembra utiliza más de una especie hospedadora, no existen linajes hospedador-específicos (Stokke y col. 2002), o los hospedadores no ejercen una presión de selección sobre la coloración de los huevos al no presentar comportamiento de rechazo de huevos parásitos.

En el caso del Tordo Renegrido, que presenta un alto grado de polimorfismo en el patrón de coloración de sus huevos tanto en el color de fondo como en el patrón de manchas (Fig. 6.1), se ha encontrado una diferenciación en el color y el tamaño de los huevos puestos en nidos de

calandria y ratona (de la Colina y col. 2010). Sin embargo, no se encontraron evidencias de mimetismo con los huevos de los hospedadores, lo cual sugiere que estas diferencias no surgirían por una presión de selección de las especies hospedadoras.

Figura 6.1: Huevos de Tordo Renegrido colectados en el sitio de estudio.

A pesar del alto grado de polimorfismo a nivel poblacional, se ha sugerido que cada hembra de tordo pone huevos en apariencia muy similares entre sí (Hudson 1874, Kattan 1997, Lyon 1997). Esto se ha demostrado para otras especies de aves, donde se encontró que el patrón de coloración de los huevos de cada hembra es constante a lo largo de su vida (Collias 1993, Fleischer 1985, Dufty 1983, Gosler y col. 2000). Sobre esta base, otros estudios han demostrado que por medio de comparaciones visuales se pueden agrupar los huevos puestos por una misma hembra con la precisión suficiente como para investigar las estrategias individuales de puesta en diferentes especies parásitas de cría (Gibbons 1986, Jackson 1992, Lyon 1993a, b, McRae y Burke 1996, Fleischer 1985). Estudios recientes han utilizado herramientas moleculares para la asignación de huevos a las hembras parásitas, corroborando la constancia en los patrones individuales de coloración (Langmore y col. 2007, Moksnes y col. 2008).

El objetivo de este trabajo fue estudiar la coloración de los huevos de las hembras de Tordo Renegrido, mediante técnicas espectrofotométricas y análisis de fotografías digitales, y analizar la similitud de los huevos asignados genéticamente a la misma hembra en cuanto al color de fondo y al patrón de manchas. Los resultados de este trabajo conforman la primera evidencia directa sobre el patrón individual de coloración de los huevos en las hembras de Tordo Renegrido.

MÉTODOS

Para los análisis de coloración se incluyeron las hembras con huevos asignados para la temporada 2008. Se estudiaron los siguientes aspectos de los huevos: 1) la coloración, por medio de un análisis espectrofotométrico, 2) el patrón de manchas, por medio de un análisis de fotografías, y 3) la morfometría, con las medidas del largo y ancho máximo de cada huevo, tomadas con un calibre con un error de 0,1 mm.

Análisis espectrofotométrico

El color puede caracterizarse por tres propiedades: brillo, tono y croma. El brillo es la cantidad de luz reflejada dentro del rango espectral sensible para cada organismo, el tono es la longitud de onda que presenta mayor reflectancia y es el atributo que diferencia el color, y el croma es la intensidad cromática o pureza de un color. El croma es la medida de saturación espectral del color e indica qué porción de las ondas reflejadas, o sea el brillo, se da en las longitudes de onda cercanas al tono.

La coloración de cada huevo fue cuantificada con un espectrofotómetro Ocean Optics 2000 (Ocean Optics, Inc., Dunedin, Florida). Este dispositivo posee una sonda de fibra óptica que ilumina la superficie con una fuente de luz de xenón pulsátil PX-2 (con un rango de transmisión efectivo de 220 a 750 nm) y toma las medidas de reflectancia con una resolución de 0.35 nm. El extremo de la fibra se colocó en un tubo de goma negro manteniendo constante tanto la distancia de medición entre la superficie de la cáscara del huevo y el extremo de la fibra (22 mm ± 0.1 mm), como el ángulo de apoyo (90° respecto de la superficie). Cada medición se tomó en un área de 6 mm de diámetro calibrando antes de la medición de cada huevo con un blanco estándar, correspondiente a una muestra de sulfato de bario siguiendo el protocolo de Osorio y Ham (2002), y con un negro estándar que se obtuvo apagando la fuente de luz. Se trabajó con los datos espectrales entre los 350 y 700 nm. Aunque el rango entre los 300 y 350 nm es relevante para la percepción de las aves, se excluyeron estos valores de reflectancia por presentar ruido en las mediciones. Para los análisis se redujeron los datos de cada espectro de 1147 a 138 valores, calculando la mediana para intervalos de 3 nm (Cuthill y col. 1999).

Sobre cada huevo se realizaron 9 mediciones: 3 sobre la parte central, 3 sobre el polo menor y 3 sobre el polo mayor. Para los análisis se utilizó el espectro resultante del promedio de estas 9 mediciones.

Análisis de las imágenes fotográficas

Se tomaron cuatro fotografías de cada huevo utilizando una cámara Nikon Coolpix 4500: dos laterales opuestos, el polo menor y el polo mayor. Evaluando en su conjunto las tres regiones fotografiadas, se le asignó una categoría a cada huevo para tres características, según el procedimiento descripto por Gosler y col. (2000 y 2005):

1) intensidad en el color de las manchas (0-5): el cero corresponde a la ausencia de manchas y los valores van aumentando desde manchas pálidas a manchas intensas (Fig. 6.2 a).

2) distribución de las manchas (0-5): a los huevos inmaculados se les asignó el cero y los valores aumentan con una distribución más uniforme de las manchas. Se asigna el valor 1 cuando más del 80% de las manchas se encuentran concentradas en el polo mayor y 5 cuando las manchas se encuentran uniformemente distribuidas (Fig. 6.2 b).

3) tamaño de las manchas (0-3): el cero corresponde a la ausencia de manchas asignándose el mayor valor a manchas más grandes (Fig. 6.2 c).

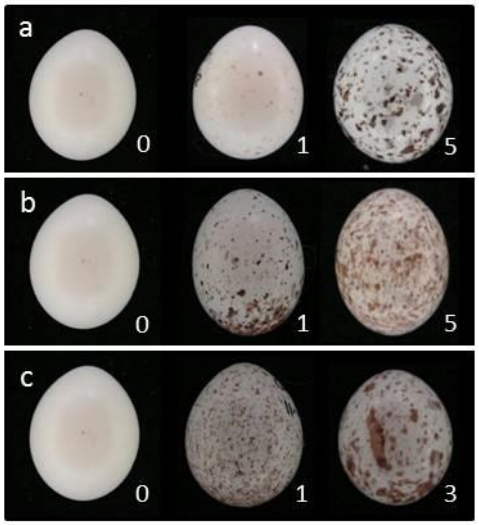

Figura 6.2: Rango para cada característica del patrón de manchas. a) Intensidad del color de la mancha, b) distribución de las manchas, y c) tamaño de las manchas.

Análisis estadísticos

Como cada uno de los espectros de los huevos obtenidos consiste en muchas variables dependientes, se realizó un PCA (Análisis de Componentes Principales). El primer factor de los componentes principales (PC1) de un espectro de reflectancia de objetos naturales describe típicamente la variación media del espectro, que se correlaciona principalmente con el brillo (Endler 1990, Endler y Théry 1996), mientras que los otros factores representan la variación en la forma del espectro, que se correlaciona con el tono y el croma (Cuthill y col. 1999).

Para estudiar la similitud en la coloración de los huevos puestos por cada hembra, se realizó un PCA incorporando las variables espectrofotométricas, morfométricas y del patrón de manchas. Se graficaron los valores de cada huevo para los componentes extraídos (componentes con autovalores mayores a 1, Francis y Will 1999) y se analizó el agrupamiento de los huevos de una misma hembra en el espacio. Además se realizó un análisis de conglomerados, de manera de agrupar los huevos en grupos homogéneos en función de las similitudes entre ellos. No se incluyeron las hembras de las cuales se tenían datos de un único huevo. Se utilizó la distancia

euclídea como medida de similitud entre los factores obtenidos del PCA. Se aplicó el método de agrupamiento jerárquico y se utilizó el método de encadenamiento por promedios. Todos los análisis se realizaron con el programa InfoStat v.2012 (Di Rienzo y col. 2012).

RESULTADOS

Para la temporada reproductiva 2008 se pudo asignar más de un huevo a once hembras (Capítulo 4). La figura 6.3 muestra los huevos de cada hembra, con un mínimo de dos huevos asignados (hembras 1, 2, y 3) y un máximo de siete (hembra 10). Seis huevos debieron ser excluidos del análisis: 2 por no haber podido ser fotografiados (un huevo de la hembra 6 y otro de la hembra 11) y 4 de los que no pudieron tomarse medidas espectrofotométricas (hembras 2, 3, 8 y 10).

El PCA realizado del análisis de los espectros de los huevos arrojó tres factores que explican el 99% de la variación. El primer componente principal (CP 1) explicó el 95% de la variación y estuvo asociado en forma positiva a todas las longitudes de onda, siendo de esta forma un buen estimador del brillo. El CP 2 explicó el 4% de la variación y estuvo asociado en forma positiva con las longitudes de onda entre 600 y 700 nm, explicando de esta forma el componente rojo del color, mientras que el CP 3 explicó solamente el 1% de la variación por lo cual no fue considerado para los análisis posteriores.

La figura 6.4 muestra el espectro de reflectancia promedio para los huevos de cuatro hembras. Se puede observar que los huevos inmaculados de la hembra 4 son los que presentan mayor brillo y no muestran el patrón de reflectancia característico de las manchas, pigmentadas por porfirinas (Kennedy y Vevers 1976, Solomon 1987, Cassey y col. 2012), en el rango rojo del espectro (600 – 700 nm). Los huevos más uniformemente manchados, como los de las hembras 9 y 11, presentan niveles menores de brillo y mayor cromaticidad en el rojo.

Del PCA que incluyó siete variables tomadas de los huevos (CP1 y CP2 del análisis espectrográfico, largo y ancho de los huevos y tres variables asociadas a las manchas) se extrajeron tres componentes principales que explican el 72% de la variación entre los huevos (Tabla 6.1). Para el primer componente principal las variables que presentan un mayor aporte a la varianza explicada (34%) son la intensidad y el tamaño de las manchas, mientras que para el segundo componente la variación (23%) está mayormente asociada a la cromaticidad en el rojo (CP2 resultante del PCA de coloración). Para el tercer factor, el mayor aporte a la varianza explicada (15%) está dado por el ancho de los huevos.

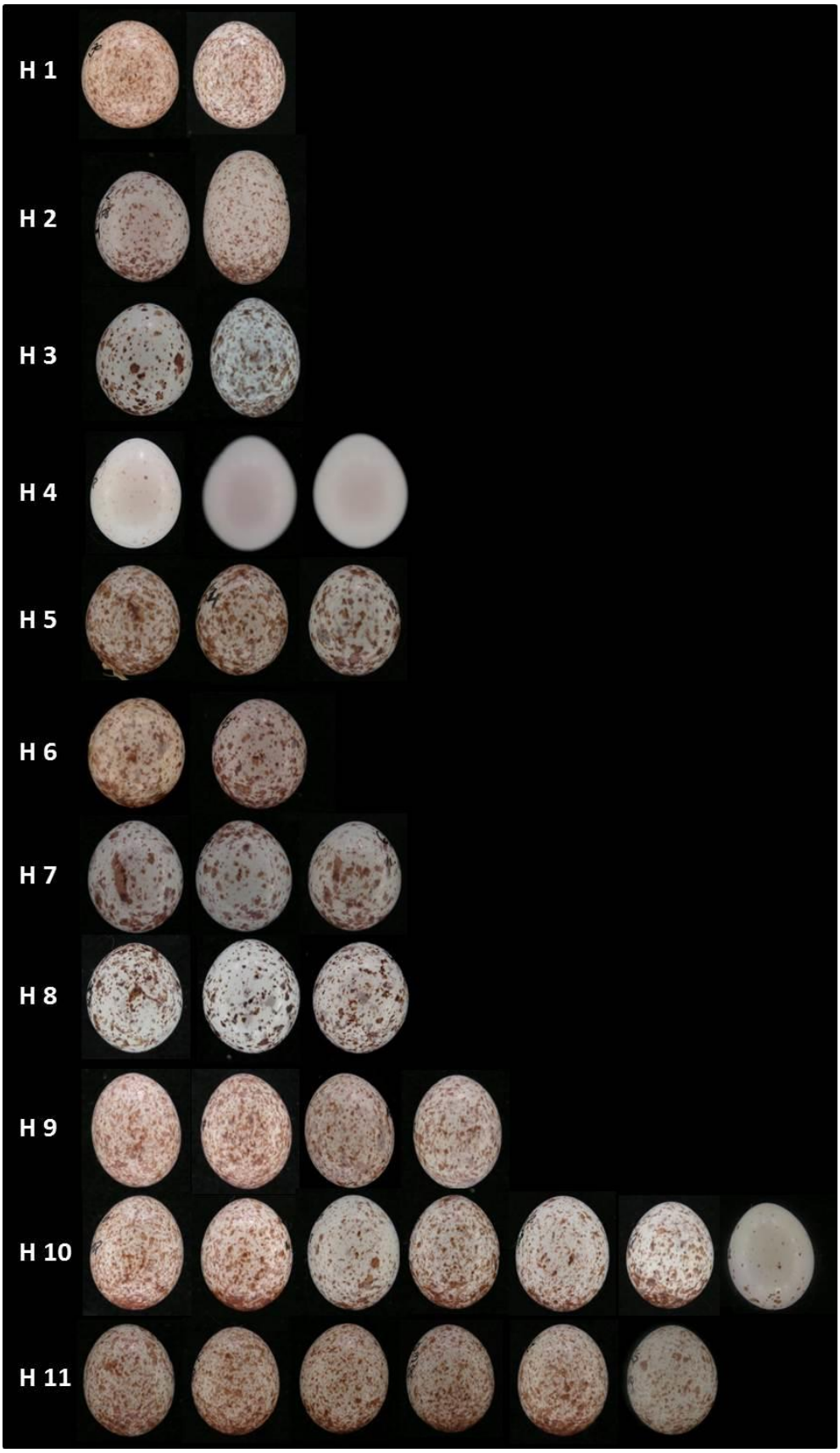

Figura 6.3: Fotografías de los huevos asignados a once hembras para la temporada reproductiva 2008.

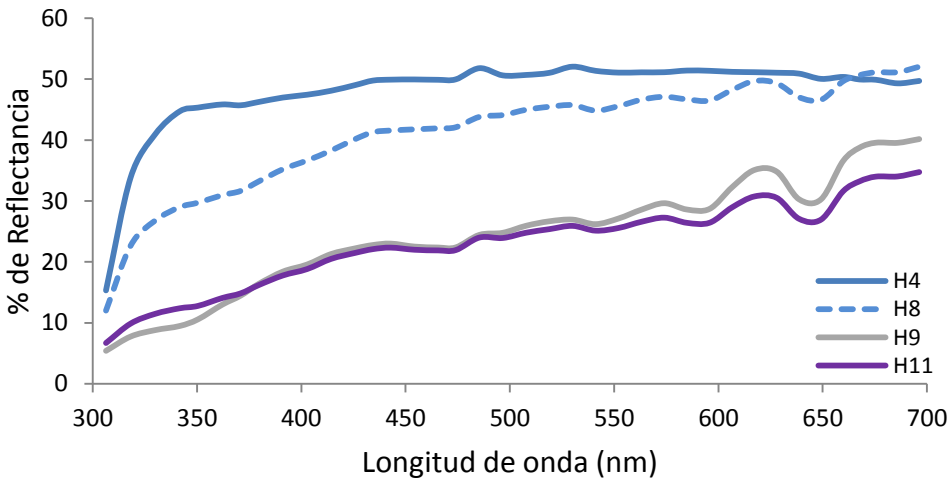

Figura 6.4: Espectros de reflectancia promedio de huevos asignados a cuatro hembras: H4 (línea entera azul), H8 (línea punteada azul), H9 (línea lisa gris) y H11 (línea lisa violeta).

Tabla 6.1: Resultados del análisis de componentes principales con las siete variables medidas sobre los huevos asignados a once hembras de Tordo Renegrido para la campaña 2008. Se detalla el aporte de cada variable a los tres primeros componentes principales (CP1-CP3) y el porcentaje de variación explicado por cada componente.

Variables	**CP1**	**CP2**	**CP3**
CP 1 del análisis espectral (brillo)	-0,45	0,24	0,12
CP 2 del análisis espectral (cromaticidad en el rojo)	0,08	0,64	-0,33
Largo	-0,34	0,40	0,00
Ancho	-0,11	0,43	0,71
Intensidad de la mancha	0,53	0,11	0,40
Distribución de las manchas	0,27	0,41	-0,45
Tamaño de las manchas	0,55	0,13	0,13
% Varianza Explicada	**34**	**23**	**15**

La figura 6.5 representa la distribución espacial de los 33 huevos pertenecientes a las once hembras para los tres componentes principales. En general, se observa una agrupación espacial de los huevos de una misma hembra, indicando una similitud morfológica de los huevos de cada hembra. Para las hembras 9, 10 y 11 los huevos están más ampliamente distribuidos en el espacio. Esto correspondería a una mayor variabilidad en su morfología (Fig. 6.3). Por otro lado, se observa un solapamiento de los huevos pertenecientes a diferentes hembras, lo que estaría asociado a una morfología similar entre sus huevos.

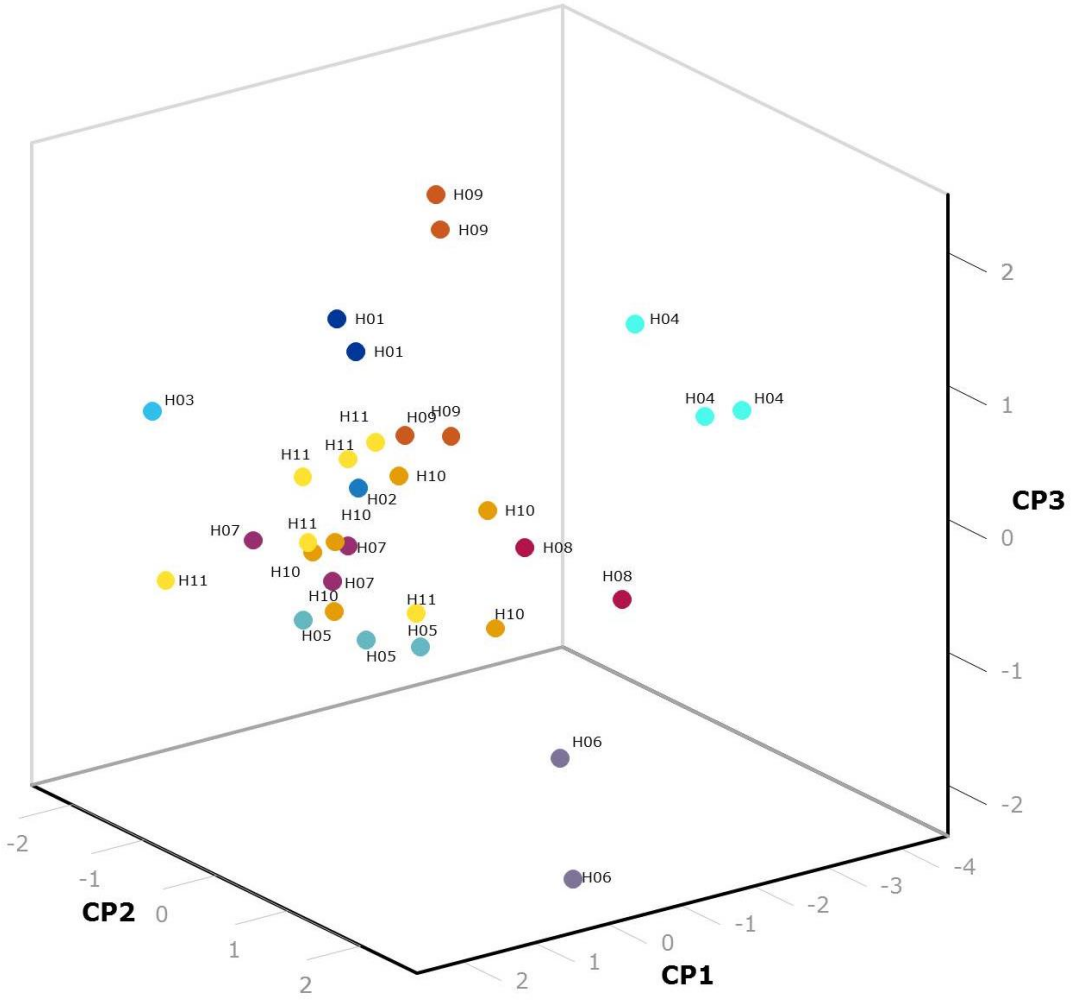

Figura 6.5: Distribución espacial de los huevos para los tres componentes principales extraídos de siete variables morfológicas. Los huevos pertenecientes a cada hembra (H01-H11) están identificados con diferentes colores.

Resultados similares se obtuvieron con el análisis de conglomerados (Fig. 6.6), donde se observa una agrupación absoluta por similitud morfológica para los huevos de cuatro hembras (H04, H05, H06 y H08), indicando una menor variabilidad entre sus huevos. Para la hembra H09 los huevos quedaron agrupados junto a otros dos huevos pertenecientes a otras hembras y para tres hembras la agrupación fue parcial (H07, H10 y H11). Esto indicaría que existe superposición en los morfos. Contrariamente a lo observado en la distribución espacial de la figura 6.5, los huevos de la hembra H01 no quedaron agrupados.

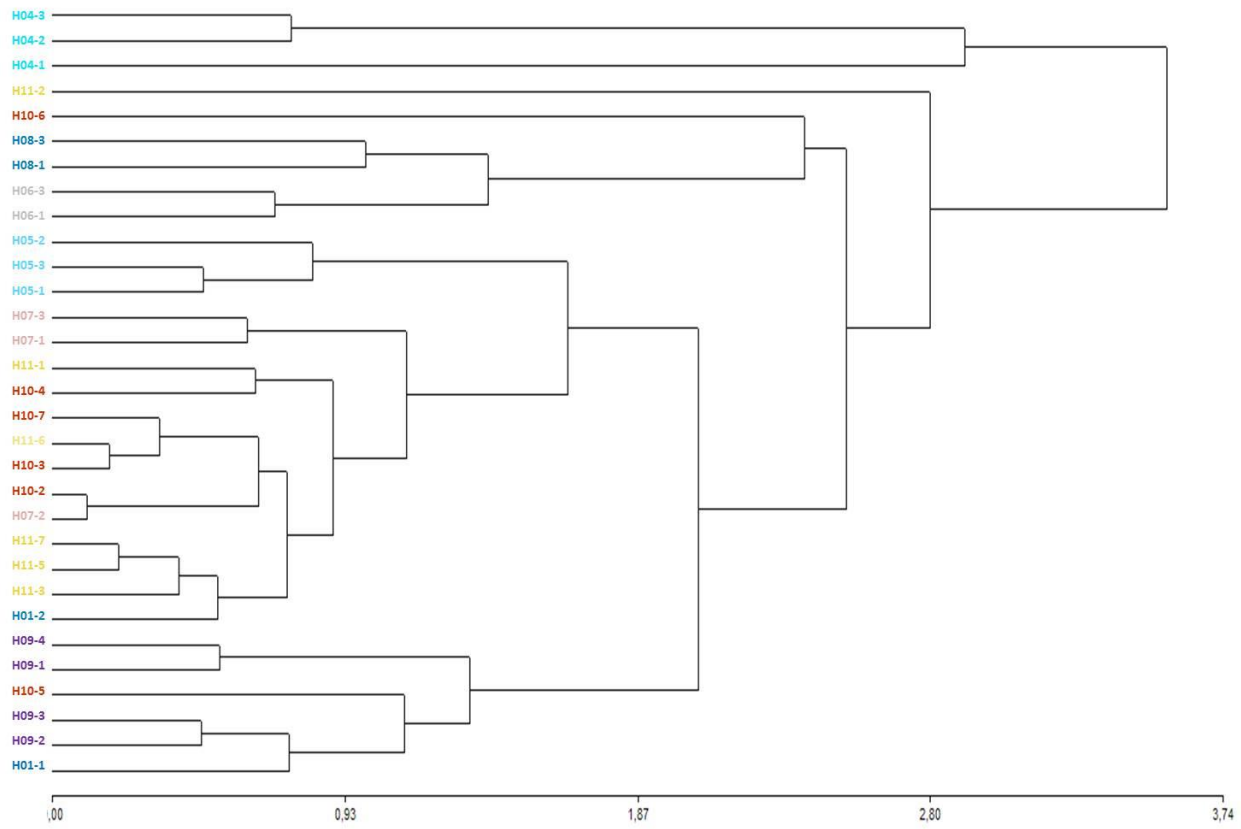

Figura 6.7: Agrupación resultante del análisis de conglomerados. Los huevos pertenecientes a cada hembra (H01-H11) están identificados con diferentes colores.

DISCUSIÓN

Los resultados muestran que existe una similitud entre los huevos pertenecientes a una misma hembra de Tordo Renegrido tanto en la coloración como en el tamaño de sus huevos. Estos resultados apoyan lo encontrado en otras especies de aves (Collias 1993, Fleischer 1985, Dufty 1983, Gosler y col. 2000, Christians 2002, Langmore y col. 2007, Moksnes y col. 2008).

La consistencia en el patrón de coloración de los huevos puestos por una hembra fue confirmada utilizando herramientas moleculares en diferentes especies parásitas como el Tordo Cabeza Marrón (Fleischer 1985) y en diversas especies de cuclillos (Jones y col. 1997, Langmore y col 2007, Moksnes y col. 2008). En todos estos casos también se encontró una consistencia en el tamaño de los huevos. Comparado con otros rasgos, el tamaño es el que posee menor tendencia a variar entre los huevos de una misma hembra. Tanto la heredabilidad como la repetibilidad del tamaño son altas para la mayoría de las especies estudiadas (Christians 2002) aunque todavía se desconocen las restricciones fisiológicas (además del diámetro del oviducto) y la base genética que afectan esta característica (Christians 2002, Wheelwright y col. 2012).

Estudios previos que analizaron la base genética de la coloración de los huevos de las aves han reportado una herencia materna del patrón de manchas (Gibbs y col. 2000, Gosler y col. 2000) y autosómica de la coloración de fondo (Hutt 1949, Collias 1993, Marchetti y col. 1998). Sin embargo, datos previos en el Tordo Renegrido no sustentan la herencia materna del patrón de manchas de sus huevos (Mahler y col. 2008, de la Colina y col. 2010). Kilner (2006) sugirió que esta característica es controlada por un locus autosómico con dos alelos (presencia o ausencia de manchas), siendo el morfo intermedio el fenotipo para los huevos heterocigotas. En cambio, los patrones encontrados para el tamaño y el color de fondo resultan compatibles con una herencia materna de estos caracteres (Mahler y col. 2008, de la Colina y col. 2010).

De este modo, el patrón de coloración de la cáscara de los huevos de cada hembra estaría dado por una combinación particular de genes, aunque también se ha propuesto que factores ambientales como la disponibilidad de calcio pueden afectar el patrón de manchas en los huevos (Gosler y col. 2005, Avilés y col. 2007). La protoporfirina depositada en las manchas (Kennedy y Vevers 1976, Solomon 1987) compensaría el déficit de calcio y el consecuente adelgazamiento de la cáscara (Solomon 1991, Jagannath y col. 2008, Gosler y col. 2011) e incluso podría aumentar su resistencia a quebraduras (Gosler y col. 2011). Esto parecería ser válido en aquellas especies donde el pigmento se presenta incorporado dentro de la estructura de la cáscara y no superficialmente aplicado en la capa externa (Spark 2011, Stoddard y col. 2012).

Los huevos asignados a las once hembras muestran un patrón de manchas constante, con un tamaño de la mancha y una disposición similar sobre el huevo (Fig 6.3). Una excepción son las hembras 4 y 10, donde aparecen huevos con el morfo intermedio para un patrón blanco inmaculado y manchado, respectivamente. Esta variación podría estar dada por la deposición de calcio en la cáscara, que en un caso podría verse disminuida y en otro aumentada respecto al resto de los huevos pertenecientes a la misma hembra. Sin embargo, no podemos descartar la presencia de protoporfirina en los huevos inmaculados, ya que ésta puede encontrarse integrando las capas más internas de la cáscara (Spark 2011) y de esta forma estar presente estructuralmente en cáscaras de huevos que en apariencia se ven blancos (Baird y col. 1975, Kennedy y Vevers 1976, Cassey y col. 2012). De todas formas, el efecto del ambiente en los huevos de las hembras de tordo se daría en casos aislados, preponderando un patrón constante de coloración en los huevos de cada una. En un trabajo reciente que se realizó en nuestra zona de estudio, donde se marcaron las hembras y fueron filmadas durante la puesta en el nido del hospedador, Gloag y col. (*enviado*) también encontraron una coloración característica para los huevos de cada hembra.

Basados en las características de los huevos, diversos estudios han inferido la utilización de nidos de especies hospedadoras por parte del Tordo Renegrido (Kattan 1997, Lyon 1997). Sin embargo, los resultados del presente estudio muestran que esta metodología podría sobreestimar los huevos asignados a una misma hembra, dado que los patrones de coloración entre huevos de distintas hembras pueden superponerse (Fig. 6.5). A pesar de que los huevos puestos por cada hembra presentan una coloración constante, éstos no siempre pueden diferenciarse de aquellos puestos por otra hembra. Un resultado similar ha sido obtenido para algunos cuclillos (Langmore y col. 2007, Moksnes y col. 2008), para los cuales se encontraron morfos similares e indistinguibles en huevos puestos por distintas hembras. De esta manera, el estudio de las estrategias de parasitismo basándose únicamente en las comparaciones visuales de la apariencia de los huevos estaría limitado a solamente algunos aspectos del parasitismo, tales como el número mínimo de hembras que parasitan un territorio o, en el caso de parasitismo múltiple, un nido.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Avilés JM, BG Stokke, A Moksnes, E Røskaft y AP Møller. 2007. Environmental conditions influence egg color of reed warblers *Acrocephalus scirpaceus* and their parasite, the common cuckoo *Cuculus canorus*. Behavioral Ecology and Sociobiology 61: 475–485.

Avilés JM. 2008. Egg colour mimicry in the common cuckoo *Cuculus canorus* as revealed by modelling host retinal function. Proceedings of the Royal Society of London B 275: 2345–2352.

Avilés JM, JJ Soler y NS Hart. 2011. Sexual selection based on egg colour: physiological models and egg discrimination experiments in a cavity-nesting bird. Behavioral Ecology and Sociobiology 65: 1721–1730.

Baird T, SE Solomon y DR Tedstone.1975. Localization and characterization of egg shell porphyrins in several avian species. British Poultry Science 16: 201–208.

Brooke MdeL y NB Davies. 1988. Egg mimicry by cuckoos, *Cuculus canorus*, in relation to discrimination by hosts. Nature 335: 630-632.

Cassey P, GH Thomas, SJ Portugal, G Maurer, ME Hauber, T Grim, PG Lovell e I Mikšík. 2012. Why are birds' eggs colourful? Eggshell pigments co-vary with life-history and nesting ecology among British breeding non-passerine birds. Biological Journal of the Linnean Society: 106: 657–672

Cherry MI y AG Gosler. 2010. Avian eggshell colouration: new perspectives on adaptive explanations. Biological Journal of the Linnean Society 100: 753– 762.

Christians J K. 2002. Avian egg size: variation within species and inflexibility within individuals. Biological Reviews 77: 1–26.

Collias EC. 1993. Inheritance of egg-color polymorphism in the village weaver (*Ploceus cucullatus*). Auk 110:683–692

Cuthill IC, ATD Bennett, JC Partridge, EJ Maier.1999. Plumage reflectance and the objective assessment of avian sexual dichromatism. American Naturalist 153: 183–200.

Davies NB. 2011. Cuckoo adaptations: Trickery and tuning. Journal of Zoology 284:1-14

de la Colina MA, B Mahler y JC Reboreda. 2010. Differences in morphology and colour pattern of shiny cowbird (*Molothrus bonariensis*) eggs found in nests of two hosts. Biological Journal of Linnean Society 102:838–845.

Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M y CW Robledo. 2012. InfoStat versión 2012. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL http://www.infostat.com.ar

Dufty AMJr.1983. Variation in the egg markings of the brown-headed cowbird. Condor 85: 109–111.

Endler J. 1990. On the measurement and classification of colour in studies of animal colour patterns. Biological Journal of Linnean Society 41: 315–352.

Endler JA y M Théry. 1996. Interacting effects of lek placement, display behavior, ambient light, and color patterns in three Neotropical forest-dwelling birds. American Naturalist 148: 421–452.

Fleischer RC. 1985. A new technique to identify y assess the dispersion of eggs of individual brood parasites. Behavioral Ecology y Sociobiology 17: 91–99.

Francis PJ y BJ Wills. 1999. Introduction to Principal Components Analysis, ASP. Conference Series 162: 363

Gibbons DW. 1986. Brood parasitism and cooperative nesting in the moorhen, *Gallenula chloropus*. Behavioral Ecology and Sociobiology 19: 221–232.

Gibbs HL, MD Sorenson, K Marchetti, MdeL Brooke, NB Davies y H Nakamura. 2000. Genetic evidence for female host-specific races of the common cuckoo. Nature 407: 183-186.

Gosler AG, PR Barnett y SJ Reynolds. 2000. Inheritance y variation in eggshell patterning in the great tit *Parus major.* Proceedings of the Zoological Society of London 267: 2469-2473.

Gosler AG, Higham JP, Reynolds SJ. 2005. Why are birds' eggs speckled? Ecology Letters8: 1105–1113.

Gosler AG, R Oliver, OR Connor y RHC Bonser. 2011. Protoporphyrin and eggshell strength: preliminary findings from a passerine bird. Avian Biology Research 4: 214–223.

Gloag R, VD Fiorini, JC Reboreda y A Kacelnik (*enviado*) Shiny cowbirds share nests, but not mothers, in multiply parasitized mockingbird broods.

Hanley D y S Doucet. 2009. Egg coloration in ring-billed gulls (*Larus delawarensis*): a test of the sexual signaling hypothesis. Behavioral Ecology and Sociobiology 63: 719– 729.

Hudson WH. 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.

Hutt FB. 1949. Genetics of the Fowl. McGraw–Hill, New York.

Jackson WM. 1992. Estimating conspecific nest parasitism in the northern masked weaver based on within-female variability in egg appearance. Auk: 109: 435–443.

Jagannath A, RF Shore, LA Walker, PN Ferns y AG Gosler. 2008. Eggshell pigmentation indicates pesticide contamination. Journal of Applied Ecology 45: 133– 140.

Jones DA, HL Gibbs, T Matsuda, MD Brooke, H Ukida y MJ Bayliss. 1997. The use of DNA fingerprinting to determine the possible mating system of an obligate brood parasitic bird, the Cuckoo *Cuculus canorus.* Ibis 139:560-562.

Kattan GH. 1997. Shiny cowbirds follow the 'shotgun' strategy of brood parasitism. Animal Behavior 53: 647–654.

Kilner RM. 2006. The evolution of egg colour and patterning in birds. Biology Review 81:383–406.

Kennedy GY y HG Vevers. 1976. A survey of avian eggshell pigments. Comparative Biochemistry and Physiology B 55: 117–123.

Lack D. 1958.The significance of the colour of Turdine eggs. Ibis 100: 145–166.

Lahti DC y AR Lahti. 2002. How precise is egg discrimination in weaverbirds? Animal Behaviour 63: 1135-1142.

Langmore NE, GJ Adcock y RM Kilner. 2007. The spatial organization and mating system of Horsfield's bronze-cuckoos, *Chalcites basalis*. AnimalBehavior 74: 403-412.

Lyon BE. 1993a. Conspecific brood parasitism as a flexible female reproductive tactic in American coots. Animal Behavior 46: 911–928.

Lyon BE. 1993b. Tactics of parasitic American coots: host choice and the pattern of egg dispersion among host nests. Behavioral Ecology and Sociobiology 33: 87–100.

Lyon BE. 1997. Spatial patterns of shiny cowbird brood parasitism on chestnut-capped blackbirds. Animal Behaviour 54: 927-939

Mahler B, VA Confalonieri, IJ Lovette y JC 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: 1918-1933.

Mahler B, VA Confalonieri, IJ Lovette y JC Reboreda. 2008. Eggshell spotting in brood parasitic shiny cowbirds (*Molothrus bonariensis*) is not linked to the female sex chromosome. Behavioral Ecology and Sociobiology 62: 1193–1199.

Marchetti K, HL Gibbs y H Nakamura. 1998. Host-race formation in the common cuckoo. Science 282: 471–472.

McRae SB y T Burke. 1996. Intraspecific brood parasitism in the moorhen: parentage and parasite– host relationships determined by DNA fingerprinting. Behavioral Ecology and Sociobiology 38: 115–129.

Moksnes A y E Røskaft. 1995. Egg-morphs and host preference in the common cuckoo (*Cuculus canorus*): an analysis of cuckoo and host eggs from European museum collections. Journal of Zoology 236: 625–648.

Moksnes A, E Røskaft, G Rudolfsen, S Skjelseth, BG Stokke, O Kleven, HL Gibbs, M Honza, B Taborsky, Y Teuschl, W Vogl y M Taborsky. 2008. Individual female common cuckoos *Cuculus canorus* lay constant egg types but egg appearance cannot be used to assign eggs to females. Journal of Avian Biology 39: 238–241.

Montevechi WA. 1976. Field experiments on the adaptive significance of avian eggshell pigmentation. Behaviour 58: 26–39.

Moreno J y JL Osorno. 2003. Avian egg colour and sexual selection: does eggshell pigmentation reflect female condition and genetic quality? Ecology Letters 6: 803–806.

Moreno J, E Lobato, J Morales, S Merino, G Tomas, J Martínez-de la Puente, JJ Sanz, R Mateo y JJ Soler. 2006. Experimental evidence that egg color indicates female condition at laying in a songbird. Behavioral Ecology 17: 651–655.

Øien IJ, A Moksnes y E Røskaft. 1995. Evolution of variation in egg color and marking pattern in European passerines: adaptations in a coevolutionary arms race with cuckoo, *Cuculus canorus*. Behavioral Ecology 6: 166-171

Osorio D y AD Ham. 2002. Spectral reflectance y directional properties of structural coloration in bird plumage. Journal of Experimental Biology 205: 2017-2027.

Riehl C. 2011. Paternal investment and the 'sexually selected hypothesis' for the evolution of eggshell coloration: revisiting the assumptions. The Auk 128: 175–179.

Soler JJ y AP Møller. 1996. A comparative analysis of the evolution of variation in appearance of eggs of European passerines in relation to brood parasitism. Behavioral Ecology 7: 89-94.

Solomon SE. 1987. Egg shell pigmentation. In: Wells RG, Belyarin CG, eds. Egg quality – current problems and recent advances. London: Butterworths, 147–157.

Soloman SE. 1991. Egg and eggshell quality. Wolfe Publishing Ltd, London.

Sparks NHC. 2011. Eggshell pigments from formation to deposition. Avian Biology Research 4: 162–167.

Stoddard MC y M Stevens. 2010. Pattern mimicry of host eggs by the common cuckoo, as seen through a bird's eye. Proceedings of the Royal Society of LondonB277: 1387-1393.

Stoddard MC, AL Fayet, RM Kilner y CA Hinde. 2012. Egg speckling patterns do not advertise offspring quality or influence male provisioning in Great Tits. PLoS ONE 7(7): e40211. doi:10.1371/journal.pone.0040211

Stokke BG, A Moksnes y E Røskaft. 2002. Obligate brood parasites as selective agents for evolution of egg appearance in passerine birds. Evolution 56:199–205

Swynnerton CF. 1916. On the coloration of the mouths and eggs of birds. II On the coloration of eggs. Ibis 4: 529–606.

Wallace AR. 1890. Darwinism: an exposition of the theory of natural selection with some of its applications. London: Macmillan.

Wheelwright NT, ES Graff y DR Norris. 2012. Relative consistency in size, shape, and coloration of savannah sparrow eggs within and between breeding seasons. Condor 114: 412-20.

CAPÍTULO 7

ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DEL POLIMORFISMO DEL HUEVO PARÁSITO EN EL COMPORTAMIENTO DE RECONOCIMIENTO Y RECHAZO DE UN HOSPEDADOR CON RECHAZO PARCIAL, LA CALANDRIA GRANDE

NOTA: *Parte de los resultados presentados en este capítulo se encuentra publicado en:*

de la Colina MA, L Pompilio, ME Hauber, JC Reboreda y B Mahler. 2012. Different recognition cues reveal the decision rules used for egg rejection by hosts of a variably mimetic avian brood parasite. Animal Cognition 15: 881-889.

INTRODUCCIÓN

Para contrarrestar los costos que impone el parasitismo (Øien y col. 1998, Payne y Payne 1998, Hauber 2002, 2003, Hoover 2003, Reboreda y col. 2003), los hospedadores pueden desarrollar defensas antiparasitarias (Rothstein y Robinson 1998, Schulze-Hagen y col. 2009, Davies 2011, Kilner y Langmore 2011). La defensa más frecuente es el rechazo del huevo parásito (Rothstein 1990, Davies 2000, Peer y Sealy 2004, Davies 2011, Kilner y Langmore 2011, Grim y col. 2011). Aunque algunas especies de hospedadores rechazan todos los huevos que no son propios (Vikan y col. 2009), otras son rechazadoras imperfectas y rechazan solamente algunos o no rechazan ningún huevo no propio (Stokke y col. 2005, Moskat y Hauber 2007). En teoría, existe en todas las habilidades cognitivas un umbral de reconocimiento que permite discriminar entre fenotipos aceptables y no aceptables, lo cual determinaría la decisión de rechazo utilizada por el hospedador frente a una distribución de claves de disimilitud de huevos propios vs. huevos no propios (llamado umbral de aceptación co-específica, Reeve 1989, McLean y Maloney 1998, Servedio y Lye 2003, Servedio y Hauber 2006). Esto, a su vez, favorece en el parásito la evolución de huevos que no son reconocidos por el hospedador (Brooke y Davies 1988, Moksnes y Røskaft 1995, Gibbs y col. 2000, Avilés 2008, Stoddard y Stevens 2010). Evidencia experimental recolectada de diferentes hospedadores muestra que las claves visuales de los huevos que conducen al rechazo están relacionadas con características que dependen no solamente de la capacidad de percepción particular del individuo (Bowmaker y col. 1997, Holen y Johnstone 2004, Cassey y col. 2008, Safran y Vitousek 2008, Stoddard y Stevens 2010, 2011) sino también de las características lumínicas, determinadas por el tipo de nido y el ambiente (Avilés y col. 2005, Langmore y col. 2005, Honza y col. 2011). Los hospedadores utilizarían las claves más confiables para tomar la decisión de rechazo (Spottiswoode y Stevens 2010). Los atributos de los huevos documentados de provocar el rechazo del hospedador

incluyen el tamaño (Marchetti 2000), el patrón de manchas (Lahti y Lahti 2002, López de Hierro y Moreno-Rueda 2010), el brillo total (Lahti 2006), el color de fondo (Moskát y col. 2008a) y la reflectancia en el ultravioleta (UV) (Honza y col. 2007, Honza y Polačiková 2008, pero ver Avilés y col. 2006), aunque algunos hospedadores pueden integrar varias características diferentes del huevo (Rothstein 1982, Spottiswoode y Stevens 2010). La discriminación puede depender de la presencia de estas señales en toda la cáscara del huevo o bien de su presencia en solamente una región específica del huevo (Polačiková y Grim 2010, Polačiková y col. 2011). Se ha mostrado que el comportamiento de rechazo puede ser flexible y que los cambios contexto-dependientes del umbral de aceptación son frecuentes entre algunos hospedadores que rechazan huevos parásitos (Lindholm 2000, Hauber y col. 2006, pero ver Vikan y col. 2009).

El objetivo general de este trabajo fue estudiar el comportamiento de rechazo de huevos de tordo en calandria, el hospedador principal de la zona de estudio, y analizar cómo afecta el rechazo el polimorfismo presente en los huevos del Tordo Renegrido.

Evaluación de los atributos relevantes utilizados por la calandria para aceptar/rechazar un huevo parásito

Uno de los objetivos particulares de este trabajo fue estudiar el rol específico y relativo de las claves fenotípicas utilizadas por la calandria para reconocer los huevos del Tordo Renegrido. Mientras algunos hospedadores del tordo rechazan todos los huevos parásitos (Mason 1986), otros son aceptadores y no rechazan ninguno, y un tercer grupo, incluyendo a la calandria, son rechazadores parciales o intermedios, rechazando solamente algunos huevos. Del alto polimorfismo que presentan los huevos de tordo (ver capítulos anteriores) la calandria acepta todos los tipos de huevos manchados pero rechaza los inmaculados (Fraga 1985, Mason 1986, Sackmann y Reboreda 2003). Este comportamiento de rechazo parcial (o intermedio, *sensu* Røskaft y col. 2002b, Moskat y col. 2010, Samaš y col. 2011) permite estudiar cuál de los atributos del huevo parásito conduce al rechazo del huevo. Sobre esta base se estudió cómo la presencia de manchas, la reflectancia en el UV y el brillo total afectan la probabilidad de que un huevo parásito sea rechazado por la calandria. Los diseños experimentales entre individuos, como se han realizado en estudios previos, no permiten revelar si la variación en la respuesta de rechazo a nivel poblacional refleja una variación propia de los individuos (estrategia individual flexible), entre individuos (estrategia individual fija) o ambas (*sensu* Gross 1996, Samaš y col. 2011). Este es el primer estudio en poner a prueba experimentalmente las claves utilizadas para rechazar huevos parásitos por una especie hospedadora utilizando un diseño intra-pareja, permitiendo evaluar la variación entre los individuos en la respuesta a los huevos no propios.

Se estudió si el rechazo se basa en una clave en particular o en una combinación de diferentes claves que tienen igual o distinto peso en la provocación del rechazo. Con este fin, se utilizaron modelos de toma de decisiones para explicar cómo los hospedadores evalúan los diferentes atributos de los huevos con el objetivo de aceptar o rechazar un huevo parásito (o experimental). Este abordaje ha sido utilizado previamente para comprender las preferencias de forrajeo en aves (Pompilio y Kacelnik 2010). El modelo original (Modelo de Valoración de la Dominancia, Wedell 1991) propone que los individuos comparan simultáneamente cada atributo y luego prefieren las opciones que tienen una ventaja en la mayoría de los atributos (el modelo permite al sujeto asignar igual o diferente peso a cada atributo). En el contexto del parasitismo de cría, la opción seleccionada por el hospedador puede estar determinada en relación a la similitud con sus propios huevos. Los huevos experimentales de cada tratamiento difieren de los huevos del hospedador en un número variable de atributos compartidos. El modelo predice el *no rechazo* de los huevos iguales en todos los atributos relevantes, *rechazo* cuando ninguna de las dimensiones relevantes es igual y *rechazo parcial* de los huevos con algunos aspectos iguales y otros diferentes. Los resultados de este estudio permiten entender y predecir el curso de la evolución fenotípica y comportamental, y específicamente comprender si las interacciones co-evolutivas entre los hospedadores y los parásitos avanzan a través de la carrera armamentista en una sola dimensión (por ejemplo, presencia de manchas o brillo), o de la combinación de múltiples claves visuales que afectan la evolución de los umbrales de aceptación y el tipo de percepción de mimetismo entre hospedadores y parásitos (Rothstein 1982).

Influencia del grado de polimorfismo de los huevos presentes en el nido de calandria sobre su decisión de rechazar/aceptar un huevo parásito.

El segundo objetivo de este trabajo fue estudiar si el comportamiento de rechazo de la calandria se basa exclusivamente en las características intrínsecas del huevo parásito o depende de las características de los otros huevos presentes en el nido. Diferentes mecanismos cognitivos fueron propuestos para guiar las reglas de decisión sobre el reconocimiento de huevos extraños. El rechazo podría basarse en el reconocimiento de un modelo-guía, donde el hospedador rechaza sobre la base de un patrón de reconocimiento innato o aprendido, o bien en la discordancia, donde el hospedador evalúa diferencias entre los fenotipos de los huevos dentro de la misma nidada y rechaza el más distinto (Rothstein 1974, Moskat y col. 2010, Avilés y col. 2010).

La idea de que las decisiones dependen exclusivamente de las características objetivas de las opciones proviene de los modelos clásicos de optimización (Stephens y Krebs 1986). Bajo ese paradigma, las decisiones no deberían verse afectadas por la forma en que las opciones se

presentan. Sin embargo, durante la última década se han hecho nuevos descubrimientos que muestran -tanto en humanos como en animales no humanos- que las decisiones no dependen exclusivamente de las propiedades objetivas de las opciones sino del contexto en el cual éstas se presentan. El contexto incluye tanto la forma en la que la opción es presentada ("*frame*"), la presencia de otras opciones y de cambios en el estado motivacional de los individuos (ver Tversky y Simonson 1993, Hurly y Oseen 1999, Kahneman y Tversky 2003, Shafir y col. 2002, Bateson 2002, 2003, Pompilio y Kacelnik 2005, Pompilio y col. 2006).

En el caso particular de la calandria, una posibilidad es que la aceptación o rechazo de un huevo parásito dependa exclusivamente de las propiedades objetivas del mismo (ej. patrón de coloración), hipótesis denominada "Hipótesis de valoración absoluta". Si ello fuera así, se espera que el umbral de aceptación o rechazo de un huevo parásito sea fijo, basado en un modelo-guía. Por otro lado, el rechazo podría depender también de variables contextuales, como las características de los huevos presentes en el nido. Esta hipótesis se denomina "Hipótesis de valoración contexto-dependiente", donde se espera que el umbral de aceptación o rechazo de un huevo parásito sea flexible. Dentro de esta hipótesis, se plantean sub-hipótesis específicas que predicen distintos comportamientos: 1) Habituación a la variación: a mayor variabilidad en las características de los huevos de la nidada disminuye la probabilidad de rechazo de un huevo parásito, ya que esta variabilidad podría ser utilizada por la calandria como un indicador de variabilidad de los huevos propios. 2) Sensibilidad a la variación: a mayor variabilidad en las características de los huevos de una nidada aumenta la probabilidad de rechazo de un huevo parásito ya que esta variabilidad podría ser utilizada por la calandria como un indicador de mayor intensidad de parasitismo. Esta estrategia es beneficiosa cuando hay poca variabilidad en los huevos propios, ya que minimiza el error de aceptar huevos parásitos.

Con el objetivo de poner a prueba estas hipótesis se diseñó un experimento en el cual se manipuló el rango de variabilidad de los huevos de la nidada de la calandria (manteniendo constante su número) y se evaluó el comportamiento de rechazo/aceptación de un huevo experimental con rangos de aceptación cercanos al 50%. De esa manera, se registró en una misma pareja experimental el comportamiento de rechazo o aceptación al huevo experimental cuando éste fue colocado en una nidada con alto rango de variabilidad en el patrón de coloración versus cuando éste fue colocado en una nidada con bajo rango de variabilidad en el patrón de coloración.

MÉTODOS

Los experimentos se llevaron a cabo en los nidos de calandria encontrados durante las campañas 2008 y 2009 para el primer experimento y la campaña 2010 para el segundo experimento (ver capítulo 2). El primer experimento se realizó en 12 parejas de calandrias en 2008 y otras 13 parejas en 2009, mientras que para el segundo experimento se usaron 26 parejas. Se realizó un seguimiento de cada uno de los intentos reproductivos de cada pareja hasta que los experimentos fueron completados. Para ocho de las parejas experimentales de 2008 y 2009 y tres de las parejas experimentales de 2010 no fue posible completar el experimento, debido a predación o abandono del nido por parte de la pareja.

Experimento 1

Diseño de los huevos experimentales

Se comparó el color y las variables morfométricas de huevos naturales de Tordo Renegrido de los morfos manchados e inmaculado, con el objetivo de determinar los atributos específicos que difieren entre ambos y que pueden ser potencialmente utilizados por las calandrias como claves de identificación (Tabla 7.1). Las variables del color fueron tomadas con el mismo procedimiento y utilizando el espectrofotómetro de reflectancia detallado en el capítulo anterior, y las medidas morfométricas (de ancho y largo) fueron tomadas con un calibre con un error aproximado de 0,1 mm. El volumen fue calculado como largo x ancho^2 x 0,515 (Nolan y Thompson 1978). Para cada huevo se calculó la reflectancia promedio y a partir de ella las variables brillo total, calculado como la suma de la reflectancia (R) a través de todas las longitudes de onda ($\Sigma R350–700$), y los cromas UV, azul, verde, amarillo y rojo, calculados como la proporción de reflectancia de cada región y la reflectancia total (Honza y col. 2007): croma UV = $\Sigma R_{340-400} / \Sigma R_{340-700}$, croma azul= $\Sigma R_{400-475}/\Sigma R_{340-700}$, croma verde = $\Sigma R_{475-550}/\Sigma R_{340-700}$, croma amarillo= $\Sigma R_{550-625}/\Sigma R_{340-700}$ y croma rojo = $\Sigma R_{625-700}/\Sigma R_{340-700}$.

La tabla 7.1 muestra los rangos de las variables de color y de medidas promedio en huevos naturales del morfo inmaculado y manchado de Tordo Renegrido. Se encontró que los rangos no se superponen en las siguientes variables: brillo total, croma UV, croma azul, y croma rojo. Sin embargo, el rango del croma azul es virtualmente continuo, por lo que se desestimó esta variable como una posible clave utilizada por las calandrias para rechazar el huevo. El croma rojo, por otro lado, refleja la diferencia entre ambos morfos en la presencia de manchas, ya que los huevos manchados tienen el típico pico de reflectancia de las porfirinas en el segmento rojo del espectro (Igic y col. 2012), el cual está totalmente ausente en los huevos inmaculados (Figura 7.1).

Tabla 7.1: Comparación entre los huevos naturales de Tordo Renegrido de morfo inmaculado y manchado. Se muestran los rangos de coloración y las variables morfométricas de cada uno. (*) Significa que no hay superposición de rango entre los morfos.

	Huevo inmaculado (N=6)	Huevo manchado (N=6)
Brillo* (Reflectancia total)	7707 – 8559	4138 – 6232
Croma UV *	0.134 - 0.139	0.100 - 0.126
Croma azul*	0.190 - 0.195	0.168 - 0.189
Croma verde	0.212 - 0.215	0.187 - 0.214
Croma amarillo	0.227 - 0.231	0.230 - 0.246
Croma rojo*	0.225 - 0.230	0.245 - 0.293
Largo (cm)	2.18 - 2.49	2.24 - 2.38
Ancho (cm)	1.84 - 1.90	1.88 - 2.00
Volumen (cm^3)	3.93 - 4.63	4.22 - 4.74

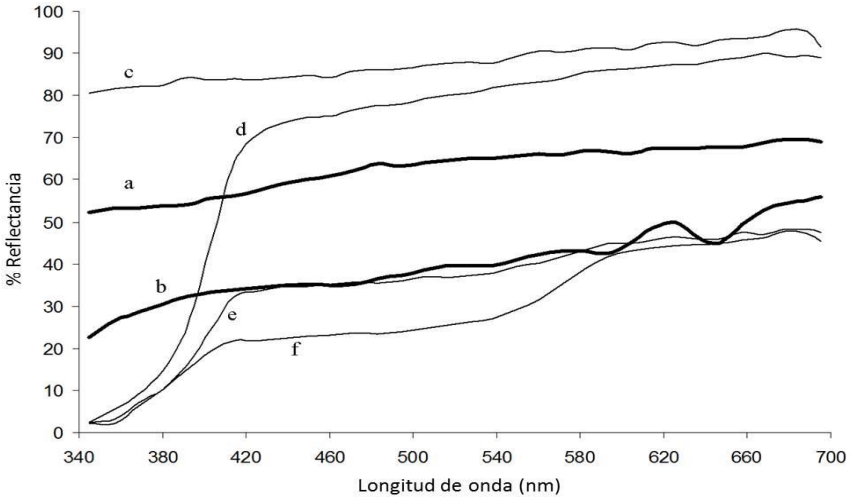

Figura 7.1: Curvas de reflectancia promedio de huevos naturales de Tordo Renegrido y huevos experimentales. a) Huevo natural inmaculado (N=3); b) Huevo natural manchado (N=5); c) Huevo experimental UV+ (N=3); d) Huevo experimental UV- (N=2); e) Huevo experimental manchado Sp+ (N=4); f) Huevo experimental color beige sin manchas Sp- (N=2).

De este modo, se diseñaron los huevos experimentales de modo de estudiar los efectos de las manchas, la reflectancia en el UV y el brillo total en el comportamiento de rechazo de las calandrias. Los huevos experimentales fueron hechos de yeso, con las dimensiones medias de los huevos de tordo (24.9 mm x 18.8 mm; de la Colina y col. 2011). Todos los huevos, luego de aplicarles el patrón correspondiente de los tratamientos (Tabla 7.2), fueron cubiertos con un

barniz mate a base de agua para proteger la apariencia y la superficie del huevo del clima. El efecto de las manchas y la reflectancia en el UV fue analizado por separado en experimentos de a pares: 1) Manchas: Sp+/Sp-, presencia/ausencia (con brillo similar y ausencia de reflectancia en el UV, Tabla 7.2). Los huevos manchados (Sp+) fueron creados aplicando una pintura acrílica marrón con un cepillo de dientes sobre un huevo pintado con acrílico blanco; los huevos sin manchas (Sp-) fueron pintados con la misma pintura acrílica que las manchas mezclada con acrílico blanco, resultando en un huevo pintado en forma uniforme de beige. 2) Reflectancia en el UV: UV+/UV- (con brillo total similar y ausencia de manchas, Tabla 7.2). Los huevos de yeso UV+ fueron cubiertos por una cinta de teflón blanca (Dupont ®); y para los UV- el yeso fue cubierto con pintura acrílica blanca.

El par de huevos número 1 tiene mayor brillo total que el par de huevos número 2 y los huevos dentro de cada par experimental tienen valores de brillo similares (Tabla 7.2, Figura 7.1). Para analizar si el rechazo responde a las diferencias de brillo, se compararon los huevos entre los pares experimentales (ver el detalle más adelante).

Tabla 7.2: Atributos de los huevos de la Calandria Grande y experimentales utilizados para analizar el comportamiento de rechazo. UV +/- representa mayor/menor nivel de reflectancia en el UV (croma UV); Manchas +/- representa presencia/ausencia de manchas; Brillo +/- representa mayor/menor nivel de brillo (reflectancia total). Las últimas dos columnas muestran el rango de brillo y croma UV para los huevos experimentales y los del hospedador.

Par de huevos	Nombre del huevo (Tratamiento)	U.V.	Manchas	Brillo	Brillo (reflectancia total)	Croma UV ($\sum R_{340-400}/\sum R_{340-700}$)
1	UV+ (cubierta de teflón)	+	-	+	11190-11590	0,151-0,153
	UV- (pintura blanca)	-	-	+	8169-9009	0,029-0,137
2	Sp+ (manchas marrones)	-	+	-	4373-6528	0,039-0,090
	Sp- (pintura beige uniforme)	-	-	-	3814-5076	0,032-0,044
	Huevos de Calandria Grande	-	+	-	1586-3814	0,065-0,084

Diseño experimental

Cada pareja reproductora fue expuesta a un par de huevos experimentales secuencialmente dentro del mismo intento reproductivo y al otro par de huevos experimentales en el siguiente intento reproductivo. El diseño estuvo balanceado por el par de huevos experimentales, con aproximadamente la mitad de las parejas recibiendo como primer

tratamiento Sp+/Sp- y las restantes UV+/UV-. El orden de presentación de los huevos también fue balanceado dentro de cada par experimental. Se colocó el huevo experimental dentro de cada nido de calandria luego de aparecido su primer o segundo huevo. Se dejó el huevo experimental en el nido por 48 horas, y se registró si fue aceptado o rechazado en ese período (las calandrias suelen rechazar un huevo inmaculado dentro de las primeras 24 horas del evento de parasitismo, Fraga 1985, Sackmann y Reboreda 2003). Luego, el primer huevo experimental fue reemplazado por el segundo que también fue dejado por 48 horas y se registró si fue aceptado o no. Este último huevo fue retirado si no había sido rechazado y no se volvió a perturbar a la pareja de calandrias durante ese intento reproductivo. Agregar un huevo artificial al nido de calandria durante su período de puesta simula un evento de parasitismo natural, dado que los tordos sincronizan su puesta con la del hospedador (Fiorini y Reboreda 2006) y no remueven ningún huevo del nido (Sackman y Reboreda 2003).

El segundo par de huevos experimentales fue puesto en el siguiente intento reproductivo de las parejas de calandria del mismo modo. En todos los casos se verificó la identidad de la pareja por medio de la observación de los anillos identificatorios (ver capítulo 2) con un telescopio. En los casos en que la pareja rechazó el primer par en menos tiempo, se presentó el segundo par de huevos experimentales en el mismo intento reproductivo que el primer par. Los nidos abandonados (N=8) fueron excluidos del análisis dado que no es posible determinar si fue como consecuencia del parasitismo artificial. Para analizar el efecto del brillo en la decisión de rechazo, se compararon los resultados de los huevos experimentales Sp- y UV- (ambos con ausencia de manchas y ausencia de reflectancia en el UV).

Análisis estadísticos

Para el análisis se tuvieron en cuenta otros factores que pueden influir en el comportamiento de rechazo: los datos fueron agrupados por parejas reproductoras (medidas repetidas), intento reproductivo (primero o segundo, orden de presentación de cada par de huevos), orden de presentación de los huevos (primero o segundo, anidado dentro del mismo intento reproductivo), año (los datos fueron colectados en dos temporadas reproductivas consecutivas), y fecha (centrado por año), dado que algunas parejas fueron examinadas en el inicio y otras más tarde en la temporada reproductiva. Se analizaron los datos experimentales con un Modelo Lineal Generalizado Mixto (GLMM, por sus siglas en inglés). El modelo completo contenía las siguientes variables explicativas: I) “Manchas” como efecto fijo (nominal: Sp+ y Sp-), II) “Reflectancia UV” como efecto fijo (nominal: UV+ y UV-), III) “Brillo” como efecto fijo (nominal: B+ y B-), IV)“Pareja reproductora” como efecto aleatorio, V) “Intento

reproductivo" como efecto fijo (nominal: primero y segundo), VI) "Orden de los huevos" como efecto fijo (nominal: primero y segundo, anidado dentro del intento reproductivo), VII) "Año" como efecto fijo (nominal: primero y segundo) y VIII) "Fecha" (como variable continua, centrada por "año"). Se fueron eliminando del modelo completo los términos no significativos (incluyendo todas las co-variables y las interacciones relevantes) con el fin de eliminar los predictores no significativos y producir el modelo mínimo adecuado. En cada iteración se eliminó la co-variante con el mayor valor de *p*, siempre que sea mayor a 0,1. La variable dependiente fue la respuesta del hospedador a los huevos experimentales (nominal: aceptó vs. rechazó) y se analizó siguiendo un modelo lineal. Este procedimiento genera estimaciones insesgadas bajo diseños experimentales controlados, dado que el término del error no se correlaciona con los coeficientes estimados. Este análisis se llevó a cabo con el programa STATA (Análisis de Datos y Software Estadístico, StataCorp LP).

Experimento 2

Diseño de los huevos experimentales

El huevo focal utilizado en ambos tratamientos para medir la respuesta de aceptación o rechazo de un huevo parásito fue el huevo beige anteriormente descripto (ver Tabla 7.2, huevo Sp-). La elección de ese huevo (que a partir de ahora denominaremos "huevo experimental neutro") se debe a que genera respuestas de aceptación o rechazo cercanas al 50%. Ello permite medir fluctuaciones en el umbral de elección debido a la manipulación de los huevos experimentales.

Los huevos experimentales fueron especialmente diseñados con el objetivo de modificar la variabilidad dentro del nido de calandria. La diferencia entre los tratamientos fue generada exclusivamente por la presencia de un huevo distinto en cada uno de ellos, generándose así dos niveles de variabilidad en la puesta: 1) Menor variabilidad: Huevo experimental neutro con huevo experimental manchado (Sp+ del experimento 1, fig. 7.2a) y 2) Mayor variabilidad: Huevo experimental neutro con huevo experimental blanco (UV- del experimento 2, fig. 7.2b)

Diseño experimental

El diseño experimental se balanceó entre tratamientos, con aproximadamente la mitad de las parejas recibiendo en primer lugar el tratamiento "menor variabilidad" y en segundo lugar el tratamiento "mayor variabilidad" y la mitad restante de las parejas recibiendo en primer lugar el tratamiento "mayor variabilidad" y en segundo lugar el tratamiento "menor variabilidad".

Cada pareja reproductora fue expuesta primero a un par de huevos experimentales simultáneamente y luego, dentro del mismo intento reproductivo, al otro par de huevos experimentales. El par de huevos experimentales fue colocado dentro de cada nido de calandria luego de aparecido su segundo o tercer huevo. En cada día del experimento se controló que el tamaño de puesta fuera 4 huevos, para lo cual se retiraron los huevos restantes (ya sea de calandria o de tordo, en los casos de encontrarse eventos de parasitismo natural). Una vez finalizado cada experimento se devolvieron los huevos del hospedador a sus respectivos nidos. Se dejó cada par de huevos experimentales en el nido por 24 horas, y se registró cuál huevo del par fue aceptado o rechazado en ese período. Se disminuyó el tiempo de exposición de los huevos experimentales respecto del experimento anterior porque se confirmó que el rechazo de los huevos en ningún caso ocurrió después de este lapso. Concluido el experimento los huevos fueron retirados si no habían sido rechazados. Los nidos abandonados (N=3) fueron excluidos del análisis dado que no es posible determinar si el abandono fue una respuesta al tratamiento o se dio por causas naturales.

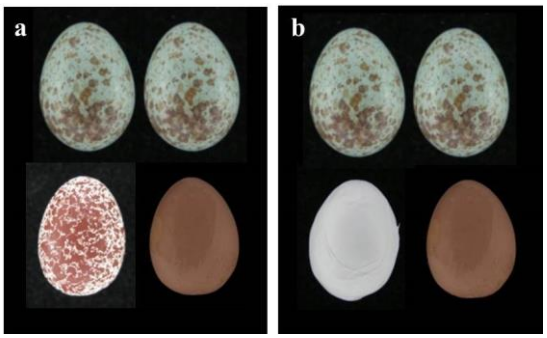

Figura 7.2: Tratamientos del experimento 2. Se utilizaron los huevos experimentales diseñados para el experimento 1: beige uniforme sin manchas Sp-, utilizado como huevo experimental neutro, y manchado Sp+ y blanco UV-, que aumentan diferencialmente la variabilidad que existe entre los huevos de una puesta. a) Tratamiento 1: Menor variabilidad, b) Tratamiento 2: Mayor variabilidad.

Análisis estadísticos

Se evaluó si la probabilidad de rechazo del huevo experimental beige variaba entre los dos tratamientos por medio del test no paramétrico de Wilcoxon, con el software InfoStat v.2012 (Di Rienzo y col. 2012). Si la regla de decisión es la valoración absoluta, se espera igual porcentaje de rechazo en ambos tratamientos. Si la regla de decisión es contexto-dependiente, se espera que el porcentaje de rechazo difiera entre ambos tratamientos.

RESULTADOS

Experimento 1

Aproximadamente la mitad de las parejas de calandria (47%) rechazaron el huevo experimental sin manchas color beige mientras que ninguna de las parejas rechazó el huevo manchado (N=20) (Figura 7.3). Los huevos blancos fueron rechazados por la mayoría de las parejas (huevos UV-: 73%, huevos UV+: 86%, N=22) (Figura 7.3). La tasa de rechazo fue cercana a las reportadas para huevos naturales (manchados: 17% y 0%, inmaculados: 100%; Fraga 1985, Sackman y Reboreda 2003, respectivamente) (Figura 7.3).

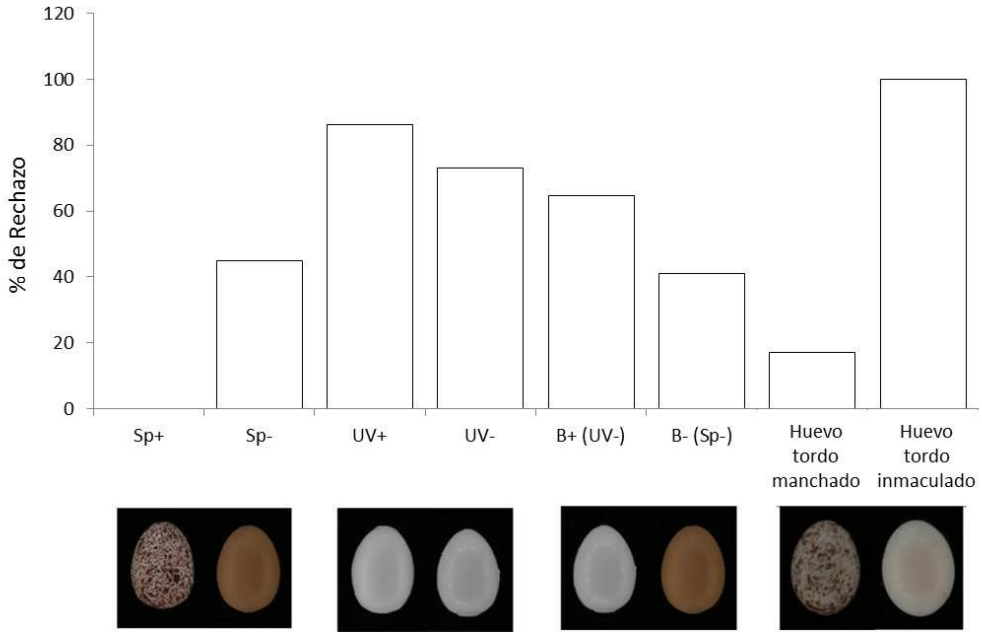

Figura 7.3: Comparación de las frecuencias de rechazo de la Calandria Grande para pares de huevos experimentales que variaron en un solo atributo fenotípico: Presencia de manchas (Sp+/Sp-), reflectancia en el UV (UV+/UV-) y nivel de brillo (B+/B-). Las últimas dos columnas muestran el porcentaje de rechazo promedio de la calandria de huevos naturales de Tordo Renegrido (Fraga 1985, Sackman y Reboreda 2003).

El modelo del análisis de regresión que incluyó las manchas, el brillo (y su interacción con el intento reproductivo) y el año explicó el 52% de la variación en el comportamiento de rechazo de calandrias ($F_{4,\ 79}$ = 19.24, P<0.001). La presencia de manchas en los huevos experimentales reduce significativamente la probabilidad de rechazo (Tabla 7.3). De hecho, ninguna de las parejas de calandrias rechazó un huevo manchado. Por otro lado, el incremento en el brillo aumentó significativamente la probabilidad de rechazo. Este efecto fue menor

durante el segundo intento reproductivo (Tabla 7.3). Como se muestra en la Tabla 7.4, hubo 6 parejas de calandrias (35%) que rechazaron exclusivamente el huevo experimental B+ mientras que 2 parejas (12%) rechazaron exclusivamente B-. Del resto de las parejas, 5 (29%) rechazaron ambos huevos B+ y B- mientras que 4 (24%) aceptaron ambos. El factor "año" no afectó significativamente el comportamiento de rechazo (Tabla 7.3).

Tabla 7.3: Estimación de los parámetros y su significancia estadística en el modelo final (N=25 parejas). El modelo predice la probabilidad de rechazo de un huevo experimental.

Factores	Estimación ± ES	P
Presencia de Manchas	-0,45 ± 0,11	0,000
Brillo	0,87 ± 0,22	0,000
Intento reproductivo * brillo	-0,45 ± 0,18	0,009
Año	0,17 ± 0,10	0,077

Tabla 7.4: Número de parejas de calandrias que aceptaron o rechazaron uno o dos huevos que comprenden cada par experimental de huevos y que varían en un solo atributo fenotípico: Manchas (Sp+/Sp-), reflectancia en el UV (UV+/UV-) y brillo (Brillo+/Brillo-).

	Atributo	Rechaza sólo un huevo	Rechaza los dos huevos	Acepta los dos huevos
Par de huevos experimentales Nº 1	Sp+	0	0	11
	Sp-	9		
Par de huevos experimentales Nº 2	UV+	3	16	3
	UV-	0		
Comparación *a posteriori*	Brillo + (UV-)	6	5	4
	Brillo – (Sp-)	2		

La reflectancia en el UV no afectó significativamente el comportamiento de rechazo (este factor fue uno de los eliminados del modelo final). Como se muestra en la Tabla 7.4, únicamente 3 parejas (13,5%) rechazaron exclusivamente el huevo UV+ mientras que ninguna rechazó únicamente el huevo UV-. De las parejas restantes, 16 rechazaron ambos huevos UV+ y UV- (73%) y solamente 3 (13,5%) los aceptaron.

En la Tabla 7.5 puede verse cómo los atributos de los huevos experimentales se superponen con los atributos del huevo del hospedador y el porcentaje de parejas de calandrias

que rechazaron cada uno. Los huevos experimentales manchados (Sp+) no difieren de los huevos de calandria (Tabla 7.2), compartiendo las características de la presencia de manchas, un nivel bajo de brillo y una baja reflectancia en el UV. Los huevos experimentales color uniforme beige (Sp-) comparten con los huevos del hospedador el bajo nivel de brillo y la baja reflectancia en el UV pero no poseen manchas, mientras que los huevos UV- tienen un alto nivel de brillo y lo único que comparten con los huevos del hospedador es la ausencia de reflectancia en el UV. Finalmente, los huevos UV+ no comparten con los huevos de calandria ninguno de los atributos estudiados. El porcentaje de rechazo de cada uno de los huevos experimentales (rechazo/total de parejas reproductoras) aumenta con el número de atributos que difieren entre los huevos experimentales y los del hospedador.

Tabla 7.5: Comparación entre los cuatro huevos experimentales y los huevos naturales de calandria en relación a los atributos que se superponen (Sp+, B-, UV-): "SI" indica similitud en el atributo; "NO" indica diferencia en el atributo. La anteúltima columna muestra el número de atributos diferentes entre los huevos experimentales y los naturales del hospedador. La última columna muestra el porcentaje de rechazo de cada huevo experimental (rechazo/número total de parejas).

Nombre del huevo (Tratamiento)	Atributo del huevo experimental	Atributos del huevo del hospedador			Número total de atributos diferentes entre huevos	% Rechazo
		Sp+	B-	UV-		
Sp+	Sp+ / UV- / B-	SI	SI	SI	0	0 (0/20)
Sp-	Sp- / UV- / B-	NO	SI	SI	1	45 (9/20)
UV-	Sp- / UV- / B+	NO	NO	SI	2	73 (16/22)
UV+	Sp- / UV+ / B+	NO	NO	NO	3	86 (19/22)

<u>*Experimento 2*</u>

Las tasas de rechazo de los huevos experimentales manchados y blancos fueron similares a las reportadas para huevos naturales que se muestran en la figura 7.3 (7,7% y 82,6% respectivamente, fig. 7.4). El huevo experimental neutro tuvo una tasa de rechazo similar bajo ambos tratamientos (57,7% y 52,2%; Z=0.0, p=1).

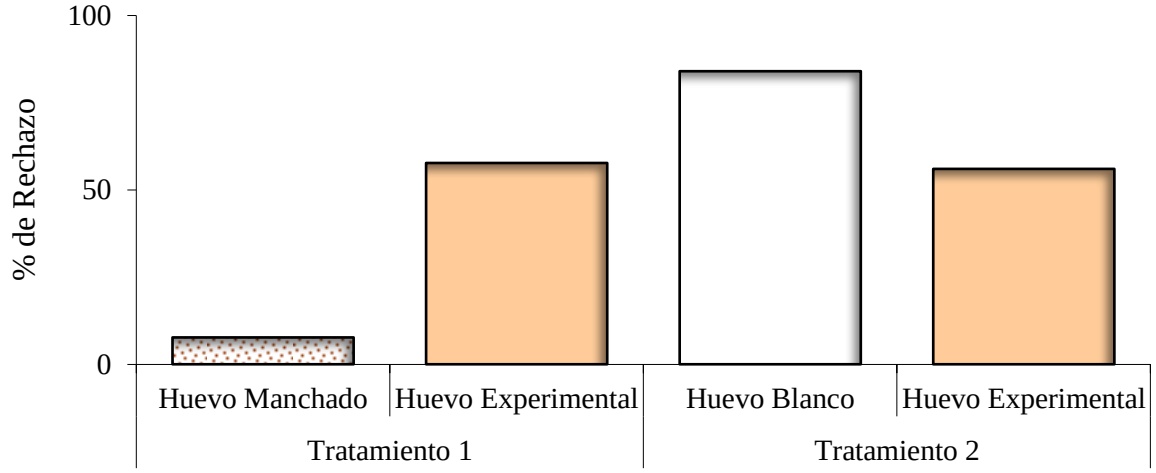

Figura 7.4: Porcentaje de rechazo de los huevos experimentales de cada uno de los tratamientos del experimento 2.

DISCUSIÓN

La probabilidad de que un huevo sea rechazado por las calandrias puede explicarse por los siguientes atributos: la ausencia de manchas y el brillo. El rechazo disminuye con la presencia de manchas y aumenta con altos niveles de brillo.

La presencia de manchas es un buen predictor de la aceptación del huevo parásito. Esto lleva a la pregunta de si el hospedador acepta los huevos manchados porque la presencia de manchas es una condición necesaria (los huevos manchados son similares con los del hospedador no solo en la presencia de manchas, sino también en otros atributos importantes como el brillo, la reflectancia en el UV, y la forma (de la Colina y col. 2011) o porque la presencia de manchas es una condición necesaria y suficiente (ser manchado es condición suficiente para ser aceptado).

Los resultados muestran que mientras la presencia de manchas conduce a la plena aceptación de los huevos parásitos, la ausencia de manchas no conduce necesariamente al rechazo completo, ya que la mitad de los huevos Sp- (de color beige uniforme) fueron aceptados. Estos resultados sugieren que esta especie utiliza un mecanismo complejo de toma de decisiones para reconocer y rechazar un huevo parásito. De hecho, los resultados confirman que un incremento en los niveles de brillo aumenta la probabilidad de rechazo y que, sorprendentemente, durante el segundo intento reproductivo, las calandrias parecen ser menos tolerantes al nivel de brillo. Quizás este incremento en el comportamiento de rechazo de los huevos B+ puede explicarse por la experiencia adquirida por la calandria (Lotem 1993).

Los resultados obtenidos son compatibles con la lógica del Modelo de Valoración de la Dominancia (Wedell 1991), dado que el porcentaje de rechazo aumentó con el incremento en las

diferencias entre los atributos de los huevos. En consecuencia, cuando se compara el número de atributos visibles en los cuales los huevos experimentales difieren de los del hospedador (Tabla 7.5), claramente el nivel de rechazo aumenta cuando los huevos del hospedador y el experimental son más disímiles: no se observa rechazo cuando los 3 atributos manipulados son similares (huevos manchados), se observa un aumento del rechazo en casi un 50% cuando 2 de los atributos (brillo y reflectancia en el UV) son similares (huevo uniformemente beige), el nivel de rechazo aumenta del 45% al 73% cuando sólo un atributo (reflectancia en el UV) es similar (huevo blanco UV-) y se observa el máximo nivel de rechazo (86%) cuando los huevos difieren en todos los atributos estudiados (huevo blanco UV+). Aunque el porcentaje de rechazo aumenta ligeramente con la presencia de reflectancia en el UV los resultados no fueron estadísticamente significativos para este atributo. Esta observación es compatible con la idea de que la presencia de manchas tiene el mayor peso en la regla cognitiva de la decisión de rechazar un huevo extraño, seguido por el brillo y luego, posiblemente por la reflectancia en el UV. Este proceso de toma de decisiones multi-señal puede también ser influido por un polimorfismo en la percepción y/o variación cognitiva en umbrales de aceptación entre los individuos, que se traduce en el rechazo de menos huevos que los que son reconocidos como claramente extraños (Antonov y col. 2009, Moskat y Hauber 2007).

Las calandrias no presentan ninguna restricción física en la apertura o tamaño de sus picos como para agarrar y rechazar los huevos de los tordos, como es el caso de hospedadores de menor tamaño (Antonov y col. 2009). Aun así, estos experimentos confirman que las calandrias son sólo rechazadoras parciales y utilizan una regla de decisión que está sujeta a errores, dado que aceptan los huevos manchados del Tordo Renegrido, que representan una alta proporción de los fenotipos de huevos locales (75%; Tuero y col. 2007). Además, el morfo blanco está ausente en algunas partes de la distribución donde hay simpatría entre la calandria y el Tordo Renegrido (Mahler y col. 2008). Esto indicaría que las calandrias no están utilizando consistentemente una señal para diferenciar los huevos parásitos de los suyos. El proceso de toma de decisión de rechazar un huevo extraño utilizado por la calandria parecería depender principalmente de la ausencia de manchas, pero también del nivel de brillo, y en menor medida en la reflectancia en el UV. Es posible que las señales que conducen al rechazo, aunque no de manera perfecta, sean las más evidentes y fáciles de detectar (teniendo, por lo tanto, una relación costo-beneficio o costo de procesamiento cognitivo más bajo; Lotem 1993).

El rechazo de huevos parásitos por las calandrias podría tener un costo adicional si éste aumenta el riesgo de pérdida de huevos del hospedador durante los ataques por picaduras de los parásitos cuando visitan los nidos. En un trabajo reciente de Gloag y colaboradores (2012)

encontraron que los huevos de calandria tienen menor probabilidades de ser picados por las tordas cuando en el nido se encuentran otros huevos parásitos, pudiendo reducir el beneficio de rechazar huevos de tordo cuando es común el parasitismo múltiple.

Por otro lado, encontramos evidencias que indican que el comportamiento de rechazo de un huevo parásito no depende de las características de los otros huevos presentes en la nidada. La evidencia hallada es compatible con la "Hipótesis de valoración absoluta" por la cual el umbral de aceptación y rechazo de un huevo parásito es fijo y depende exclusivamente de sus características objetivas.

Un mecanismo de toma de decisiones que se base en la suma de diferentes atributos disminuye los errores de reconocimiento de los huevos no propios. Este mecanismo probablemente evolucione en hospedadores que se enfrentan con huevos parásitos polimórficos, como es el caso de las calandrias, donde no hay una presión de selección direccional favoreciendo el reconocimiento de una señal en particular. La identificación de diferencias en varios atributos podría permitir el reconocimiento de varios tipos de los huevos polimórficos, mejorando así la eficacia general de las defensas antiparasitarias tempranas, durante las etapas de incubación y puesta de huevos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Antonov A, BG Stokke, A Moksnes y E Røskaft. 2009. Evidence for egg discrimination preceding failed rejection attempts in a small cuckoo host. Biology Letters 5:166-171.

Avilés JM, Rutila J y AP Moller. 2005. Should the redstart (*Phoenicurus phoenicurus*) accept or reject cuckoo eggs? Behavioral Ecology and Sociobiology 58:608-617.

Avilés JM, Soler JJ y T Pérez-Contreras. 2006. Dark nests y egg colour in birds: a possible functional role of ultraviolet reflectance in egg detectability. Proceedings of the Royal Society of London B:2821–2829.

Avilés JM. 2008. Egg colour mimicry in the common cuckoo *Cuculus canorus* as revealed by modelling host retinal function. Proceedings of the Royal Society of London B: 2345–2352.

Avilés JM, Vikan J, Fossøy F, Antonov A, Moksnes A, Røskaft E y BG Stokke 2010. Avian colour perception predicts behavioural responses to experimental brood parasitism in chaffinches. Journal of Evolutionary Biology 23: 293–301.

Bateson M, SD Healy y TA Hurly. 2002. Irrational choices in hummingbird foraging behaviour. Animal Behaviour 63: 587-596.

Bateson M, SD Healy y TA Hurly. 2003.Context-dependent foraging decisions in rufous hummingbirds. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. 270: 1271-1276.

Bowmaker JK, LA Heath, SE Wilkie y DM Hunt. 1997. Visual pigments y oil droplets from six classes of photoreceptor in the retinas of birds. Vision Research 37:2183–2194.

Brooke MdeL y NB Davies. 1988. Egg mimicry by cuckoos, *Cuculus canorus*, in relation to discrimination by hosts. Nature 335: 630-632.

Cassey P, M Honza, T Grim y, ME Hauber. 2008. The modelling of avian visual perception predicts behavioural rejection responses to foreign egg colours. Biology Letters 4:515–517.

Davies NB. 2000. Cuckoos, cowbirds y other cheats. London: T y AD Poyser

Davies NB. 2011. Cuckoo adaptations: trickery y tuning. Journal of Zoology284:1–14.

Delhey K, M Carrizo, L Verniere, B Mahler y A Peters. 2011. Rejection of brood-parasitic shiny cowbird *Molothrus bonariensis* nestlings by the firewood-gatherer *Anumbius annumbi*? Journal of Avian Biology 42:463-7.

de la Colina MA, B Mahler y JC Reboreda. 2011. Differences in morphology y colour pattern of shiny cowbird (*Molothrus bonariensis*) eggs found in nests of two hosts. Biological Journal of the Linnean Society 102:838–845.

De Mársico MC, B Mahler, M Chomnalez, AG Di Giacomo y JC Reboreda. 2010. Host use by generalist y specialist brood parasitic cowbirds at population y individual levels. Advances in the Study of Behavior 42: 83-121.

De Mársico MC, MG Gantchoff y JC Reboreda. 2012. Host-parasite coevolution beyond the nestling stage? Host fledgling mimicry in a specialist brood parasite. Proceedings of the Royal Society B 279: 3401-3408.

Di Rienzo JA, F Casanoves, MG Balzarini, L Gonzalez, M Tablada y CW Robledo. 2012. InfoStat versión 2012. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL http://www.infostat.com.ar

Fiorini VD y JC Reboreda. 2006. Cues used by shiny cowbirds (*Molothrus bonariensis*) to locate y parasitize chalk-browed mockingbird (*Mimus saturninus*) nests. Behavioral Ecology and Sociobiology 60:379–385.

Fiorini VD, DT Tuero y JC Reboreda 2009. Host behaviour y nest-site characteristics affect the likelihood of brood parasitism by shiny cowbirds on chalk-browed mockingbirds. Behaviour 146: 1387-1403.

Fraga RM. 1985. Host–parasite interactions between chalk-browed mockingbirds y shiny cowbirds. The Ornithological Monographs 36:829–844.

Friedmann H. 1929. The cowbirds: a study in the biology of social parasitism. Springfield, IL: CC. Thomas

Gibbs HL, MD Sorenson, K Marchetti, MdeL Brooke, NB Davies y H Nakamura. 2000. Genetic evidence for female host-specific races of the common cuckoo. Nature 407: 183-186.

Gloag R, VD Fiorini, JC Reboreda y A Kacelnik. 2012. Brood parasite eggs enhance egg survivorship in a multiply parasitized host. Proceedings of the Royal Society of London B 279:1831-1839.

Grim T. 2007. Experimental evidence for chick discrimination without recognition in a brood parasite host. Proceedings of the Royal Society of London B 274:373–381.

Grim T, P Samaš, C Moskát, O Kleven, M Honza, A Moksnes, E Røskaft y BG Stokke. 2011. Constraints on host choice: why do parasitic birds rarely exploit some common potential hosts? Journal of Animal Ecology 80:508–518.

Gross MR. 1996. Alternative reproductive strategies y tactics: Diversity within sexes. Trends in Ecology and Evolution 11:92-98.

Hauber ME. 2002. Is reduced clutch size a cost of parental care in Eastern Phoebes (*Sayornis phoebe*)? Behavioral Ecology and Sociobiology 51:503-509.

Hauber ME. 2003. Hatching asynchrony, nestling competition, y the cost of interspecific brood parasitism. Behavioral Ecology 14:224-235.

Hauber ME, C Moskat y M Ban. 2006. Experimental shift in hosts' acceptance threshold of inaccurate-mimic brood parasite eggs. Biology Letters 2:177-180.

Holen ØH y RA Johnstone. 2004. The evolution of mimicry under constraints. The American Naturalist 164:598– 613.

Honza M, L Polačiková y P Prochazka. 2007. Ultraviolet y green parts of the colour spectrum affect egg rejection in the song thrush (*Turdus philomelos)*. Biological Journal of the Linnean Society 92:269–276.

Honza M y L Polaciková. 2008. Experimental reduction of ultraviolet wavelength reflected from parasitic eggs affects rejection behaviour in the blackcap *Sylvia atricapilla*. The Journal of Experimental Biology 211:2519-2523.

Honza M, P Procházka, K Morongová, M Čapek y V Jelínek.2011. Do nest light conditions affect rejection of parasitic eggs? A test of the light environment hypothesis. Ethology, 117:539–546.

Hoover JP. 2003. Multiple effects of brood parasitism reduce the reproductive success of prothonotary warblers, *Protonotaria citrea*. Animal Behaviour 65:923-934.

Hudson WH. 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.

Hurly TA y MD Oseen. 1999. Context-dependent, risk-sensitive foraging preferences in wild rufous hummingbirds. Animal Behaviour, 58: 59-66.

Igic B, P Cassey, T Grim, DR Greenwood, C Moskát, J Rutila y ME Hauber. 2012. A shared chemical basis of avian host–parasite egg colour mimicry. Proceedings of the Royal Society of London B 279: 1068-1076.

Kahneman D y A Tversky. (Eds.2000). Choices, values and frames. New York: Cambridge University Press.

Kilner RM y NE Langmore. 2011. Cuckoos versus hosts in insects y birds: adaptations, counter-adaptations y outcomes. Biological Reviews 86:836–852.

Lahti DC y AR Lahti. 2002. How precise is egg discrimination in weaverbirds? Animal Behaviour 63:1135–1142.

Lahti DC. 2006. Persistence of egg recognition in the absence of cuckoo brood parasitism: pattern y mechanism. Evolution 60:157–168.

Langmore NE, S Hunt, RM Kilner. 2003. Escalation of a coevolutionary arms race through host rejection of brood parasitic young. Nature 422:157-160.

Langmore NE, RM Kilner, SHM Butchart, G Maurer, NB Davies, A Cockburn, NA Macgregor, A Peters, MJL Magrath y DK Dowling. 2005. The evolution of egg rejection by cuckoo hosts in Australia y Europe. Behavioral Ecology 16:686-692.

Lindholm AK. 2000. Tests of phenotypic plasticity in reed warbler defences against cuckoo parasitism. Behavior 137:43-60.

López-de-Hierro MDG y G Moreno-Rueda. 2010. Egg-spot pattern rather than egg colour affects conspecific egg rejection in the house sparrow (*Passer domesticus*). Behavioral Ecology and Sociobiology 64:317–324.

Lotem A. 1993. Learning to recognize nestlings is maladaptive for cuckoo *Cuculus canorus* host. Nature 362:743–745.

Lowther PE. 2011. Lists of Victims y Hosts of the Parasitic Cowbirds, Version 03 March 2011. The Field Museum, Chicago, IL. http://fm1.fieldmuseum.org/aa/Files/lowther/CBList.pdf

Mahler B, VA Confalonieri, IJ Lovette y JC Reboreda. 2008. Eggshell spotting in brood parasitic shiny cowbirds (*Molothrus bonariensis*) is not linked to the female sex chromosome. Behavioral Ecology and Sociobiology 62:1193–1199.

Marchetti K. 2000. Egg rejection in a passerine bird: size does matter. Animal Behaviour 59:877–885.

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

Mc-Lean IG y RF Maloney. 1998. Brood parasitism, recognition, y response: the options. In: Rothstein SI y Robinson SK (ed). Parasitic birds y their hosts, studies in coevolution. Oxford University Press, New York, pp 255–269.

Moksnes A, E Røskaft y AT Braa. 1991. Rejection behaviour by common cuckoo hosts towards artificial brood parasite eggs. Auk 108:348–354.

Moksnes A y E Røskaft. 1995. Egg-morphs and host preference in the common cuckoo (*Cuculus canorus*): an analysis of cuckoo and host eggs from European museum collections. Journal of Zoology 236: 625–648.

Moskát C y ME Hauber. 2007. Conflict between egg recognition y egg rejection decisions in common cuckoo (*Cuculus canorus*) hosts. Animal Cognition 10:377–386.

Moskát C, T Szekely, IC Cuthill y T Kisbenedek. 2008a. Hosts' responses to parasitic eggs: which cues elicit hosts' egg discrimination? Ethology 114:186–194.

Moskát C, M Bán, T Székely, J Komdeur, RWG Lucassen, AL van Boheemen y ME Hauber. 2010. Discordancy or template-based recognition? Dissecting the cognitive basis of the rejection of foreign eggs in hosts of avian brood parasites. The Journal of Experimental Biology 213:1976-1983.

Nolan JV y CF Thompson. 1978. Egg volume as a predictor of hatchling weight in the brown-headed cowbird (*Molothrus ater*). Wilson Bull 90:353-355.

Øien IJ, A Moksnes, E Røskaft y M Honza.1998. Costs of Cuckoo *Cuculus canorus* parasitism to Reed Warblers *Acrocephalus scirpaceus*. Journal of Avian Biology 29:209–215.

Osorio D y AD Ham. 2002. Spectral reflectance y directional properties of structural coloration in bird plumage. The Journal of Experimental Biology 205:2017–2027.

Payne RB y LL Payne. 1998. Nestling eviction y vocal begging behaviors in Australian glossy cuckoos *Chrysococcyx basalis* y *C. lucidus*. In: Rothstein SI y Robinson SK (ed). Parasitic birds y their hosts, studies in coevolution. Oxford University Press, New York, pp 152-169

Peer BD y SG Sealy. 2004. Correlates of egg rejection in hosts of the brown-headed cowbird. Condor 106:580–599.

Polačiková L y T Grim. 2010. Blunt egg pole holds cues for alien egg discrimination: experimental evidence. Journal of Avian Biology 41:111–116.

Polačiková L, ME Hauber, P Prochazka, P Cassey, M Honza, T Grim. 2011. A sum of its parts? Relative contributions of different eggshell regions to intraclutch variation in birds. Journal of Avian Biology 42:370-373.

Pompilio L y A Kacelnik. 2005. State-dependent learning and suboptimal choice: when starlings prefer long over short delays to food. Animal Behaviour 70: 571 – 578.

Pompilio L, A Kacelnik y S Behmer. 2006. State-dependent learned valuation drives choice in an invertebrate. Science 311: 1613 - 1615

Pompilio L y A Kacelnik. 2010. Context dependent utility overrides absolute memory as a determinant of choice. Proceedings of the National Academy of Sciences 107:508–512.

Reboreda JC, ME Mermoz, V Massoni, AA Astié y FL Rabuffetti. 2003. Impacto del parasitismo de cría del Tordo Renegrido (*Molothrus bonariensis*) sobre el éxito reproductivo de sus hospedadores. Hornero 18:77-88.

Reeve H. 1989. The evolution of conspecific acceptance thresholds. Am Nat. 133:407435

Røskaft E, A Moksnes, BG Stokke, C Moskát y M Honza. 2002a. The spatial habitat structure of host populations explains the pattern of rejection behaviour in hosts y parasitic adaptations in cuckoos. Behavioral Ecology 13:163-168.

Røskaft E, A Moksnes, D Meilvang, V Bicik, J Jemelikova y M Honza. 2002b. No evidence for recognition errors in *Acrocephalus* warblers. Journal of Avian Biology 33:31–38

Rothstein SI. 1974. Mechanisms of avian egg recognition: possible learned y innate factors. Auk 91:796-807.

Rothstein SI. 1982. Mechanisms of avian egg recognition: Which egg parameters elicit responses by rejecter species? Behavioral Ecology and Sociobiology 11:229–239.

Rothstein SI. 1990. A model system for coevolution: avian brood parasitism. The Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics 21:481–508.

Rothstein SI, SK Robinson. 1998. Major unanswered questions in the study of avian brood parasitism. In: Rothstein SI y Robinson SK (ed.) Parasitic birds y their hosts, studies in coevolution. Oxford University Press, New York, pp 419–425.

Sackmann P y JC Reboreda. 2003. A comparative study of shiny cowbird parasitism in two large hosts: chalk-browed mockingbird y rufous-belied thrush. Condor 105:728–736

Safran RJ y MN Vitousek. 2008. Evolutionary biology: Arms races in the eye of the beholder. Current Biology 18:734–736.

Samaš P, ME Hauber, P Cassey y T Grim. 2011. Repeatability of foreign egg rejection: Testing the assumptions of co-evolutionary theory. Ethology 117:606-619.

Schuetz JG. 2005. Reduced growth but not survival of chicks with altered gape patterns: implications for the evolution of nestling similarity in a parasitic finch. Animal Behaviour 70:839-848.

Schulze-Hagen K, BG Stokke y TR Birkhead. 2009. Reproductive biology of the European cuckoo *Cuculus canorus:* early insights, persistent errors and the acquisition of knowledge. Journal of Ornithology 150:1-16.

Servedio M y ME Hauber. 2006. To eject or to abandon? Brood parasite virulence y host clutch sizes interact to influence the fitness payoffs of alternative rejection strategies. Journal of Evolutionary Biology 19:1585-1594.

Servedio MR y R Lye. 2003. Coevolution of an avian host y its parasitic cuckoo. Evolution 57:1164-1175.

Shafir S, TA Waite y BH Smith. 2002. Context-dependent violations of rational choice in honeybees (*Apis mellifera*) and gray jays (*Perisoreus canadensis*). Behavioral Ecology and Sociobiology 51:180-187.

Spottiswoode C y M Stevens. 2010. Visual modeling shows that avian host parents use multiple visual cues in rejecting parasitic eggs. Proceedings of the National Academy of Sciences 19:8672–8676.

Stoddard MC y M Stevens. 2010. Pattern mimicry of host eggs by the common cuckoo, as seen through a bird's eye. Proceedings of the Royal Society of LondonB277: 1387-1393.

Stoddard MC y M Stevens. 2011. Avian vision y the evolution of egg color mimicry in the common cuckoo. Evolution 65:2004–2013.

Stokke BG, A Moksnes y E Røskaft. 2005. The enigma of imperfect adaptations in hosts of avian brood parasites. Ornithological Science 4:17–29.

Tokue K y K Ueda. 2010. Mangrove Gerygones *Gerygone laevigaster* eject Little Bronze-cuckoo *Chalcites minutillus* hatchlings from parasitized nests. Ibis 152:835–839.

Tuero DT, VD Fiorini y JC Reboreda. 2007. Effects of shiny cowbird parasitism on different components of house wren reproductive success. Ibis 149: 521–529.

Tversky A y I Simonson. 1993. Context-Dependent Preferences. Management Science 39: 10.

Kahneman D y A Tversky. 2003. The rational choice, values and frames. Psikhologicheskii Zhurnal, 24(4), 31-42.

Underwood TJ y SG Sealy. 2006. Parameters of brown-headed cowbird *Molothrus ater* egg discrimination in warbling vireos *Vireo gilvus*. Journal of Avian Biology 37:457-466

Vikan JR, BG Stokke, F Fossøy, C Jackson, E Huhta, J Rutila, A Moksnes y E Røskaft. 2009. Fixed rejection responses to single y multiple experimental parasitism in two *Fringilla* hosts of the common cuckoo. Ethology 115:840–850.

Wedell DH. 1991. Distinguishing among models of contextually induced preference reversals. Journal of Experimental Psychology Learning Memory and Cognition 17:767-778.

CAPÍTULO 8

DISCUSIÓN GENERAL

Los resultados de este trabajo muestran, por primera vez, el comportamiento individual de puesta de las hembras del Tordo Renegrido. Estudios previos habían sugerido una preferencia de las hembras por determinado hospedador (López-Ortiz y col. 2006, Mahler y col. 2007, De Mársico y col. 2010), pero este comportamiento había sido inferido a través de parámetros poblacionales. Mediante la asignación de la descendencia a 26 hembras se pudieron conocer aspectos novedosos sobre el comportamiento de parasitismo de esta especie, que hasta el momento no habían podido ser determinados por su alta movilidad y la dificultad en seguir los eventos de parasitismo.

En primer lugar, se encontraron evidencias que sugieren que las hembras utilizan un área acotada de puesta a lo largo de toda la temporada reproductiva. La misma área es utilizada simultáneamente por varias hembras, generando un uso compartido de los nidos. Estos resultados son consistentes con los encontrados por R. Scardamaglia (*com. pers*.) que por medio del monitoreo por radiotelemetría de hembras en el sitio de estudio, encontró que usan la misma área de aprox. 25 ha durante la temporada reproductiva y que el área utilizada durante un día tiene una superposición del 60% con la utilizada en días sucesivos, evidencia de áreas constantes de actividad. También observó que las áreas de actividad de varias hembras se superponen entre sí, generando diversas zonas de actividad en el sitio de estudio, que son utilizadas consistentemente por las mismas hembras.

La fidelidad a un sitio de puesta es un patrón comportamental (Pearce 2007) que se observa en varios parásitos de cría, para la misma o diferentes temporadas reproductivas (Soler y col. 1995, Sedgwick e Iko 1999, Hauber y Russo 2000, Langmore y col. 2007, Fossoy y col. 2011). Para el Cuclillo Común se encontró que las hembras utilizan una determinada área de puesta en superposición con otras hembras (Vogl y col. 2004) generando una alta tasa de parasitismo múltiple (>58%, Moskat y Honza 2002). Resultados similares se encontraron para las hembras de Tordo Cabeza Marrón, que presentan fidelidad a un sitio de puesta y que, a diferencia del Tordo Renegrido, muchas veces muestran comportamientos agresivos de defensa (Friedmann 1929, Dufty 1982, Darley 1983, Hahn y col. 1999, Hauber y Russo 2000, Hauber 2001, Hauber 2002). A pesar de este comportamiento territorial, en varias poblaciones se encontraron pichones parásitos compartiendo el mismo nido del hospedador (Alderson y col. 1999, Strausberger y Ashley 2003), incluso pichones hermanos (Rivers y col 2012), lo que

probablemente sea una consecuencia de las altas densidades de tordos parásitos en comparación con sus hospedadores (Elliott 1980).

Por otro lado, se ha propuesto que al utilizar un determinado sitio de puesta las hembras parásitas pueden causar errores de reconocimiento en aquellas parejas hospedadoras inexpertas, que durante su primer intento reproductivo incorporan el fenotipo del huevo parásito a su nidada y de esta forma logran disminuir la probabilidad de rechazo de esa pareja en los intentos reproductivos subsiguientes (Lotem 1993, Lawes y Marthews 2003, Hauber y col. 2004, Hoover y Hauber 2007, Strausberger y Rothstein 2009). Las hembras de tordo podrían obtener este beneficio al parasitar subsecuentemente a la misma pareja de hospedadores con comportamiento de rechazo de huevos, como es el caso de la calandria. Las diferencias entre parejas en el rechazo de huevos parásitos observadas en el capítulo 7 podrían ser consecuencia de diferentes experiencias de parasitismo durante la primera puesta.

Además, la fidelidad a un sitio de puesta permite a las hembras parásitas aprender el territorio físico del hospedador y de este modo facilitar la detección de nidos disponibles para parasitar así como observar el éxito relativo de los hospedadores (Hahn y col. 1999). El tiempo en el que un nido hospedador permanece disponible para recibir un huevo parásito es limitado y las hembras parásitas dependen del monitoreo permanente de los hospedadores para lograr parasitar sincrónicamente (Fiorini y col. 2009).

Por otra parte, se encontró una preferencia en la utilización de una especie hospedadora en todos los casos excepto en uno, en el que el número de huevos encontrados para la hembra fue muy bajo como para establecer el patrón. En la mayoría de las hembras la preferencia fue total y solo parasitaron a una especie hospedadora, mientras que para algunas (N=5) la preferencia fue parcial y se encontró una baja proporción de huevos en nidos de un hospedador alternativo.

Una combinación de hembras especialistas y generalistas en el uso de los hospedadores también fue reportada para el Tordo Cabeza Marrón (Alderson y col. 1999a, b, Hahn y col. 1999, Woolfenden y col. 2003, Strausberger y Ashley 2005, Ellison y col. 2006, Rivers y col. 2012). En esta especie se observó que las poblaciones están compuestas por hembras que utilizan una sola especie hospedadora y otras que parasitan varias especies y que la proporción de cada una de ellas varía entre poblaciones. Varios autores plantearon que las preferencias de las hembras son flexibles y se relacionan con la disponibilidad o la calidad de los hospedadores (Alderson y col. 1999, Woolfenden y col. 2003, Strausberger y Ashley 2005). Esta flexibilidad sería ventajosa en presencia de una variabilidad local y temporal de nidos (Woolfenden y col. 2003). Sin embargo, nuestros resultados sugieren que la utilización de un hospedador alternativo por las hembras de Tordo Renegrido no estaría sujeta a la disponibilidad de nidos, ya que

encontramos nidos activos de la especie preferida cuando ocurrió la puesta en la especie alternativa, aunque no podemos descartar la posibilidad de que la hembra parásita no haya encontrado esos nidos.

Se ha sugerido que el cambio de uso de hospedador en algunos individuos podría deberse a una asociación débil en el proceso de "*imprinting"* que conduciría a errores de reconocimiento y en consecuencia al uso de un nuevo hospedador (De Mársico y col. 2010b). Sin embargo, se esperaría que un "*imprinting*" defectuoso genere un cambio de hospedador más que una preferencia parcial. Asimismo, podemos descartar una confusión de tipo de nidos como la reportada por Di Giácomo y colaboradores (2010) ya que los nidos alternativos parasitados no se encontraban en la cercanía inmediata de un nido del hospedador preferido. Un mecanismo que podría explicar las preferencias parciales de las hembras es una estrategia de "muestreo", donde los individuos monitorean regularmente otras opciones no preferidas, independientemente de los recursos disponibles. Esta estrategia implicaría un bajo costo para la hembra si puede detectar fácilmente un nido disponible observando a otras hembras dentro de su área reproductiva.

Asimismo se observaron intentos de parasitismo repetido. Esta estrategia resultaría poco beneficiosa para la hembra parásita ya que sus pichones competirían por el cuidado parental de la pareja hospedadora (Strausberger 1998, Hahn y col. 1999, Trine 2000, Hoover 2003, McLaren y col. 2003, Moskat y col. 2006, Goguen y col. 2011). Para el Tordo Cabeza Marrón se encontró que el parasitismo repetido puede surgir de una fuerte competencia por el acceso a los nidos de los hospedadores en una población con una elevada densidad de parásitos (Alderson y col. 1999, Han y col. 1999, McLaren y col. 2003, Ellison y col 2006, Rivers y col 2012). Esto representa un costo para la hembra, las picaduras de los huevos por otros tordos, y la competencia por el alimento entre sus propias crías. Sin embargo, esta podría ser una estrategia adaptativa si el hospedador seleccionado tiene la capacidad de criar exitosamente a más de un pichón parásito (Hatch 1983, Rivers y col. 2003). Hay evidencias de que las dos especies hospedadoras utilizadas preferentemente por esta población de Tordo Renegrido pueden criar más de un pichón parásito (Fraga 1985, Tuero 2004, Fiorini 2007). Por otro lado, Tuero y colaboradores (2012) encontraron que en la mayoría de los nidos naturales los huevos de tordo son los menos dañados por el comportamiento de picaduras al parasitar, lo que indicaría que el costo de picaduras por parasitismo múltiple o repetido es relativo. Los autores plantearon que podría deberse a las propiedades intrínsecas de los huevos parásitos (que difieren en forma y grosor de la cáscara con respecto a los huevos del hospedador, siendo más resistentes a las picaduras, Mermoz y Ornelas 2004, Rahn y col. 1988, Spaw y Rohwer 1987, Picman 1989) o bien, sin ser mutuamente excluyente, porque las hembras pueden dejar más de un huevo en el mismo nido, y

para reducir el riesgo de romper sus propios huevos disminuyen la frecuencia o intensidad en las picaduras en visitas subsiguientes. El parasitismo repetido encontrado en esta población indica que las hembras no evitan activamente parasitar el mismo nido. Esto podría estar ligado a la densidad de nidos de la especie hospedadora preferida, donde en presencia de una baja densidad de nidos se incrementa la probabilidad de parasitar el mismo nido por azar.

Al alto grado de polimorfismo interindividual en los huevos de tordo subyace una constancia en el patrón de coloración a nivel individual. Este resultado apoya lo encontrado previamente en otras especies (Molnár 1944, Wyllie 1981, Dufty 1983, Fleischer 1985, Gibbons 1986, Jackson 1992, Lyon 1993a, b, Alvarez 1994, Moksnes y Røskaft 1995, McRae & Burke 1996, Langmore y col. 2007, Antonov y col. 2007, Moksnes y col. 2008). La similitud entre los huevos de diferentes hembras muestra, sin embargo, que no es conveniente estudiar la estrategia de puesta sobre la base del patrón de coloración de los huevos (Kattan 1997, Lyon 1997) ya que se podrían sobreestimar los huevos puestos por la misma hembra.

A diferencia de las evidencias encontradas en otras especies de aves, que proponen una herencia materna del patrón de manchas (Gibbs y col. 2000, Gosler y col. 2000) y autosómica de la coloración de fondo (Hutt 1949, Collias 1993, Marchetti y col. 1998), datos previos en el Tordo Renegrido no sustentan la herencia materna del patrón de manchas de sus huevos (Mahler y col. 2008). La constancia intraindividual encontrada en este estudio sugiere una base genética, en contraposición a una influencia del ambiente (Cherry y Bennett 2001, Avilés y col. 2007), donde se observaría una alta variabilidad entre los huevos de una misma hembra. En ausencia de herencia materna, los resultados apoyarían una herencia autosómica del patrón de manchas. De esta manera, la distribución, intensidad y tamaño de las manchas de las cáscaras de los huevos estarían dados por la combinación particular de genes heredados de los individuos parentales.

En conclusión, los resultados muestran un área de parasitismo acotada para cada hembra, en la que usa preferentemente los nidos de una determinada especie hospedadora. La utilización ocasional del nido de otro hospedador podría corresponder a una estrategia de “muestreo” mediada por el seguimiento de otras hembras que utilizan el mismo territorio, lo cual implicaría un bajo costo para encontrar nidos distintos a los preferidos. Esta estrategia se vería favorecida por el alto grado de polimorfismo de los huevos del Tordo Renegrido, donde las hembras no pueden anticipar la coloración de sus propios huevos y la utilización de más de una especie hospedadora podría aumentar las chances de que al menos alguno de sus huevos se desarrolle en forma exitosa. Además, explicaría la incorporación de nuevos hospedadores, un aspecto clave para la expansión de esta especie parásita.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alderson GW, HL Gibbs, y SG Sealy. 1999. Determining the reproductive behaviour of individual Brown-headed Cowbirds using microsatellite DNA markers. Animal Behaviour 58: 895-905.

Alderson GW, Gibbs, HL y SG Sealy. 1999b. Parentage and kinship analyses in an obligate brood parasitic bird, the brown-headed cowbird (*Molothrus ater*) using microsatellite DNA markers. Journal of Heredity 90: 182-190.

Alvarez F. 1994. A gens of cuckoo *Cuculus canorus* parasitizing rufous bush chat *Cercotrichas galactotes*. Journal of Avian Biology 25:239-243.

Antonov A, BG Stokke, A Moksnes y E Røskaft. 2007. First evidence of regular common cuckoo, *Cuculus canorus*, parasitism on eastern olivaceous warblers, Hippolais *Pallida elaeica*. Naturwiss 94: 307-312.

Avilés JM, BG Stokke, A Moksnes, E Røskaft y AP Møller. 2007. Environmental conditions influence egg color of reed warblers *Acrocephalus scirpaceus* and their parasite, the common cuckoo *Cuculus canorus*. Behavioral Ecology and Sociobiology 61: 475–485.

Cherry MI y ATD Bennett. 2001. Egg colour matching in an African cuckoo, as revealed by ultraviolet-visible reflectance spectrophotometry. Proceedings of the Royal Society B 268: 565–571.

Collias EC. 1993. Inheritance of egg-color polymorphism in the village weaver (*Ploceus cucullatus*). Auk 110:683–692

Darley JA. 1983. Territorial behavior of the brown-headed cowbird. Canadian Journal of Zoology 61:65–69

de la Colina MA, B Mahler y JC Reboreda. 2010. Differences in morphology and colour pattern of shiny cowbird (*Molothrus bonariensis*) eggs found in nests of two hosts. Biological Journal of Linnean Society 102:838–845.

De Mársico MC y JC Reboreda. 2010. Brood parasitism increases mortality of baywinged cowbird nests. Condor 112, 407–417.

De Mársico MC, B Mahler, M Chomnalez, AG Di Giacomo y JC Reboreda. 2010b. Host use by generalist y specialist brood parasitic cowbirds at population y individual levels. Advances in the Study of Behavior 42: 83-121.

Di Giacomo AG, B Mahler y JC Reboreda. 2010. Screaming Cowbird parasitism on nests of Solitary Caciques and Cattle Tyrants. Wilson Journal of Ornithology 122: 795-799.

Dufty JrAM. 1982. Movements and activities of radio-tracked Brown-headed Cowbirds. Auk, 99:316–327.

Dufty AMJr. 1983. Variation in the egg markings of the brown-headed cowbird. Condor 85: 109–111.

Elliott PF. 1980. Evolution of promiscuity in the brown-headed cowbird. Condor 82:138-141.

Ellison K, SG Sealy y HL Gibbs. 2006. Genetic elucidation of host use by individual sympatric bronzed cowbirds (*Molothrus aeneus*) and brown-headed cowbirds (*M. ater*). Canadian Journal of Zoology 84: 1269–1280.

Fleischer RC. 1985. A new technique to identify and assess the dispersion of eggs of individual brood parasites. Behavioral Ecology and Sociobiology 17: 91–100.

Fossoy F, A Antonov, A Moksnes, E Roskaft, JR Vikan, AP Moller, JA Shykoff, BG Stokke. 2011. Genetic differentiation among sympatric cuckoo host races: males matter. Proceedings of the Royal Society B 278:1639–1645

Fraga RM. 1983. Parasitismo de cría del Renegrido *Molothrus bonariensis* sobre el Chingolo *Zonotrichia capensis*: nuevas observaciones y conclusiones. Hornero 12, No. Extraord.:245-255.

Friedmann H. 1929. The cowbirds. A study in the biology of social parasitism. C. C. Thomas, Springfield, Illinois.

Gibbons DW. 1986. Brood parasitism and cooperative nesting in the moorhen, *Gallenula chloropus*. Behavioral Ecology and Sociobiology 19: 221–232.

Gibbs HL, P Miller, G Alderson y SG Sealy. 1997. Genetic analysis of brown-headed cowbirds *Molothrus ater* raised by different hosts: data from mtDNA and microsatellite DNA markers. Molecular Ecology 6: 189–193.

Gibbs HL, MD Sorenson, K Marchetti, MdeL Brooke, NB Davies y H Nakamura. 2000. Genetic evidence for female host-specific races of the common cuckoo. Nature 407: 183-186.

Goguen CB, DR Curson y NE Mathews. 2011. Costs of multiple parasitism for an avian brood parasite, the brown-headed cowbird (*Molothrus ater*). Canadian Journal of Zoology 89: 1237-1248.

Gosler AG, PR Barnett y SJ Reynolds. 2000. Inheritance y variation in eggshell patterning in the great tit *Parus major*. Proceedings of the Zoological Society of London 267: 2469-2473.

Grant ND y SG Sealy. 2002. Selection of red-winged blackbird (*Agelaius phoeniceus*) hosts by the brown-headed cowbird (*Molothrus ater*). *Bird Behaviour*, 11**,** 21–30.

Hahn DC, JA Sedgwick, IS Painter y NJ Casna. 1999. A spatial and genetic analysis of cowbird host selection. Studies in Avian Biology 18: 204–217.

Hatch SA. 1983. Nestling growth relationships of brown-headed cowbirds and dickcissels. Wilson Bulletin 95:669-671.

Hauber ME. 2002. First contact: a role for adult-offspring social association in the species recognition system of brood parasites. Annales Zoologici Fennici 39: 291–305

Hauber ME, PW Sherman y D Paprika. 2000. Self-referent phenotype matching in a brood parasite: the armpit effect in brown-headed cowbirds (*Molothrus ater*). Animal Cognition 3:113–117

Hauber ME. 2001. Site selection and repeatability in brown-headed cowbird (*Molothrus ater*) parasitism of eastern phoebe (*Sayornis phoebe*) nests. Canadian Journal of Zoology 79:1518–1523

Hauber ME, PJ Yeh y JOL Roberts. 2004. Patterns and coevolutionary consequences of repeated brood parasitism. Proceedings of the Royal Society B 271:S317–S320

Hauber ME y SA Russo. 2000. Perch proximity correlates with higher rates of cowbird parasitism of ground nesting song sparrows. Wilson Bulletin 112:150–153

Hoover JP. 2003. Multiple effects of brood parasitism reduce the reproductive success of prothonotary warblers, *Protonotaria citrea*. Animal Behaviour 65:923–934

Hoover JP y ME Hauber. 2007. Individual patterns of habitat and nest site use by hosts promote transgenerational transmission of avian brood parasitism status. Journal Animal Ecology 76:1208–1214

Hutt FB. 1949. Genetics of the Fowl. McGraw–Hill, New York.

Jackson WM. 1992. Estimating conspecific nest parasitism in the northern masked weaver based on within-female variability in egg appearance. Auk: 109: 435–443.

Kattan GH. 1997. Shiny cowbirds follow the 'shotgun' strategy of brood parasitism. Animal Behaviour 53: 647–654.

King JR. 1973. Reproductive relationships of the Rufous-collared Sparrow and the Shiny Cowbird. Auk 90:19-34.

Langmore NE, GJ Adcock y RM Kilner. 2007. The spatial organization and mating system of Horsfield's bronze-cuckoos, *Chalcites basalis*. Animal Behaviour 74: 403-412.

Lawes MJ y TR Marthews. 2003. When will rejection of parasite nestlings by hosts of non-evicting avian brood parasites be favored? A misimprinting-equilibrium model. Behavioral Ecology 14:757–770

López-Ortiz R, EA Ventosa-Febles, KR Ramos-Alvarez, R Medina-Miranda y A Cruz. 2006. Reduction in host use suggests host specificity in individual shiny cowbirds (*Molothrus bonariensis*). Ornitología Neotropical. 17: 259–269.

Lotem A. 1993. Learning to recognize nestlings is maladaptive for cuckoo *Cuculus canorus* hosts. Nature 362: 743-745.

Lyon BE. 1993a. Conspecific brood parasitism as a flexible female reproductive tactic in American coots. Animal Behaviour 46: 911–928.

Lyon BE. 1993b. Tactics of parasitic American coots: host choice and the pattern of egg dispersion among host nests. Behavioral Ecology and Sociobiology 33, 87–100.

Lyon BE. 1997. Spatial patterns of shiny cowbird brood parasitism on chestnut-capped blackbirds. Animal Behaviour 54: 927-939

Mahler B, VA Confalonieri, IJ Lovette y JC 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.

Mahler B, VA Confalonieri, IJ Lovette y JC Reboreda. 2008. Eggshell spotting in brood parasitic shiny cowbirds (*Molothrus bonariensis*) is not linked to the female sex chromosome. Behavioral Ecology and Sociobiology 62: 1193–1199.

Marchetti K, HL Gibbs y H Nakamura. 1998. Host-race formation in the common cuckoo. Science 282: 471–472.

Martínez JG, JJ Soler, M Soler y T Burke. 1998. Spatial patterns of egg laying and multiple parasitism in a brood parasite: a non-territorial system in the great spotted cuckoo (*Clamator glamdarius*). Oecologia 117: 286-294.

McLaren CM, SG Sealy, BE Woolfenden, y HL Gibbs. 2003. Genetic and temporal patterns of multiple parasitism by brown-headed cowbirds (*Molothrus ater*) on song sparrows (*Melospiza melodia*). Canadian Journal of Zoology 81: 281.

McRae SB y T Burke. 1996. Intraspecific brood parasitism in the moorhen: parentage and parasite– host relationships determined by DNA fingerprinting. Behavioral Ecology and Sociobiology 38: 115–129.

Mermoz ME y JF Ornelas. 2004. Phylogenetic analysis of life-history adaptations in parasitic cowbirds. Behavioral Ecology 15: 109-119.

Moksnes A y E Røskaft. 1995. Egg-morphs and host preference in the common cuckoo (*Cuculus canorus*): an analysis of cuckoo and host eggs from European museum collections. Journal of Zoology 236: 625–648.

Moksnes A, E Røskaft, G Rudolfsen, S Skjelseth, BG Stokke, O Kleven, HL Gibbs, M Honza, B Taborsky, Y Teuschl, W Vogl y M Taborsky. 2008. Individual female common cuckoos *Cuculus canorus* lay constant egg types but egg appearance cannot be used to assign eggs to females. Journal of Avian Biology 39: 238–241.

Molnár B. 1944. The cuckoo in the Hungarian plain. Aquila 51: 100-112.

Moskat C y M Honza M. 2002. European cuckoo *Cuculus canorus* parasitism and host's rejection behaviour in a heavily parasitized great reed warbler *Acrocephalus arundinaceus* population. Ibis, 144, 614-622.

Moskat C, Z Barta, ME Hauber y M Honza. 2006. High synchrony of egg laying in common cuckoos (*Cuculus canorus*) and their great reed warbler (*Acrocephalus arundinaceus*) hosts. Ethology Ecology & Evolution 18: 159-167.

Pearce JM 2007). Philopatry: a return to origins. Auk 124:1085–1087

Picman J. 1989. Mechanisms of increased puncture resistance of eggs of brown-headed cowbirds. Auk 106, 577–583.

Rahn H, L Curran-Everett y DT Booth. 1988. Eggshell differences between parasitic and nonparasitic Icteridae. Condor 90, 962–964.

Rivers JW, DP Althoff, PS Gipson y JS Pontius. 2003. Evaluation of a reproductive index to estimate dickcissel reproductive success. Journal of Wildlife Management 67: 136-143.

Rivers JW, S Young, EG Gonzalez, B Horton, J Lock y RC Fleischer. 2012. High levels of relatedness between brown-headed cowbird (*Molothrus ater*) nestmates in a heavily parasitized host community. Auk 129: 623-631.

Sedgwick JA y WM Iko. 1999. Costs of brown-headed cowbird parasitism to willow flycatchers. Studies in Avian Biology 18, 167–181.

Smith JNM. 1981. Cowbird parasitism, host fitness, and age of the host female in an island song sparrow population. Condor 83: 152–161.

Smith JNM y P Arcese. 1994. Brown-headed cowbirds and an island population of song sparrows: a 16-year study. Condor 96:916– 934

Soler JJ, M Soler, AP Moller y JG Martinez. 1995. Does the great spotted cuckoo choose magpie hosts according to their parenting ability? Behavioral Ecology and Sociobiology 36: 201-206.

Soler M y JJ Sole. 1999. Innate versus learned recognition of conspecifics in great spotted cuckoos (*Clamator glandarius*). Animal Cognition 2:97–102

Spaw CD y S Rohwer. 1987. A comparative study of eggshell thickness in cowbirds and other passerines. Condor 89, 307–318.

Strausberger BM. 1998. Temporal patterns of host availability, brown-headed cowbird parasitism, and parasite egg mass. Oecologia 116: 267-274.

Strausberger BM y MV Ashley. 2003. Breeding biology of brood parasitic brown-headed cowbirds (*Molothrus ater*) characterized by parent-offspring and sibling group reconstruction. Auk. 120: 433-445.

Strausberger BM y MV Ashley. 2005. Host use strategies of individual female brown-headed cowbirds *Molothrus ater* in a diverse avian community. Journal of Avian Biology 36: 313–321.

Strausberger BM y SI Rothstein. 2009. Parasitic cowbirds may defeat host defense by causing rejecters to misimprint on cowbird eggs. Behavioural Ecology 20:691–699

Trine CL. 2000. Effects of multiple parasitism on cowbird and wood thrush nesting success. In: Ecology and management of cowbirds and their hosts. (eds. Smith, J. N.

M., Cook, T. L., Rothstein, S. I., Robinson, G. E. And Sealy, S. G.). Austin, U.S.A: University of Texas Press, pp. 135-155

Tuero DT, VD Fiorini, B Mahler y Reboreda JC. 2012. Shiny cowbird *Molothrus bonariensis* egg size and chick growth vary between two hosts that differ markedly in body size. Journal of Avian Biology 43: 227-233.

Vogl W, B Taborsky, M Taborsky, Y Teuschl. y M Honza. 2004. Habitat and space use of European cuckoo females during the egg laying period. Behaviour 141: 881-898.

Woolfenden BE. 2000. Demography and breeding behaviour of brown-headed cowbirds: an examination of host use, individual mating patterns and reproductive success using microsatellite DNA markers. Ph.D. thesis, McMaster University.

Woolfenden BE, Gibbs HL y SG Sealy. 2001. Demography of brown-headed cowbirds at Delta Marsh, Manitoba. Auk 118:156–166

Woolfenden BE, HL Gibbs, SG Sealy y DG Mc. Master. 2003. Host use and fecundity of individual female brown-headed cowbirds. Animal Behavior 66: 95–106.

Wyllie I. 1981. The cuckoo. Batsford, London.