

Tesis de Licenciatura

Diferencias sexuales en la localización de alimento utilizando claves visuales y espaciales en el Tordo Renegrido

Astíe, Andrea Alejandra

1997

Tesis presentada para obtener el grado de Licenciado en Ciencias Biológicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis de licenciatura 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 Six-Year Bachelor's 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:

Astíe, Andrea Alejandra. (1997). Diferencias sexuales en la localización de alimento utilizando claves visuales y espaciales en el Tordo Renegrido. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://hdl.handle.net/20.500.12110/seminario_nBIO000507_Astie

Cita tipo Chicago:

Astíe, Andrea Alejandra. "Diferencias sexuales en la localización de alimento utilizando claves visuales y espaciales en el Tordo Renegrido". Tesis de Licenciado. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1997. http://hdl.handle.net/20.500.12110/seminario_nBIO000507_Astie

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

Diferencias sexuales en la localización de alimento utilizando
claves visuales y espaciales en el Tordo Renegrado

Tesis de Licenciatura
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Universidad de Buenos Aires



Andrea Astié - 1997

507


107

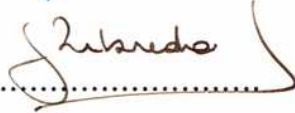
Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Departamento de Ciencias Biológicas

Diferencias sexuales en la localización de alimento utilizando
claves visuales y espaciales en el Tordo Renegrado

Tesis de Licenciatura
Autor: Andrea Alejandra Astié
Director: Dr. Juan Carlos Reboreda
Lugar de Trabajo: Instituto de Biología y Medicina Experimental-CONICET

Julio de 1997

Firma del Tesista:

Firma del Director:

A Nicolás
A mi papá y mi mamá

Agradecimientos	1
Resumen	2
Introducción	3
Memoria y neuroanatomía	3
Especialización adaptativa del hipocampo	4
Estudios comportamentales	6
Memoria espacial e hipocampo en aves parásitas	8
Biología general de <i>Molothrus bonariensis</i>	10
Objetivos	10
Materiales y Métodos	12
Sujetos experimentales y condiciones ambientales	12
Animales	12
Condiciones ambientales	12
Alimentación	13
Análisis previos	14
Aclimatación	14
Diseño experimental	15
Entrenamiento	16
Experimento	17
Claves visuales	17
Claves espaciales	18
Grupos experimentales	19
Análisis de datos	21
Resultados	23
Claves visuales	23
Número de errores	23
Latencia	24
Claves espaciales	24
Número de errores	24
Latencia	26
Discusión	29

Metodología utilizada	29
Claves visuales	30
Claves espaciales	31
Efectos de otras variables	32
Hipótesis alternativas	34
Conclusiones	36
Bibliografía	37

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer

- A mi director Juan Carlos Reboreda por haberme dado la oportunidad de trabajar con él en el Laboratorio de Comportamiento Animal del IBYME y por su dedicación y paciencia en este trabajo, que leyó y corrigió infinitas veces.
- A Florencia Fernandez Campón por todos los favores, consejos y opiniones sobre el seminario y por el tiempo compartido durante este trabajo.
- A Myriam Mermoz, Gustavo Fernandez, Fabián Gabelli, Rubén Muzio y Pablo Tubaro por colaborar con las tareas de alimentación y privación de los tordos.
- A Valentina Ferreti por leer y dar su opinión sobre el trabajo.
- A Favio Traci por las imágenes digitalizadas.
- A Nicolás por acompañarme durante toda la carrera y haberlo sobrevivido.
- A mi mamá y mi papá por haberme apoyado siempre. A Fabiana, Juan Pablo, Diana, Arturo, Armando, Lucía y abuela Dora.
- A todas las personas que me acompañaron y me ayudaron en estos siete años en Buenos Aires: Mausi, Carlos, Lele, Manú, Raul, Silvia y mis amigas de la facultad.

RESUMEN

El parasitismo de cría es una estrategia reproductiva en la que el ave parásita deposita sus huevos en los nidos de otras especies de aves las cuales proveen la totalidad de la incubación y el cuidado parental. Durante la temporada reproductiva, las aves parásitas ubicarían y memorizarían la posición de nidos de hospedadores potenciales que aún no están suficientemente avanzados para la puesta pero que podrían ser utilizados posteriormente. El tordo renegrido (*Molothrus bonariensis*) es una especie parásita en la que la búsqueda de nidos es realizada exclusivamente por las hembras. En relación con esta diferencia comportamental se ha encontrado que las hembras poseen un hipocampo (área del cerebro que está asociada con procesos de memoria espacial) mayor que los machos. En este trabajo se analizan las diferencias entre machos y hembras para resolver tareas utilizando claves visuales y espaciales del ambiente. La tarea consistió en buscar el alimento que se encontraba en una celda de un parche de madera con 64 celdas distribuidas en forma regular. En el experimento con claves visuales la ubicación del alimento variaba al azar entre ensayos y estaba indicada por una tapa con un color distinto al del resto de las celdas. En el experimento con claves espaciales la ubicación del alimento no varió a lo largo de la experiencia y el color de las tapas fue el mismo para todas las celdas. Las variables registradas en los dos experimentos fueron número de errores y latencia en encontrar la celda con alimento. El desempeño de los individuos mejoró significativamente durante el transcurso de ambos experimentos, con una marcada disminución en el número de errores y en la latencia para encontrar la celda con alimento. En el tratamiento con claves visuales las hembras llegaron a la asíntota más rápidamente que los machos mientras que en el tratamiento de claves espaciales no se observaron diferencias sexuales.

INTRODUCCION

Memoria y neuroanatomía

El estudio de la memoria y su relación con la neuroanatomía, el comportamiento y la ecología de los animales ha sido tratado en una gran cantidad de trabajos. Actualmente, existe una amplia gama de evidencias sobre la correlación existente entre ellos.

Entre los casos de especialización relacionados con características neuroanatómicas se encuentra el de los pájaros con cantos complejos y repertorios amplios, en los que se observan centros vocales y núcleos cerebrales de mayor tamaño, en relación con pájaros de cantos más simples y repertorios pequeños (Székely *et al.*, 1996). Estos autores sugieren que la selección sexual podría modelar la evolución de un comportamiento particular alterando el área del cerebro involucrada en dicho comportamiento. Otros estudios (para una revisión ver DeVogd, 1994) han mostrado cambios estacionales en el volumen de los núcleos que controlan el canto de las aves. Estos cambios están en general asociados al aprendizaje de nuevos cantos. Siguiendo con este tipo de evidencias, algunos autores observaron que las aves nocturnas poseen bulbos olfatorios de mayor tamaño que las aves diurnas (Healy y Guilford, 1990 en Giraldeau, 1997) y que las aves con procéfalos de mayor tamaño son capaces de usar nuevas técnicas de forrajeo (Lefebvre *et al.*, 1997).

Por otro lado, distintas características ecológicas de los animales pueden estar actuando como presiones selectivas sobre la anatomía del cerebro. Por ejemplo, los murciélagos y primates con dietas insectívoras o frugívoras tienen una mayor encefalización que los folívoros (Pagel y Harvey, 1989). Se piensa que esta diferencia puede estar relacionada con las grandes extensiones que deben cubrir los animales insectívoros y frugívoros debido a la impredecibilidad temporal y espacial de la fuente de alimento.

Especialización adaptativa del hipocampo

Uno de los modelos de memoria como especialización adaptativa que ha sido más estudiado es el de memoria espacial e hipocampo. El hipocampo es una región del cerebro que ha sido implicada en distintos tipos de aprendizaje, en especial en los relacionados con memoria espacial (O'Keefe y Nadel, 1978). En aves, se llama hipocampo a la región dorsomedial del cerebro y estructuras relacionadas. Estas estructuras forman parte del arquicortex y se consideran homólogas al hipocampo de mamíferos (Sherry y Vaccarino 1989).

La estrecha relación que existe entre hipocampo y memoria espacial en aves quedó demostrada en una serie de trabajos realizados en palomas mensajeras. Al realizar ablaciones en el hipocampo de distintos individuos se observó que estos eran incapaces de retener la información direccional que habían adquirido en un entrenamiento previo a la lesión (Bingman *et al.*, 1987). Sin embargo, las lesiones no impedían la capacidad de adquirir nueva información, aunque la resolución de la tarea era realizada en forma más lenta en relación con los individuos normales (Bingman *et al.*, 1988).

Las aves constituyen un buen modelo para el estudio de la relación hipocampo-memoria espacial, ya que muestran varios comportamientos complejos basados en memoria espacial como migración, almacenamiento y recuperación de alimento y parasitismo de cría (en la búsqueda de nidos de potenciales hospedadores). Es por eso que la mayoría de los trabajos en los que se estudia esta relación se han realizado en aves. En muchos de estos trabajos se ha encontrado una correlación positiva entre el tamaño del hipocampo (relativo al telencéfalo) y la importancia de la memoria espacial en el comportamiento y la ecología de los animales.

Un ejemplo es el de las aves migratorias de la familia Sylviidae (*Sylvia borin*), en las que se observó que el volumen relativo del hipocampo de aquellos individuos que habían realizado al menos un viaje migratorio era mayor que el volumen de los sujetos jóvenes que nunca habían migrado. También se encontró que el tamaño del hipocampo en esta especie migratoria era mayor que el tamaño del hipocampo de otra especie (*Sylvia melanocephalia*) de la misma familia (Healy *et al.*, 1996).

Esta correlación positiva entre el tamaño del hipocampo y el uso de memoria espacial también se encontró en aves que almacenan comida. En un estudio que involucró 35 especies y subespecies de paseriformes se mostró que las especies que almacenan comida tienen un volumen del hipocampo relativo al resto del cerebro y al tamaño corporal significativamente mayor que las especies que no almacenan comida (Krebs *et al.*, 1989). Por otro lado, Healy y Krebs (1993) estudiaron el desarrollo del hipocampo en una especie de la familia Corvidae (*Pica pica*) la cual almacena alimento a lo largo de todo el año y encontraron que los pichones no difieren en el tamaño del hipocampo con los pichones de otra especie (*Corvus monedula*) que no almacena alimento, mientras que entre los adultos de ambas especies sí existen diferencias. Estos autores sugirieron que el aumento del hipocampo ocurre en etapas relativamente tardías del desarrollo, cuando los animales comienzan a buscar y almacenar su propia comida.

Otra evidencia de que el desarrollo del hipocampo en las especies que almacenan alimento estaría asociado a la experiencia fue aportado por Clayton y Krebs (1994a). El experimento se realizó en dos grupos de individuos de la especie *Parus palustris*. Un grupo fue expuesto a una situación en la que se les permitía a los animales almacenar y recuperar el alimento, mientras que los integrantes del otro grupo no tenían esta posibilidad. Se observó que los individuos del primer grupo desarrollaron un hipocampo de mayor tamaño que los individuos del segundo grupo, llevando a la conclusión de que algún aspecto de este comportamiento influye directamente sobre el crecimiento de la región hipocampal.

El comportamiento de recuperar comida tiene un ciclo anual que fluctúa con un pico de máxima actividad en otoño y principios del invierno (Odum, 1942 en Clayton y Cristol, 1997) y está correlacionado positivamente con cambios estacionales en el volumen del hipocampo, siendo mayor durante la época del año en que los animales almacenan y recuperan alimento y por lo tanto almacenan nueva información en su cerebro (Smulders *et al.*, 1995). Estos cambios estacionales incluyen procesos de neurogénesis y reemplazo neuronal (Barnea y Nottebohm, 1994).

Clayton y Cristol (1997) realizaron experimentos en los que se alteró el ciclo luz-oscuridad. Estos autores observaron que los cambios en el fotoperíodo causaban cambios en

el comportamiento de almacenamiento y en la memoria espacial y que los individuos mantenidos con períodos de luz cortos tenían un mejor desempeño que los que eran mantenidos con períodos de luz largos.

Estudios comportamentales

El estudio de modificaciones en los fenómenos de memoria y aprendizaje se ha centrado especialmente en las aves que almacenan alimento en épocas de abundancia y lo recuperan en momentos de escasez. La ventaja que aporta este comportamiento es que representa uno de los pocos casos en donde se observa una capacidad cognitiva como adaptación evolutiva a un nicho ecológico particular.

La mayoría de los trabajos se han realizado sobre aves de las familias Paridae y Corvidae (Orden Paseriformes). Estas familias tienen especies que almacenan alimento y especies que no lo almacenan y permite realizar estudios comparativos cruzados entre especies filogenéticamente o ecológicamente relacionadas.

Existen una serie de experimentos de oclusión monocular que proveen una demostración simple del uso de memoria espacial para el almacenamiento del alimento. Este tipo de trabajos aporta evidencias sobre memoria espacial porque el quiasma óptico en aves se entrecruza totalmente y cada hemisferio recibe información del ojo contralateral (Clayton, 1993). Así, individuos de la especie *Parus palustris* (familia Paridae) son entrenados para almacenar comida con un ojo tapado y no tienen éxito en recuperarla cuando es el ojo opuesto el que se encuentra tapado (Clayton y Krebs, 1993). Se obtuvieron resultados similares en una especie de la familia Corvidae, *Garrulus glandarius*, que también almacena alimento (Clayton y Krebs, 1995a).

En otra línea de trabajo se comparó el desempeño de cuatro especies de aves de la familia Corvidae que almacenan comida permitiéndoles almacenar semillas en huecos con arena en el piso de un cuarto y registrando la cantidad de semillas recuperadas luego de distintos períodos de tiempo. Se observó que dos de estas especies (*Aphelocoma*

coerulescens y *A. ultramarina*), relacionadas con zonas de mayor disponibilidad de alimento, recordaban la ubicación de las semillas por períodos de tiempo más cortos que las dos especies restantes (*Nucifraga columbiana* y *Gymnorhinus cyanocephalus*). La conclusión de este experimento fue que la capacidad mnésica de las aves que almacenan comida, estaría correlacionada positivamente con el grado de dependencia de la recuperación del alimento en cada especie (Bednecoff *et al.*, 1997).

Por otro lado, en algunos estudios comportamentales es necesario comparar especies que almacenan comida con especies que no almacenan comida y en este caso hay que encontrar una tarea que puedan realizar ambas especies. Healy y Krebs (1992a) diseñaron un experimento en el que los animales debían buscar un trozo de comida en los escondites de un cuarto. Se encontró que no habían diferencias en el número de errores cometidos, pero luego, utilizando el mismo diseño con algunas variantes, Clayton y Krebs (1994b) encontraron diferencias en los patrones de búsqueda de las especies que almacenan y las que no almacenan.

Aportando más evidencias sobre el uso diferencial de la memoria, se entrenó a dos especies con una clave combinada (espacial y visual) en una primera fase, y se les presentaron las claves disociadas (color correcto en lugar incorrecto) en una segunda fase. Las aves que almacenan comida mostraron preferencia por la clave espacial y las que no almacenan no mostraron preferencia por ninguna de las dos claves en particular (Clayton y Krebs, 1994c).

Por último, en un experimento con laberinto donde se registraba el número de veces que los animales volvían a un lugar sin alimento, se encontró que las aves almacenadoras tenían mejor desempeño que las no almacenadoras, es decir, la reincidencia a los sitios sin alimento era menor (Hilton y Krebs, 1990 en Krebs *et al.*, 1996).

Memoria espacial e hipocampo en aves parásitas

El parasitismo de cría es una estrategia reproductiva en la que el ave parásita deposita sus huevos en los nidos de otras especies de aves -especies hospedadoras- las cuales proveen la totalidad de la incubación y del cuidado parental. Esta estrategia es practicada por aproximadamente el 1% de las especies de aves (Payne, 1977) y ha implicado el desarrollo de numerosas adaptaciones comportamentales (para una revisión ver Rothstein, 1990).

Uno de los grupos donde el parasitismo ha evolucionado en forma independiente (Lanyon, 1992) son los tordos parásitos del género *Molothrus* (Icterinae). El éxito de un tordo parásito depende en gran parte de la sincronización entre la puesta de sus huevos y los de su hospedador (Mermoz, 1996). Los huevos de tordos parásitos tienen un período de incubación más corto que el que correspondería a un huevo de su tamaño (Briskie y Sealy, 1990). Esto permitiría que sus pichones eclosionen primero y de esta forma tengan ventajas (mayor tamaño corporal) en la competencia por alimento con los pichones del hospedador.

Durante la estación reproductiva, las hembras de los tordos parásitos ponen huevos en forma prácticamente continua (Scott y Ankney, 1983; Kattan, 1993). Los huevos son puestos por la mañana temprano (Hoy y Ottow, 1964; Scott, 1991) y el resto de la mañana sería utilizada para la búsqueda de nidos en los que poner huevos los días siguientes. De esta forma, durante la temporada reproductiva, los tordos parásitos ubicarían y memorizarían la posición de nidos de hospedadores potenciales que aún no están suficientemente avanzados para la puesta pero que podrían ser utilizados posteriormente.

En el tordo de cabeza marrón (*Molothrus ater*) las hembras buscan nidos en los que poner sus huevos, retornando uno o varios días después de haberlos localizado (Hann, 1941). Los machos no colaboran con las hembras en este proceso (Rothstein *et al.*, 1987). Sherry *et al.* (1993) sugirieron que la selección por habilidades espaciales que requiere que las aves localicen y retornen en forma precisa a los nidos visitados previamente podría haber producido una diferenciación sexual en el tamaño del hipocampo. Estos autores encontraron que el tamaño del hipocampo relativo al tamaño del telencéfalo era mayor en hembras que en

machos de esta especie pero no observaron diferencias sexuales en 2 especies no parásitas (*Agelaius phoeniceus* y *Quiscalus quiscula*).

Existe un caso similar en mamíferos, donde se encontró una diferenciación sexual correlacionada positivamente con el uso de memoria espacial, en una especie poligínica del género *Microtus* que posee un hipocampo de mayor tamaño que una especie monógama del mismo género (Jacobs *et al.*, 1990). Además, el tamaño del hipocampo de los machos de la especie poligínica es mayor que el de las hembras mientras que no existen diferencias sexuales en la especie monógama (Gaulin y Fitzgerald, 1989). Los machos de la especie poligínica poseen territorios de considerable mayor tamaño que los de la especie monógama por lo que tendrían una mayor demanda de memoria espacial.

La hipótesis de Sherry fue también puesta a prueba en un estudio comparativo realizado en 3 especies de tordos del neotrópico (Reboreda *et al.*, 1996). Estas especies poseen un tamaño similar y están estrechamente relacionadas filogenéticamente pero tienen estilos de vida muy diferentes. El tordo renegrado (*Molothrus bonariensis*) es un parásito obligado generalista que utiliza más de 200 especies (Friedmann y Kiff, 1985). Las hembras buscan nidos sin la asistencia de los machos (Mason, 1987). El tordo de pico corto (*Molothrus rufoaxillaris*) es también parásito obligado. En esta especie, que parásita casi exclusivamente a una especie (*Molothrus badius*), ambos sexos colaboran en la búsqueda de nidos (Mason, 1987). Por último, *Molothrus badius*, no es parásita (Fraga, 1991).

En forma consistente con la hipótesis de Sherry, el volumen hipocampal relativo de las 2 especies parásitas fue mayor que el de la especie no parásita. Por otra parte, el tamaño del hipocampo fue mayor en hembras que en machos de *Molothrus bonariensis* (especie en la que sólo las hembras buscan nidos) pero no se observaron diferencias entre hembras y machos de *Molothrus rufoaxillaris* (especie en la que hembras y machos buscan nidos juntos). En un estudio complementario (Clayton *et al.*, en prensa) se observó que durante la temporada no-reproductiva, el volumen relativo del hipocampo de hembras de *Molothrus bonariensis* y de hembras y machos de *Molothrus rufoaxillaris* era menor que durante la temporada reproductiva.

Estos resultados indican que las aves parásitas, al igual que las aves que almacenan alimento, serían un interesante modelo para estudiar la especialización evolutiva en la morfología del cerebro y la plasticidad del cerebro en relación con la experiencia.

Biología general de *Molothrus bonariensis*

El tordo renegrado, *Molothrus bonariensis*, es una de las cinco especies de parásitos de cría pertenecientes a la subfamilia Icterinae. Su área de distribución actual abarca toda América del Sur excepto en los Andes de altura, Sur de Patagonia y áreas no exploradas de la selva amazónica (Mermoz, 1996).

Los machos son de mayor tamaño y de color negro con brillo metálico, y las hembras son más pequeñas y color gris oscuro. Forman bandadas numerosas que son residentes todo el año y durante la noche se agrupan en dormideros a donde confluyen hasta varios miles de individuos (Feare y Zaccagnini, 1993).

Los adultos se alimentan en el suelo, principalmente de insectos aunque también comen granos. En invierno pueden asociarse con otros Ictéridos formando bandadas mixtas que confluyen a sitios de alimentación comunes (Mermoz, 1996).

Objetivos

Si bien existen varios trabajos en los que se analizó la correlación entre la capacidad de resolver tareas que requieren del uso de memoria espacial por parte de distintas especies y el tamaño relativo de su hipocampo, estos estudios se han realizado exclusivamente en aves que almacenan comida (para una revisión ver Clayton y Krebs 1995b).

Como se mencionó anteriormente, las aves parásitas presentan diferencias intra e interespecíficas en el tamaño relativo del hipocampo que correlacionan con el uso que esta especie hacen del espacio (localización de nidos). Sin embargo hasta el presente no se han

realizado estudios donde se analice si esas diferencias implican una mayor capacidad para resolver tareas que requieren del uso de memoria espacial.

El objetivo de este trabajo es analizar las diferencias entre hembras y machos de tordo renegrado (*Molothrus bonariensis*) para resolver tareas utilizando claves visuales y espaciales del ambiente.

MATERIALES Y METODOS

Sujetos experimentales y condiciones ambientales

Animales

Se utilizaron 12 individuos (6 hembras y 6 machos) de tordo renegrado, (*Molothrus bonariensis*, Icterinae, Aves). Los mismos fueron capturados con redes de niebla en un campo de la localidad de Cardales, provincia de Buenos Aires, entre el 23 y el 26 de Agosto de 1996. Los animales fueron identificados con anillos de distintos colores y trasladados al Instituto de Biología y Medicina Experimental donde fueron alojados en grupos de 4 individuos (2 hembras y 2 machos) en jaulas de 40x40x120 cm. Uno de los individuos (Macho 2) no fue utilizado en los experimentos ya que no respondió al entrenamiento.

Durante la experiencia se registró el peso de cada sujeto periódicamente (aproximadamente cada 20 días). El peso medio de los animales se mantuvo a lo largo de la experiencia (Figura 1). Los pesos promedio (\pm error estandar de la media) de los sujetos utilizados en el experimento al momento de la captura fueron: machos $51 \pm 3,5$ gr. (n=5) y hembras $42 \pm 2,5$ gr. (n=6).

Condiciones ambientales

Los animales fueron mantenidos en un cuarto de 2x2,5 metros con un ciclo luz- oscuridad de 14-10 horas regulado automáticamente, comenzando el período de luz a las 6:00 AM y el de oscuridad a las 8:00 PM. Durante el periodo de oscuridad el cuarto estaba iluminado con una luz azul de 15 wats.

La temperatura fue regulada con un equipo de aire acondicionado y se mantuvo entre 23°C y 26°C durante todo el experimento.

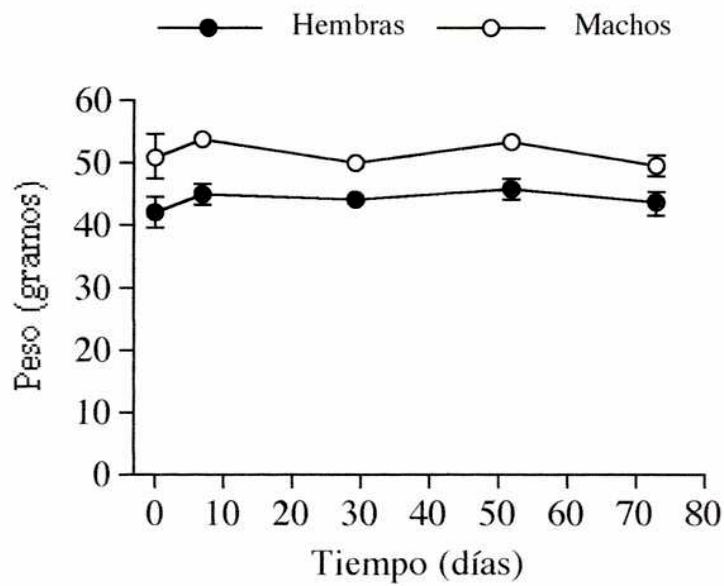


Figura 1: Peso promedio de machos (círculos blancos) y de hembras (círculos negros) durante el transcurso del experimento. Los datos fueron registrados el día de captura (día 0) y a los 7, 29, 52 y 73 días después de la captura.

Alimentación

Los animales fueron alimentados con mijo y con alimento balanceado para aves insectívoras (Henel) *ad-libitum* durante el período de aclimatación.

En las fases de entrenamiento y experimental los animales fueron privados de alimento durante las 15 horas previas al inicio de cada sesión (el alimento era retirado de las jaulas a las 6.00 PM y la sesión comenzaba a las 9.00 AM del día siguiente). Una vez que todos los individuos terminaban el entrenamiento se les suministraba comida *ad-libitum*. Durante la sesión sólo se los alimentó con mijo y en cantidad controlada.

Durante toda la experiencia los animales tuvieron agua *ad-libitum* y día por medio recibieron un complejo vitamínico diluido en agua y tuvieron acceso a piletas para bañarse.

Análisis previos

Para evaluar la cantidad de alimento que se debía entregar durante la sesión experimental se determinó la curva de saciedad de 6 individuos machos deprivados de alimento durante 15 horas. Se registró la cantidad de alimento ingerido en 11 intervalos sucesivos de 10 minutos cada uno.

En la Figura 2 se puede observar que los animales comieron en promedio $0,7 \pm 0,15$ gr. de mijo durante los primeros 10 minutos y que luego la ingesta aumentó entre 0,1 y 0,2 gr. por intervalo hasta los 90 minutos.

En la fase experimental se realizaron 12 ensayos por sesión y se entregaron 10 semillas por ensayo. Dado que 10 semillas pesan 0,052 gr., esto representa un total de aproximadamente 0,6 gramos de alimento por sesión. La duración de una sesión dependió del comportamiento del animal y varió entre 20 minutos (mínimo) y 72 minutos (máximo). En la mayoría de los casos la duración fue menor de 40 minutos.

En la Figura 2 se gráfica la ingesta acumulada de alimento de los individuos deprivados durante 15 horas y la ingesta acumulada de alimento que tendría un animal en el caso de que completara la sesión en el tiempo mínimo y en el caso de que lo hiciera en el tiempo máximo. Puede observarse que la entrega de alimento total durante una sesión siempre está por debajo de la curva de saciedad, incluso por debajo de lo ingerido durante los primeros 10 minutos. Es decir, que para cualquier duración de la sesión, la entrega de alimento será menor que lo que consumiría el animal *ad libitum* (curva de saciedad).

Aclimatación

Antes de comenzar con el experimento los animales fueron mantenidos en el laboratorio durante un período de tiempo que varió entre 34 y 81 días para que se aclimataran al alimento, al cuarto y a las jaulas en las que iban a trabajar.

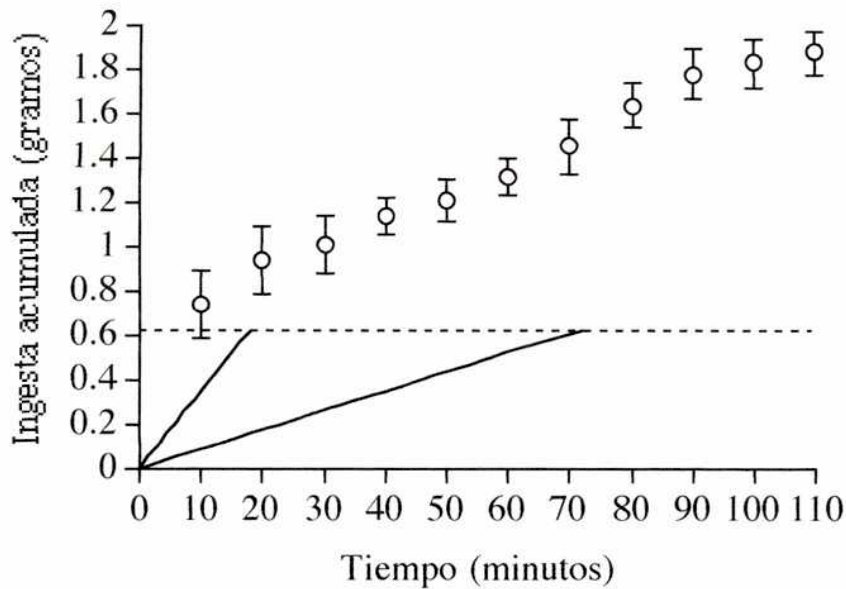


Figura 2: Curva de saciedad de 6 individuos machos. Los círculos representan el peso promedio en gramos del alimento ingerido acumulado \pm el error estandar en intervalos de 10 minutos. Las rectas representan el peso en gramos del alimento entregado a los animales a lo largo de una sesión de tiempo mínimo (recta de mayor pendiente) y de una sesión de tiempo máximo (recta de menor pendiente). En línea de puntos se indica el peso total de alimento entregado durante una sesión.

Diseño experimental

Dado que en esta especie sólo las hembras buscan nidos fue necesario plantear una tarea que pudieran realizar tanto machos como hembras. La tarea elegida consistió en buscar y memorizar la posición de una fuente de alimento en un parche, utilizando como referencias claves visuales o espaciales del ambiente. El parche consistió en una tabla cuadrada de aglomerado de 3 cm. de altura y 40 cm. de lado. En el parche habían 64 cavidades (1,3 cm. de diámetro y 1 cm. de profundidad) formando una grilla regular de 8 x 8. Cada cavidad o celda poseía una tapa de alto impacto que podía deslizarse lateralmente. En estado natural los tordos buscan alimento en el suelo removiendo las hojas y la tierra con su pico con

movimientos laterales de la cabeza, por lo tanto, la apertura de las celdas sería una tarea que podrían realizar fácilmente.

Las celdas fueron numeradas de izquierda a derecha y de arriba hacia abajo de modo que cada una fuera identificable con un sistema de coordenadas de dos números, donde el primero correspondía a la columna y el segundo a la fila. La superficie de la tabla estaba pintada de verde y las tapas de las celdas eran blancas (excepto una de las tapas en el tratamiento de claves visuales).

Durante las etapas de entrenamiento y experimental la jaula fue mantenida en el mismo lugar del cuarto de modo que las referencias espaciales externas a la jaula fuesen constantes.

A la izquierda de la jaula se colocó una cámara de video con la cual se registró el desarrollo del experimento en su totalidad.

Entrenamiento

Cada sesión comenzaba cuando un sujeto era aislado del resto con un separador opaco que dividía la jaula en dos, de modo que este no podía ver al resto de los animales ni ser visto por ellos. Cada ensayo se iniciaba con la introducción del parche dentro de la jaula. Luego, el investigador se retiraba del cuarto (el ensayo era monitoreado a través de un televisor externo al cuarto experimental).

Durante 10 días los animales fueron entrenados para buscar comida en las celdas. En las primeras sesiones todas las celdas estaban abiertas y el 50% tenía comida. Progresivamente se fue aumentando el número de celdas tapadas y disminuyendo el número de celdas con semillas (Tabla 1). En las últimas 5 sesiones las celdas que contenían semillas variaron al azar en cada ensayo y en las últimas 3 sesiones todas las celdas estaban tapadas y solo 4 contenían comida.

Se consideró que los animales estaban preparados para pasar a la etapa siguiente cuando realizaron la tarea con éxito (ubicar en cada ensayo las 4 celdas con comida e ingerir las semillas) durante tres sesiones consecutivas.

Tabla 1: Detalle del número de ensayos por sesión diaria, duración del ensayo, número de celdas con alimento (semillas de mijo), número de semillas por celda y número de celdas abiertas, semiabiertas y cerradas en las distintas etapas del entrenamiento.

<i>Día</i>	<i>Ensayos</i>	<i>Duración (min)</i>	<i>Celdas con mijo</i>	<i>Semillas por celda</i>	<i>Celdas abiertas</i>	<i>Celdas semi-abiertas</i>	<i>Celdas cerradas</i>
1	1	20	32	5	64	0	0
2	1	20	32	5	32	32	0
3	1	20	32	5	0	32	32
4	1	20	32	5	0	32	32
5	1	20	32	5	0	0	64
6	2	10	8	5	0	0	64
7	4	5	8	5	0	0	64
8	4	5	4	10	0	0	64
9	4	5	4	10	0	0	64
10	4	5	4	10	0	0	64

Experimento

En esta etapa los animales fueron sometidos a dos tratamientos sucesivos, uno en el que la celda con comida estaba asociada a claves visuales y otro en el que estaba asociada a claves espaciales.

Claves Visuales

Cada sesión tuvo 12 ensayos. En cada ensayo solo una celda contenía alimento (10 semillas de mijo) y estaba indicada con una tapa de color negro. La posición de esta celda se

determinó con un mecanismo de semiazar, de modo que la celda con alimento estuviera tres veces en cada cuadrante a lo largo de la sesión. La ubicación de la celda con comida se determinó con una tabla de números aleatorios de cinco cifras, donde el primer dígito correspondía a la columna, el segundo a la fila y los otros tres eran desechados. En el caso en que alguno de los dos primeros dígitos fuese 0 o 9 se pasaba al siguiente número. También se pasaba al siguiente número cuando las coordenadas obtenidas pertenecían a un cuadrante en el que ya habían tres celdas elegidas.

Cada ensayo comenzaba con la introducción del parche en la jaula y terminaba con la remoción de parche de la jaula 30 segundos después de que el sujeto encontraba la celda correcta (en la etapa de entrenamiento se determinó que este tiempo era suficiente para que el animal consumiera las 10 semillas). El intervalo entre ensayos fue de 1 minuto. Si el alimento no había sido hallado luego de 5 minutos, el ensayo se daba por concluido y se retiraba el parche de la jaula. Luego de la introducción del parche en la jaula el experimentador se retiraba del cuarto al que retornaba 30 segundos después de que el sujeto hubiera encontrado la celda con alimento. En forma semejante, durante el intervalo interensayo el experimentador permanecía fuera del cuarto.

Claves Espaciales

Las condiciones de cada ensayo fueron idénticas a las del tratamiento de claves visuales. Cada sesión constó de 12 ensayos con intervalos interensayo de 1 minuto de duración. Cada ensayo terminaba 30 segundos después de encontradas las semillas y luego de 5 minutos si no eran encontradas.

A diferencia del tratamiento anterior la celda que contenía alimento fue siempre la misma (tercera columna y segunda fila -coordenadas 3,2-) y tenía una tapa igual al resto de las celdas.

Al comienzo de cada sesión se removían las tapas de todas las celdas y se volvían a colocar al azar. De esta forma se evitaba que los animales reconocieran la celda correcta por marcas que pudieran tener las tapas.

Luego de la última sesión de este tratamiento se realizó una sesión control que consistió en girar el parche 180° y colocar las semillas en la celda (6,7), es decir, en la misma ubicación espacial de la celda (3,2) durante el desarrollo del experimento.

El objetivo de este control fue determinar si el animal estaba ubicando la celda correcta por alguna clave visual del parche no detectable por el experimentador.

En ambos tratamientos (claves visuales y claves espaciales) las variables dependientes fueron número de errores por ensayo (número de celdas abiertas antes de encontrar la celda correcta) y latencia hasta encontrar la celda correcta por ensayo (tiempo transcurrido desde que el animal pisaba el parche hasta que llegaba a la celda correcta).

El criterio para finalizar el experimento en los dos tratamientos fue que las variables consideradas alcanzaran un valor asintótico y se mantuvieran sin cambios significativos durante tres sesiones consecutivas, es decir, hasta que el número de errores y/o la latencia fuera mínima y constante.

En la Figura 3 se observa un macho y una hembra de tordo renegrado buscando el alimento en el parche durante una sesión de claves visuales y una sesión de claves espaciales respectivamente.

Grupos experimentales

Los animales fueron colocados en tres jaulas formando tres grupos de cuatro individuos (dos hembras y dos machos en cada jaula).

Se optó por trabajar con solo 4 animales por sesión para permitir que todos los sujetos pudieran ser entrenados en el transcurso de la mañana. De esta forma se redujo la diferencia en la duración del periodo de privación de alimento entre el primer y último sujeto en trabajar durante cada sesión.

También se trató de reducir al mínimo la diferencia temporal entre grupos disminuyendo en lo posible el tiempo transcurrido entre el inicio del entrenamiento de un grupo y el inicio del entrenamiento del otro (Tabla 2). El objetivo de esta medida fue evitar

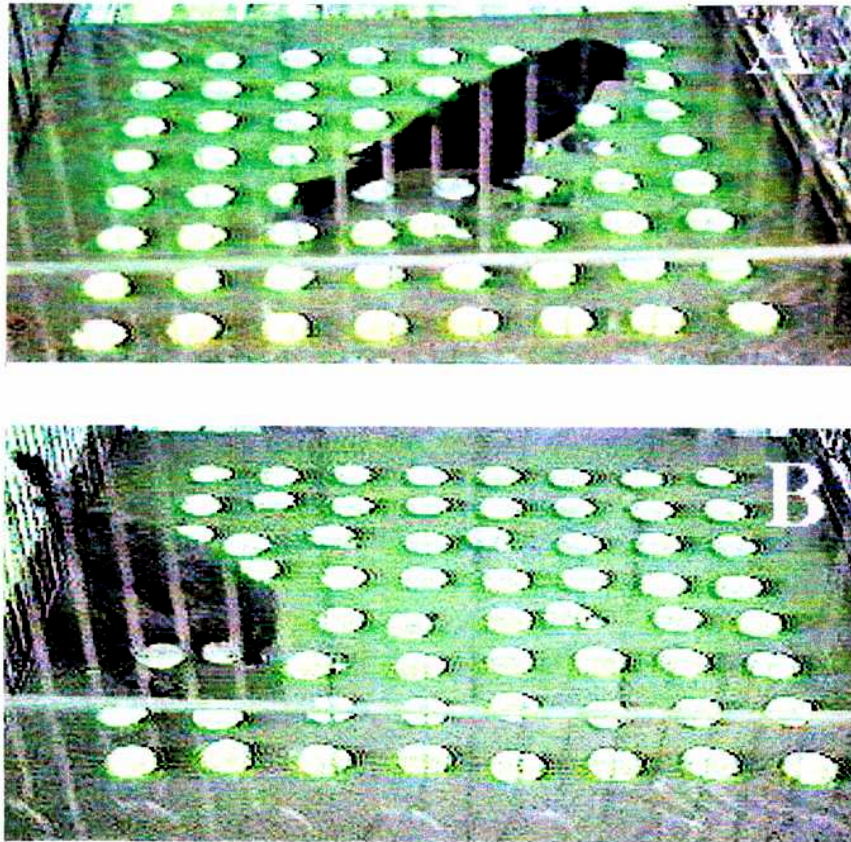


Figura 3: Las fotos muestran el parche experimental utilizado en los tratamientos con claves visuales y espaciales. Las columnas se cuentan desde abajo hacia arriba y las filas de izquierda a derecha. En (A) un macho de tordo renegrido busca alimento en el parche durante un ensayo del tratamiento con claves visuales. La celda (5,7), indicada con una tapa negra, es la que contiene el alimento. En (B) una hembra come el alimento durante un ensayo del tratamiento de claves espaciales. La celda con alimento es la (3,2).

Tabla 2: Fecha de inicio y finalización del entrenamiento de los 3 grupos y sujetos que integraron cada grupo. M: macho, H: hembra.

<i>Grupo</i>	<i>Sujetos</i>	<i>Inicio</i>	<i>Finalización</i>
1	H1-H2-M1-M2	3/10	27/10
2	H3-H4-M3-M4	28/10	19/11
3	H5-H6-M5-M6	20/11	13/12

posibles cambios en el desempeño de los individuos de distintos grupos como consecuencia de cambios estacionales en el tamaño relativo del hipocampo (Clayton *et al.*, en prensa).

Dentro de cada grupo se estableció al azar un turno de trabajo para cada animal. La secuencia obtenida en la primera sesión se mantuvo a lo largo del experimento, pero el orden fue rotando. Así, un individuo que había trabajado en el primer turno de una sesión ocupaba el segundo lugar al día siguiente y el tercero al siguiente, hasta volver al primer puesto el quinto día. Esto significa que, según el turno de trabajo de cada día, los sujetos sufrían distintos períodos de privación de alimento.

Análisis de datos

La experiencia fue registrada en su totalidad con una cámara de video colocada a la izquierda de la jaula. Se desgravó ensayo por ensayo con el programa EthoLog 1.0 (software de dominio público, Ottoni, 1995), para obtener el número de errores y la latencia de cada individuo.

Para cada tratamiento se analizaron el número de errores y las latencias.

Como primer paso en cada uno de estos cuatro análisis se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) de dos factores con medidas repetidas, donde uno de los factores fue grupo y otro la variable dependiente (número de errores o latencia). Este análisis se realizó para descartar que existieran diferencias en el desempeño entre los tres grupos debido a variaciones temporales del comportamiento.

No se registraron diferencias significativas entre grupos tanto en el tratamiento con claves visuales (número de errores: $F_{2,8}=0,58$, latencia: $F_{2,8}=0,61$) como en el de claves espaciales (número de errores: $F_{2,8}=0,27$, latencia: $F_{2,8}=0,32$). Por lo tanto, los datos de los tres grupos fueron analizados en forma conjunta.

Cada variable dependiente fue analizada en cada tratamiento con un ANOVA de dos factores con medidas repetidas, donde el primer factor fue sexo y el segundo número de errores o latencia. Los datos fueron agrupados en dos formas distintas: bloques de 4

ensayos (para detectar diferencias intrasesión) y bloques de 12 ensayos -sesiones- (para estudiar las diferencias intersesión). En los casos en que la interacción resultó significativa se realizaron análisis de efectos simples. Se graficaron las medias de las variables dependientes para machos y para hembras en cada uno de los tratamientos. Para determinar si los sujetos habían llegado a un comportamiento asintótico se realizaron ANOVA con los datos de las últimas sesiones.

En el tratamiento de claves espaciales se realizó una sesión control, como se explicó antes. El desempeño de los animales en la sesión control fue comparado con el desempeño de los animales en la sesión anterior (sesión 7) mediante un ANOVA de dos factores de medidas repetidas (sexo y sesión). En este caso solo se trabajó con los datos agrupados por sesión.

Los ensayos en los cuales los sujetos no encontraron el alimento luego de 5 minutos se consideraron no exitosos. En estos casos se presentaron dos situaciones, una en la que los animales buscaban semillas pero no encontraban la celda correcta y otra cuando buscaban al principio del ensayo pero luego dejaban de hacerlo y por lo tanto tampoco encontraban la comida. Esta segunda situación significó un problema para el análisis de los datos ya que en esos ensayos la latencia fue muy alta pero el número de errores fue muy bajo. En estos casos se consideró el número de errores cometidos igual a 64. Este valor corresponde a la probabilidad de encontrar alimento al azar pudiendo revisar más de una vez la misma celda (extracción con reposición). En los ensayos en los que el alimento no fue encontrado pero el número de errores fue mayor que 64 no se modificó el resultado.

RESULTADOS

Claves visuales

Número de errores

En la Figura 4A se presenta el número de errores cometidos por machos y hembras a lo largo del experimento. Las diferencias entre sexos fueron significativas tanto en el análisis por bloques ($F_{1,9}=6,4$; $p=0,03$) como en el análisis por sesiones ($F_{1,9}=6,4$; $p=0,03$). A lo largo del tratamiento los bloques difirieron significativamente ($F_{11,99}=31,40$; $p<0,0001$) y también las sesiones ($F_{3,27}=73,69$; $p<0,0001$). La interacción entre los factores sexo y bloque resultó significativa ($F_{11,99}=3,24$; $p=0,0008$) y entre sexo y sesión fue marginalmente no significativa ($F_{3,27}=2,76$; $p=0,06$). Como la interacción fue significativa en el análisis por bloques, se realizaron pruebas de efectos simples para estudiar las diferencias entre bloques dentro de cada sexo y entre sexos dentro de cada bloque. Las diferencias entre bloques fueron significativas para las hembras ($F_{11,99}=16,89$; $p=0,005$), y para los machos ($F_{11,99}=17,64$; $p=0,005$). Las diferencias entre sexos fueron significativas en el bloque 2 ($F_{1,98}=12,72$; $p=0,005$), el bloque 3 ($F_{1,98}=29,49$; $p=0,005$) y en el bloque 4 ($F_{1,98}=6,73$; $p=0,025$).

Las diferencias entre sesiones fueron significativas para las hembras ($F_{3,27}=29,55$; $p=0,005$), y para los machos ($F_{3,27}=46,91$; $p=0,005$). Las diferencias entre sexos fueron significativas en la sesión 1 ($F_{1,29}=11,14$; $p=0,005$) y en la sesión 2 ($F_{1,29}=7,35$; $p=0,025$).

Se realizaron análisis de varianzas entre los bloques que habían alcanzado la asíntota para determinar si existían diferencias entre éstos. Desde el bloque 6 hasta el bloque 12 las diferencias fueron no significativas ($F_{6,54}=1,27$; $p=0,29$). También resultó no significativa la diferencia entre las dos últimas sesiones ($F_{1,9}=0,53$; $p=0,48$).

Latencia

La Figura 4B presenta los valores de latencia a lo largo del tratamiento. Puede observarse que tanto para machos como para hembras la latencia fue disminuyendo hasta alcanzar un valor asintótico en los últimos bloques. Al igual que con el número de errores, machos y hembras mostraron diferencias significativas en la latencia tanto en el análisis por bloques ($F_{1,9}=7,84$; $p=0,02$) como en el análisis por sesiones ($F_{1,9}=7,84$; $p=0,02$). La latencia varió a lo largo del tratamiento, siendo significativa la diferencia entre bloques ($F_{11,99}=23,54$; $p<0,0001$) y entre sesiones ($F_{3,27}=49,69$; $p<0,0001$). Por último, fue significativa la interacción entre bloques y sexos ($F_{11,99}=4,69$; $p<0,0001$) y entre sesiones y sexos ($F_{3,27}=7,71$; $p=0,0007$). Las pruebas de efectos simples mostraron que machos y hembras tuvieron un desempeño significativamente distinto en los bloques 2 ($F_{1,76}=17,73$; $p=0,005$), 3 ($F_{1,76}=33,91$; $p=0,005$), 4 ($F_{1,76}=6,50$; $p=0,025$) y 5 ($F_{1,76}=5,84$; $p=0,05$), y en las sesiones 1 ($F_{1,29}=24,98$; $p=0,005$) y 2 ($F_{1,29}=6,07$; $p=0,025$). No se encontraron diferencias significativas entre los siete últimos bloques ($F_{6,54}=1,40$; $p=0,23$), ni entre las dos últimas sesiones ($F_{1,9}=1,18$; $p=0,31$).

Claves espaciales

Número de errores

Los resultados se muestran en la Figura 5A. No se observan diferencias significativas entre sexos para el número de errores cometidos tanto cuando se analizaron los datos agrupados por bloques ($F_{1,9}=1,78$; $p=0,22$) como cuando se lo hizo por sesiones ($F_{1,9}=1,78$; $p=0,22$). A lo largo del tratamiento el número de errores varió significativamente entre bloques ($F_{20,180}=15,33$; $p<0,0001$) y entre sesiones ($F_{6,54}=32,12$; $p<0,0001$). Como puede observarse en la Figura 5A, el número de errores disminuyó con el número de ensayos hasta llegar a un valor asintótico. La interacción entre sexo y bloques fue significativa ($F_{20,180}=1,78$; $p=0,03$) pero fue no significativa entre sexo y sesiones ($F_{6,54}=1,30$; $p=0,27$).

Claves visuales

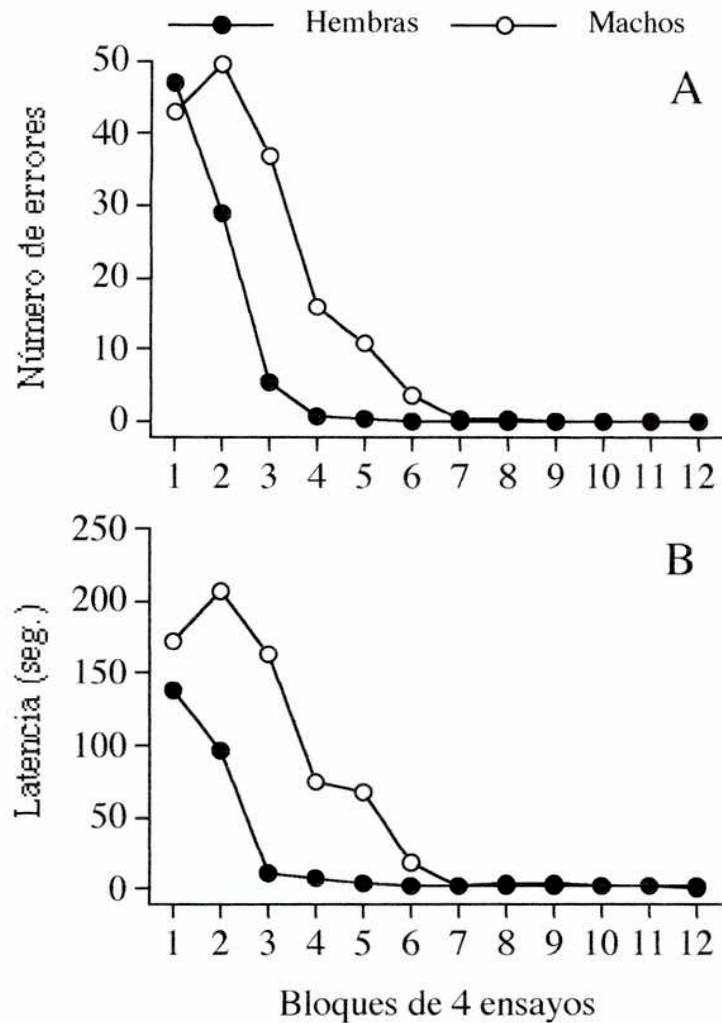


Figura 4: Latencias promedio (A) y número de errores promedio (B) para 5 machos y 6 hembras durante el tratamiento con claves visuales (12 bloques de 4 ensayos cada uno). Las diferencias entre sexos fueron significativas en los bloques 2, 3 y 4.

Al estudiar los efectos simples (en los casos en que la interacción fue significativa) se observó que solo existieron diferencias entre sexos en el bloque 3 ($F_{1,157}=26.25$; $p=0,005$) y las diferencias entre bloques fueron significativas tanto para hembras ($F_{20,180}=6,00$; $p=0,005$) como para machos ($F_{20,180}=11,11$; $p=0,005$).

No se observaron diferencias significativas entre los diez últimos bloques ($F_{9,81}=0,84$; $p=0,59$) ni tampoco entre las tres últimas sesiones ($F_{2,18}=0,71$; $p=0,50$).

Control:

Para estudiar el efecto de rotación del parche en 180° , se comparó el desempeño de los animales durante la última sesión (sesión 7) con el desempeño durante la sesión control. En la Figura 6A se muestra el número de errores cometidos por machos y por hembras durante la sesión 7 y la sesión control. El número de errores cometidos durante la sesión 7 fue significativamente distinto de el número de errores cometidos durante el control ($F_{1,9}=5,18$; $p=0,05$), mientras que, tanto la diferencia entre sexos ($F_{1,9}=1,66$; $p=0,23$) como la interacción ($F_{1,9}=2,51$; $p=0,15$), no presentaron diferencias significativas.

Latencia

En la Figura 5B se presenta la latencia a lo largo del tratamiento. La latencia de machos y hembras no difirió significativamente al ser analizada por bloques ($F_{1,9}=1,44$; $p=0,26$) y tampoco al ser analizada por sesión ($F_{1,9}=1,44$; $p=0,26$). A lo largo del tratamiento la latencia fue disminuyendo y la diferencia fue significativa entre bloques ($F_{20,180}=8,04$; $p<0,0001$) y entre sesiones ($F_{6,54}=14,92$; $p<0,0001$). Por último, la interacción entre bloques y sexos fue no significativa ($F_{20,180}=1,48$; $p=0,09$), y fue no significativa entre sexos y sesiones ($F_{6,54}=1,73$; $p=0,13$).

Se estudiaron las diferencias entre las latencias obtenidas en los últimos bloques y sesiones con nuevos ANOVAs de medidas repetidas. Al realizar el análisis para los datos desde el bloque 10 hasta el bloque 21 no se encontraron diferencias ($F_{11,99}=1,41$; $p=0,18$), y tampoco se encontraron diferencias entre las sesiones 4, 5, 6 y 7 ($F_{3,27}=1,80$; $p=0,17$).

Control:

Se trabajó con los datos de la latencia del mismo modo que se hizo con el número de errores. En la Figura 6B se muestran los resultados. En este caso la latencia de la sesión 7 no fue significativamente distinta de la latencia del control ($F_{1,9}=3,14$; $p=0,11$), al igual que

no fueron significativas las diferencias entre sexos ($F_{1,9}=0,94$; $p=0,36$) ni la interacción ($F_{1,9}=4,23$; $p=0,07$). Este análisis no es válido ya que la varianza entre individuos es mayor que la varianza entre sexos (observar que el valor del F es menor que 1), por lo tanto, solo se considerarán los resultados cualitativos obtenidos en la figura 6B para la discusión.

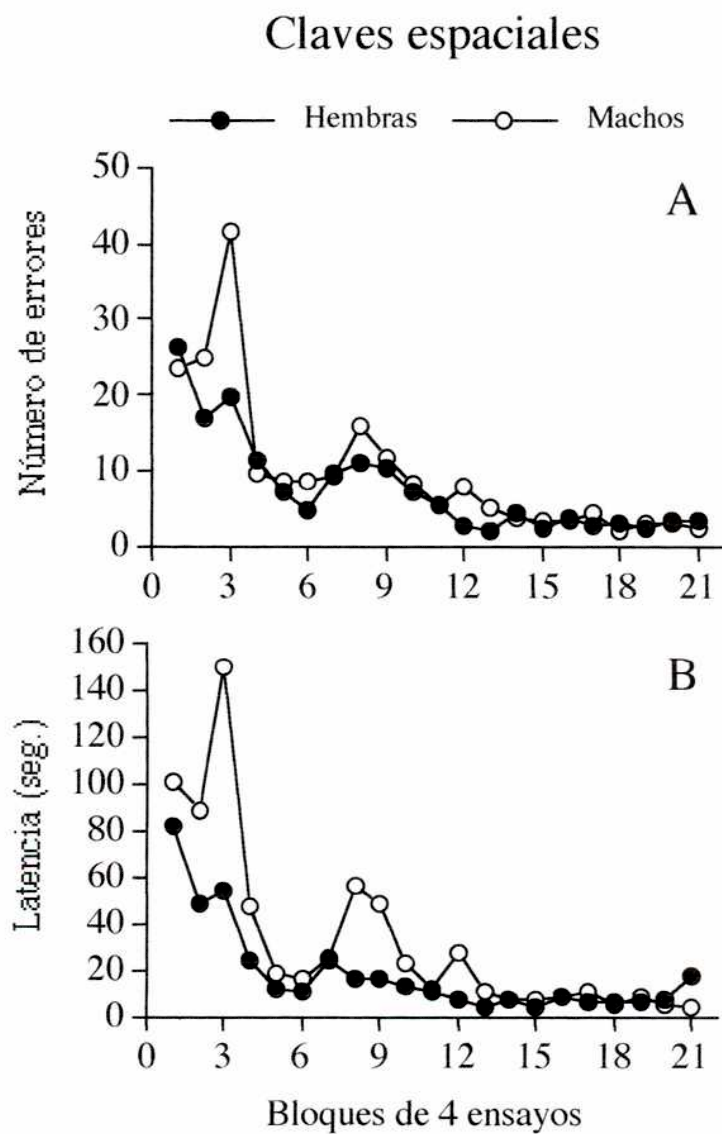


Figura 5: Latencias promedio (A) y número de errores promedio (B) durante el tratamiento con claves espaciales (21 bloques de 4 ensayos cada uno). Las diferencias entre sexos fueron significativas sólo en el bloque 3.

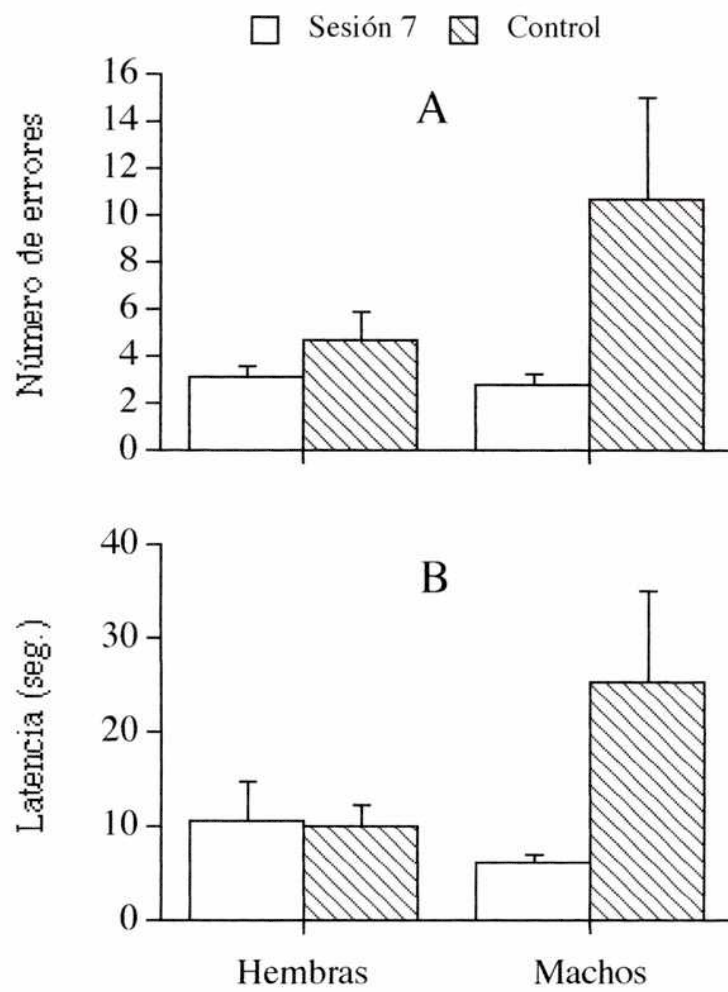


Figura 6: Latencias (A) y número de errores (B) promedio (\pm error estándar) para machos y hembras en la última sesión (sesión 7) del tratamiento de claves espaciales y en la sesión control (rotación del parche en 180°).

DISCUSION

Metodología utilizada

Estudios previos han analizado la capacidad de distintas especies de aves para resolver tareas que requieren del empleo de memoria espacial. Algunos de los métodos más utilizados en este tipo de estudios son los denominados "one-trial associative memory" (Clayton y Krebs, 1994b) y "delayed-matching-to-sample" (Healy y Krebs, 1992b). En el primero de estos métodos cada ensayo consiste en dos fases separadas por un intervalo de retención. En la primer fase el animal busca el alimento que ha sido colocado en uno de varios escondites de un cuarto pero solo puede comer una parte de éste. En la segunda fase se prueba su desempeño permitiéndole buscar y comer el resto del alimento. En el segundo método se le presenta al animal un objeto asociado a una recompensa (alimento). Luego de un intervalo de retención se prueba su habilidad para elegir el objeto correcto por su localización o su apariencia.

Otro procedimiento utilizado en estudios de memoria espacial fue diseñado para aves que almacenan semillas (Bednekoff *et al.*, 1997). En esta caso las aves almacenan semillas en una serie de agujeros en el piso de un cuarto. Luego de distintos períodos de tiempo se los libera nuevamente en el cuarto donde pueden recuperar el alimento almacenado previamente, evaluándose de esta forma su capacidad de retención.

Para realizar este estudio se desarrolló un procedimiento original que reproduce la forma en que esta especie busca alimento en condiciones naturales. El procedimiento empleado se diferencia de los mencionados anteriormente en que no se trata de pruebas de un solo ensayo o pruebas en las que se evalúa la capacidad de retención a largo plazo, sino que la tarea se repite a lo largo de varias sesiones (con más de un ensayo en cada una) y se evalúa si los animales van mejorando su desempeño a medida que avanza el entrenamiento.

Los resultados obtenidos muestran que el desempeño de los individuos mejoró durante el transcurso del experimento, con una marcada disminución del número de errores y de la latencia en encontrar el alimento y que se llegó a un comportamiento asintótico, tanto en el tratamiento de claves visuales como en el de espaciales. Los animales aprendieron rápidamente a realizar la tarea experimental. En el caso en que la posición de la comida estaba asociada con una clave visual el comportamiento asintótico se alcanzó en sólo dos sesiones mientras que cuando la clave era espacial se alcanzó en cuatro sesiones.

Claves visuales

El análisis de los datos por bloques de 4 ensayos o por sesiones no produjo diferencias cualitativas en los resultados. La única diferencia entre ambos análisis se detectó en la interacción, la cual fue menos significativa al hacerse el análisis por sesiones.

Los cambios ocurridos en el transcurso de una sesión fueron en algunos casos considerables por lo que resultó de utilidad analizar los cambios intrasesión. En los primeros ensayos el desempeño de machos y hembras fue muy similar para las dos variables medidas (no hubo diferencias en el primer bloque). Luego las hembras comenzaron a disminuir rápidamente el número de errores cometidos y la latencia mientras los machos lo hacían en forma más lenta (la diferencia entre sexos en los bloques 2, 3 y 4 fue significativa). A partir del bloque 7 (sesión 3) el número de errores fue 0 y la latencia fue mínima para todos los individuos. De acuerdo a estos resultados hubo una clara diferencia en el desempeño de ambos sexos, ya que las hembras llegaron a la asíntota en el segundo día de entrenamiento (bloque 4, sesión 2) mientras que los machos lo hicieron un día después (bloque 7, sesión 3).

Claves espaciales

Los resultados obtenidos con los datos agrupados por bloques o por sesiones no variaron cualitativamente. Los valores de las variables registradas (número de errores y latencia) en los primeros ensayos de este tratamiento fueron mucho menores que los valores registrados para las mismas variables en los primeros ensayos del tratamiento de claves visuales. Este resultado indica que el primer tratamiento mejoró el desempeño de los animales en el segundo tratamiento.

Hembras y machos no difirieron significativamente en su desempeño a lo largo de este tratamiento. Solo se observó una pequeña diferencia en el número de errores y en la latencia durante la primera sesión experimental. El análisis del número de errores por bloques mostró una interacción positiva, y la prueba de efectos simples determinó que esta interacción fue por diferencias entre sexos en el bloque 3, debido a un gran aumento en el número de errores de los machos. El análisis de los datos individuales permitió determinar que ésta diferencia se debió a que el macho 4 empeoró su desempeño considerablemente durante el bloque 3. Al excluir a este individuo del análisis la interacción desaparece. Por lo tanto se puede considerar que el resultado positivo de la interacción no es representativo del desempeño general de los sujetos experimentales. Todos los individuos alcanzaron valores asintóticos de número de errores y latencia en la sesión 4. Sin embargo, a diferencia del tratamiento anterior el número asintótico de errores fue mayor a cero indicando que la tarea a resolver en este tratamiento era de una mayor complejidad.

En relación a los resultados obtenidos en la prueba control, el ANOVA indica que el número de errores cometidos en la sesión 7 y en la sesión control fue distinto, pero que no existieron diferencias entre sexos, ni hubo interacción. El ANOVA realizado para la latencia no es válido ya que el valor de F es menor a 1. En este caso sólo se discutirán los resultados cualitativos.

El número de errores y latencias de las hembras en la sesión control no difirió de los valores asintóticos. Por lo contrario, el número de errores y la latencia de los machos en la sesión control fueron mayores que los valores de la asíntota (similares a los observados en

las sesiones intermedias del entrenamiento). Una posible explicación para estos resultados es que los sujetos estuvieran usando una combinación de claves visuales y espaciales para reconocer la celda correcta y que cuando se disocian las claves las hembras se desempeñen mejor que los machos para reconocer la clave espacial sola. Las hembras podrían estar reconociendo la celda correcta solo por la ubicación espacial de la misma, mientras que los machos reconocerían una combinación de claves espaciales y claves visuales. Al girar la plancha 180° las hembras seguirían reconociendo la clave espacial, mientras que los machos, al no encontrar la clave dual como un todo (ya que las claves visuales correctas se encuentran en el lugar incorrecto), cometerían mayor número de errores y tardarían más tiempo en encontrar la celda correcta.

En tal sentido, Clayton y Krebs (1994c) encontraron que *Parus atricaptilus* (un ave que almacena alimento) al ser entrenado en una primera etapa con una clave dual (espacial y visual) y sometido en una segunda etapa a las claves disociadas, respondía preferentemente a la clave espacial sobre la clave visual. En cambio *Junco hyemalis* (un ave que no almacena alimento), reconocía ambas claves por igual en la segunda etapa.

Efectos de otras variables

Como se mencionó antes, los machos y las hembras de tordo renegrado difieren en su comportamiento de búsqueda de nidos, tarea que es realizada en forma exclusiva por las hembras (Mason, 1987). Estas diferencias comportamentales están correlacionadas con diferencias sexuales en el tamaño relativo del hipocampo, el cual es mayor en hembras que en machos (Reboreda *et al.*, 1996). De acuerdo a la hipótesis de Sherry (1993) las diferencias sexuales en el volumen relativo del hipocampo serían el resultado de una presión de selección diferencial debido al uso más intenso del espacio por parte de las hembras. En base a esta hipótesis, las predicciones al inicio de este estudio eran que las hembras deberían tener un mejor desempeño que los machos en el tratamiento con claves espaciales pero no deberían diferir en el tratamiento con claves visuales.

Por el contrario, los resultados obtenidos muestran que las hembras se desempeñaron mejor que los machos en el tratamiento con claves visuales y no difirieron en el de claves espaciales. Existen otros factores además del uso de claves visuales o claves espaciales que podrían haber influido sobre estos resultados. A continuación se discutirán tres posibles factores: (a) diferencias en el grado de motivación de machos y hembras, (b) diferencias sexuales en el tiempo de habituación a las condiciones experimentales y (c) utilización de claves olfativas para resolver la tarea.

(a) *Las diferencias observadas son el resultado del distinto grado de motivación de machos y hembras durante el experimento*: si bien ambos sexos tuvieron igual período de privación antes del inicio de cada sesión experimental, las diferencias sexuales en el tamaño corporal pueden resultar en distintos grados de motivación al inicio de la sesión (menor en los machos que en las hembras). Esto explicaría el peor desempeño de los machos en el tratamiento con claves visuales pero no da cuenta de la falta de diferencias entre sexos en el tratamiento con claves espaciales.

(b) *Los machos tardaron más tiempo que las hembras en habituarse a la condición experimental* (presencia del parche dentro de la jaula o del experimentador en el cuarto) : esto explicaría el peor desempeño de los machos en el primer tratamiento. Al comenzar el segundo tratamiento, los machos ya se habrían habituado a la condición y por lo tanto desaparecerían las diferencias. Sin embargo, en los primeros ensayos del tratamiento de claves visuales no hubo diferencias en el desempeño de machos y hembras. La diferencia en el primer bloque de ensayos fue no significativa mientras que lo esperado por la influencia de este factor sería que hubieran diferencias desde el principio. Por otra parte, los animales tuvieron un período de entrenamiento de 10 días, tiempo que parecería razonable para habituarse a la condición experimental.

(c) *Los animales utilizaron claves olfativas para resolver la tarea* : Los animales habrían aprendido a encontrar el alimento asociando el olor de éste con la celda en que se encontraba. Los resultados se explicarían por un mejor condicionamiento de las hembras para aprender una relación entre un olor y la ubicación de las semillas. En los primeros ensayos del tratamiento de claves visuales no habrían diferencias entre machos y hembras

porque se los expone a una nueva situación y ambos están aprendiendo. Luego, las hembras mejorarían rápidamente mientras los machos lo harían de una forma más lenta. Al final del tratamiento todos los individuos habrían aprendido la relación y llegarían a la misma asíntota. En el tratamiento de claves espaciales tanto machos como hembras ya saben resolver la tarea y es por eso que no difieren en su desempeño. Aún asumiendo que las aves tienen la capacidad olfativa como para detectar este tipo de alimento, el uso de claves olfativas no explicaría porqué el número de errores y la latencia para los primeros ensayos del segundo tratamiento son significativamente mayores que los valores obtenidos en los últimos ensayos del tratamiento anterior. Además, tampoco explicaría las diferencias entre los valores asíntóticos de ambos tratamientos ni las diferencias en el tiempo que se tardó en alcanzar la asíntota. Una variante más compleja es que los animales estuvieran usando una combinación de claves visuales y señales olfativas. En este caso, al comenzar el tratamiento de claves espaciales, los animales se encontrarían con una nueva situación en la que algunas características son conocidas y otras desconocidas.

Hipótesis alternativas

Las diferencias sexuales en el tamaño del hipocampo de esta especie y las evidencias de la participación de esta región del cerebro en los procesos relacionados con el uso del espacio permiten predecir la existencia de una diferencia en esta capacidad mnésica entre machos y hembras. Por lo tanto, si bien los resultados indican que machos y hembras no difieren en su capacidad de realizar una tarea relacionada con el uso de memoria espacial, es posible que de existir diferencias, estas no fuesen detectables por medio de este diseño experimental. En relación con esta posibilidad se plantean dos hipótesis alternativas .

Hipótesis 1: Existen diferencias sexuales en el patrón de búsqueda.

Healy y Krebs (1992a), realizaron un trabajo en el que se comparaba el desempeño de dos especies de aves, una que almacena (*Parus palustris*) y otra que no almacena alimento

(*Parus caeruleus*), en una tarea que requería del uso de memoria espacial. Los animales debían buscar una semilla entre siete sitios posibles y la variable dependiente registrada era número de errores. Estos autores encontraron que las dos especies no diferían entre sí. Posteriormente, Clayton y Krebs (1994b) repitieron la experiencia, con algunas modificaciones en el diseño, y registrando, además del número de errores, los sitios que eran visitados por los animales en cada ensayo. Descubrieron que si bien las dos especies no diferían en la cantidad de errores, el patrón de búsqueda era distinto para cada una. *P. palustris* no buscaba en los sitios sin semillas que había visitado antes y *P. caeruleus* sí lo hacía. En este trabajo no se estudiaron los patrones de búsqueda, por lo que no podemos descartar que ocurra algo similar a lo observado por Clayton y Krebs,. En tal sentido, durante la sesión control las hembras (además de no variar en su desempeño) buscaban en el cuadrante correcto, mientras que los machos en los primeros ensayos buscaban por todo el parche, sin diferenciar el cuadrante correcto.

Hipótesis 2: La tarea que se utilizó en este experimento no es comparable con la tarea de búsqueda de nidos que realizan las hembras.

Dada la complejidad del comportamiento de búsqueda de nidos y la imposibilidad de realizar en laboratorio algún experimento en el que se pusiera de manifiesto este comportamiento se realizó un diseño experimental con una tarea que pudiera ser ejecutada tanto por hembras como por machos. La tarea de buscar alimento en el parche es una situación análoga con la búsqueda de nidos en cuanto a que las dos requieren del uso de memoria espacial. Sin embargo, no puede descartarse la posibilidad de que los mecanismos utilizados en cada caso sean distintos. Es posible, entonces, que no existan diferencias entre sexos para la búsqueda de alimento pero que si las haya en la búsqueda de nidos. Estas diferencias pueden estar en la escala de las claves espaciales utilizadas en cada tipo de tarea, o en que la búsqueda de nidos involucre una combinación de claves visuales y espaciales, las cuales se presentan disociadas en este trabajo.

Estudios complementarios en los que se analice el desempeño de machos y hembras a distintos tiempos de retención y durante las curvas de extinción permitirán evaluar con mayor certeza la existencia de diferencias sexuales en la memoria espacial de esta especie.

CONCLUSIONES

- Para realizar este estudio se desarrolló un procedimiento original que reproduce la forma en que esta especie busca alimento en condiciones naturales.
- El desempeño de los individuos mejoró durante el transcurso del experimento, con una marcada disminución del número de errores y de la latencia en encontrar el alimento.
- En el caso en que la posición de la comida estuvo asociada con una clave visual el comportamiento asintótico se alcanzó en dos sesiones mientras que cuando la clave fue espacial, éste se alcanzó en cuatro sesiones.
- Las hembras se desempeñaron mejor que los machos en el tratamiento con claves visuales pero no se observaron diferencias sexuales en el tratamiento con claves espaciales.
- Los resultados obtenidos no son los esperados en base al dimorfismo sexual en el tamaño del hipocampo.
- El desempeño de machos y hembras a distintos tiempos de retención y durante las curvas de extinción permitirá evaluar con mayor certeza la existencia de diferencias sexuales en la memoria espacial de esta especie.

BIBLIOGRAFIA

Barnea, A. and Nottebohm, F. 1994. Seasonal recruitment of hippocampal neurons in adult free ranging Black-capped Chickadees. *Proc. natl. Acad. Sci. U.S.A.* 91: 11217-11221.

Bednecoff, P.A., Balda, R.P., Kamil, A.C. and Hile, A.G. 1997. Long-term spatial memory in four seed-caching corvid species. *Anim. Behav.* 53: 335-341.

Bingman, V.P., Ioale, P., Casini, G. and Bagnoli, P. 1987. Impaired retention of preoperatively acquired spatial reference memory in homing pigeons following hippocampal ablation. *Behav. Brain Res.* 24: 147-156.

Bingman, V.P., Ioale, P., Casini, G. and Bagnoli, P. 1988. Unimpaired acquisition of spatial reference memory, but impaired homing performance hippocampal-ablated pigeons. *Behav. Brain Res.* 27: 179-187.

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

Clayton, N. S. 1993. Lateralization and unilateral transfer of spatial memory in marsh tits. *J. Comp. Physiol. A* 171: 799-806.

Clayton, N.S. and Cristol, D.A. 1997. Effects of photoperiod on memory and food-storing in captive marsh tits, *Parus palustris*. *Anim. Behav.* 52: 715-726.

Clayton, N.S. and Krebs, J.R. 1993. Lateralization in Paridae: comparison of a storing and non-storing species on a one-trial associative memory task. *J. Comp. Physiol. A.* 171: 807-815.

Clayton, N.S. and Krebs, J.R. 1994a. Hippocampal growth and attrition in birds affected by experience. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 91: 7410-7414.

Clayton, N.S. and Krebs, J.R. 1994b. One-trial associative memory: Comparison of food-storing and non-storing species of birds. *Anim. Learn. Behav.* 22: 366-372.

Clayton, N.S. and Krebs, J.R. 1994c. Memory for spatial and object-specific cues in food-storing and non-storing birds. *J. Comp. Physiol. A* 174: 371-379.

Clayton, N.S. and Krebs, J.R. 1995a. Laterization in memory and the hippocampus in food-storing birds. In: Alleva, E., Fasolo, A., Lipp, H.P., Nadel, L. and Ricceri, L. (Editors) Behavioural Brain Research in Naturalistic and Semi-Naturalistic Settings: Possibilities and Perspectives. NATO ASI Series, Kluwer Academic Press, Dordrecht.

Clayton, N.S. and Krebs, J.R. 1995b. Memory in food-storing birds: from behaviour to brain. *Current Opinion in Neurobiology*. 5: 149-154.

Clayton, N.S., Reboreda, J.C. and Kacelnik, A. En prensa. Seasonal changes in hippocampus volume in parasitic cowbirds. *Behavioural Processes*.

De Voogd, T.J. 1994. The neural basis for the acquisition and production of bird song. In: J.A. Hogan and J.J.B. Bolhuis (Editors), *Causal Mechanisms in Behavioural Development*, Cambridge University Press, Cambridge, pp. 49-81.

Fraga, R.M. 1991. Biparental care in Bay-winged cowbirds *Molothrus badius*. *Ethology*, 89: 195-210.

Feare, C.J. and Zaccagnini, M.E. 1993. Roost departure by Shiny Cowbirds (*Molothrus bonariensis*). *Hornero* 13: 292-293.

Friedmann, H. and Kiff, L.F. 1985. The parasitic cowbirds and their hosts. *Proc. West. Found. Vertebr. Zool.*, 2: 226-302.

Gaulin, S.J.C. and Fitzgerald, R.W. 1989. Sexual selection for spatial-learning ability. *Anim. Behav.* 37: 322-331.

Giraldeau, L.A. 1997. Ecology of information use. In: *Behavioural Ecology: an Evolutionary Approach*. Krebs, J.R. and Davies, N.B. (Editors) pp. 42-68.

Hann, H.W. 1941. The cowbird at the nest. *Wilson Bull.*, 53: 211-221.

Healy, S.D. and Krebs, J.R. 1992a. Comparing spatial memory in two species of tit: Recalling a single positive location. *Anim. Learn. Behav.* 20: 121-126.

Healy, S.D. and Krebs, J.R. 1992b. Delayed-matching-to-sample by Marsh Tits and Great Tits. *Q. J. Exp. Psychol.* 45B: 33-47.

Healy, S.D. and Krebs, J.R. 1993. Development of hippocampal specialisation in a food-storing bird. *Behav. Brain Res.* 53: 127-131.

Healy, S.D., Gwinner, E. and Krebs, J.R. 1996. Hippocampal volume in migratory and non-migratory warblers: effects of age and experience. *Behav. Brain Res.* 81: 61-68.

Hoy, G. and Ottow, J. 1964. Biological and oological studies of the molothrine cowbirds (Icteridae) of Argentina. *Auk* 81: 186-203.

Jacobs, L.F., Gaulin, S.J.C., Sherry, D.F. and Hoffman, G.E. 1990. Evolution of spatial cognition: Sex-specific patterns of spatial behavior predict hippocampal size. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87: 6349-6352.

Kattan, G.H. 1993. Extraordinary annual fecundity of Shiny Cowbirds at a tropical locality and its energetic trade-off. Abstracts of the North American Research Workshop on the Ecology and management of Cowbirds, Austin, Texas.

Krebs J.R., Sherry, D.F., Healy, S.D., Perry, V.H. and Vaccarino, A.L. 1989. Hippocampal specialization of food storing birds. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 86: 1388-1392.

Krebs, J.R., Clayton, N.S., Healy, S.D., Cristol, D.A., Patel, S.N. and Jolliffe, A.R. 1996. The ecology of avian brain: food-storing memory and the hippocampus. *Ibis* 138: 34-46.

Lanyon, S.M. 1992. Interspecific brood parasitism in blackbirds (Icterinae): a phylogenetic perspective. *Science*: 77-79.

Lefebvre, L., Whittle, P., Lascaris, E. and Finkelstein, A. 1997. Feeding innovations and forebrain size in birds. *Anim. Behav.* 53: 549-560.

Mason, P. 1987. Pair formation in Cowbirds. Evidence found for Screaming but not Shiny Cowbirds. *Condor* 89: 349-356.

Mermoz, M. 1996. Interacciones entre tordo renegrado (*Molothrus bonariensis*) y el pecho amarillo (*Pseudoleistes virescens*): estrategias del parásito de cría y mecanismos de defenza del hospedador. Tesis de Doctorado. Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.

O'Keefe, J. and Nadel, L. 1978. *The Hippocampus as a Cognitive Map*. Oxford: Clarendon Press.

Pagel, M. D. and Harvey, P.H. 1989. Taxonomic differences in the scaling of brain on body weight among mammals. *Science* 244: 1589-1593.

Payne, R.B. 1977. The ecology of brood parasitism in birds. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 8: 1-28.

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

Rothstein, S.I., Yokel, D.A. and Fleischer, R.C. 1987. Social dominance, mating and spacing systems, female fecundity and vocal dialects in captive and free-ranging Brown-headed Cowbirds. In: Johnston, R.F. (Editor), *Current Ornithology Vol 3*, Plenum New Jersey, pp. 127-185.

Rothstein, S.I. 1990. A model system for coevolution: avian brood parasitism. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 21: 481-508.

Scott, D.M. and Ankney, C.D. 1983. The laying cycle of Brown-headed Cowbirds: Passerine chickens. *Auk* 100: 583-592.

Scott, D.M. 1991. The time of the day of egg laying by Brown-headed Cowbird and other icterines. *Can. J. Zool.* 69: 2093-2099.

Sherry, D.F. and Vaccarino, A.L. 1989. Hippocampus and memory for food caches in Black-capped Chickadees. *Behav. Neurosci.* 103: 308-318.

Sherry, D.F., Forbes, M.R.L., Khurgel, M. and Ivy, G.O. 1993. Females have a larger hippocampus than males in the brood-parasitic Brown-headed Cowbird. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 90: 7839-7843.

Smulders, T.V., Sasson, A.D. and DeVoogd, T.J. 1995. Seasonal changes in telencephalon volume in a food storing Black-capped Chickadee. *J. Neurobiol.* 27: 15-25.

Székely, T., Catchpole, C.K., DeVoogd, A., Marchl, Z. and DeVoogd, T.J. 1996. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 263: 607-610.