UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES FACULTAD DE CIENCIAS

EXACTAS Y NATURALES

DEPARTAMENTO DE ECOLOGÍA,
GENÉTICA Y EVOLUCIÓN

Cría cooperativa y parasitismo de cría en el sistema formado por el Músico (*Agelaioides badius*) y el Tordo Pico Corto (*Molothrus rufoaxillaris*).

Tesis presentada para optar por el título de
Doctor de la Universidad de Buenos Aires
en el área CIENCIAS BIOLÓGICAS

Juan Manuel Rojas Ripari

Director
María Cecilia De Márs ico

Consejero de estudios
Juan Carlos Reboreda

Buenos Aires, febrero 2020

Resumen

La cría cooperativa en aves es un sistema reproductivo en el cual uno o más adultos (ayudantes) asisten a otros en el cuidado de las crías. Explicar este comportamiento aparentemente altruista de los ayudantes continúa planteando desafíos para la teoría evolutiva y la ecología del comportamiento, dado que las especies con cría cooperativa presentan una gran diversidad de sistemas de apareamiento y formas de organización social. Un factor particular que puede afectar la ayuda en el nido es el parasitismo de cría, una estrategia reproductiva en la que individuos de una especie (parásitos) explotan el cuidado parental de individuos de otras especies (hospedadores) para producir descendencia. Recientemente, se ha visto que estos dos sistemas reproductivos aparecen asociados en ciertas avifaunas. La presencia de ayudantes podría beneficiar a los hospedadores si reduce el esfuerzo parental y/o la competencia por el alimento en los nidos parasitados. A su vez, los parásitos podrían beneficiarse de la cría cooperativa si obtienen más alimento en los nidos asistidos. Sin embargo, estas hipótesis apenas han sido investigadas. En esta Tesis se estudió la organización social, la contribución individual al cuidado parental y posibles efectos de la cría cooperativa en el Músico (*Agelaioides badius*), principal hospedador de un parásito de cría especialista, el Tordo Pico Corto (*Molothrus rufoaxillaris*). Para llevar a cabo estos objetivos se realizaron muestreos intensivos durante 4 temporadas reproductivas (2015-2016, 2016-2017, 2017-2018 y 2018-2019) en los que se monitoreó un total de 229 nidos de Músico, y se colectaron muestras de sangre de adultos y pichones pertenecientes a 33 grupos reproductivos.

Para caracterizar la organización social se analizaron las relaciones de parentesco entre la pareja reproductiva, los ayudantes y las crías mediante la secuenciación de 523 SNPs. Los análisis genéticos mostraron que los ayudantes fueron en su mayoría machos emparentados en primer grado con el macho reproductor (9 de 21) o ambos miembros de la pareja reproductora (5 de 21). Además hubo 5 machos y 2 hembras que ayudaron a individuos no emparentados. No se detectó paternidad/maternidad de los ayudantes en los nidos donde asistieron y tampoco se encontraron evidencias directas de una estructuración genética a fina escala (i.e. “vecindario de parientes”) en la población de estudio.

Para evaluar la contribución relativa de los ayudantes a las tareas de aprovisionamiento e higiene de las nidadas, se realizaron filmaciones en nidos con pichones a los 4 y 8 días post-eclosión (n = 25 y 22, respectivamente). Estas filmaciones se usaron también para cuantificar la distribución de las entregas entre los pichones de Músico y parásitos, con el fin de estudiar el efecto de la presencia de ayudantes sobre la competencia por el alimento. También se evaluó la contribución en la respuesta anti-predatoria mediante un experimento de presentación de modelos de un predador aéreo y una especie control en nidos con pichones (n = 27). Los resultados mostraron que los ayudantes tuvieron una participación significativamente menor que los reproductores en las tareas de aprovisionamiento y respuesta

anti-predatoria, mientras que la higiene de los pichones estuvo a cargo casi exclusivamente de la hembra reproductora. La proporción de entregas realizada por los reproductores no estuvo asociada a la presencia de ayudantes y tampoco se encontró una asociación entre la presencia de ayudantes y la respuesta anti-predatoria del macho reproductor, pero la respuesta de la hembra reproductora fue mayor en presencia de ayudantes. Por otro lado, no se detectó un efecto claro de los ayudantes en la distribución del alimento en las nidadas parasitadas, que estuvo sesgada hacia el pichón parásito principalmente a los 8 días de edad, y tampoco se encontraron diferencias en el crecimiento de los pichones de Músico y Tordo Pico Corto entre nidos con y sin ayudantes. Sí se observó una asociación negativa entre la presencia de ayudantes y la tasa de depredación de los nidos.

Esta Tesis aporta la primera descripción detallada del sistema social del Músico y la contribución de los ayudantes al cuidado parental. Los resultados sugieren que la ayuda en el nido en el Músico ocurre principalmente dentro de grupos familiares que podrían formarse por la retención de crías macho o el reclutamiento de ayudantes emparentados con el macho reproductor *a posteriori* de la dispersión natal. Este patrón avala la idea de que la cría cooperativa estaría favorecida por la selección por parentesco. Sin embargo, la presencia ocasional de ayudantes no emparentados y la baja contribución de los ayudantes al cuidado parental sugieren que estos podrían obtener también beneficios (no reproductivos) derivados de la vida en grupo o del mayor acceso a recursos en los grupos cooperativos. Por otro lado, los datos no apoyan la idea de que la cría cooperativa permita a los reproductores reducir su esfuerzo parental o reduzca la competencia por el alimento en las nidadas parasitadas, aunque sería útil seguir explorando estas cuestiones en el futuro incrementando el tamaño muestral y/o manipulando experimentalmente los costos del cuidado parental. Por último, si bien no pueden establecerse relaciones causales, los resultados sugieren que la ayuda en el nido podría mejorar la supervivencia de los nidos, lo cual favorecería el éxito reproductivo tanto del Músico como del Tordo Pico Corto. Esta posible interacción entre la cría cooperativa y el parasitismo de cría no ha sido reportada previamente y podría explicar por qué el Tordo Pico Corto usa preferentemente hospedadores con cría cooperativa.

Palabras clave:
Cría Cooperativa – Parasitismo de cría – Selección por parentesco - *Agelaioides badius* - *Molothrus rufoaxillaris*

Abstract

Cooperative breeding in birds is a reproductive system in which one or more adults (helpers) assist others in rearing their offspring. Explaining this apparently altruistic behavior still poses challenges to evolutionary theory and behavioral ecology, given the broad diversity of mating systems and social organization patterns exhibited by cooperatively breeding species. Helping behavior can be affected by brood parasitism, a reproductive strategy in which some individuals (parasites) exploit the parental care of individuals of other species (hosts) to reproduce. It has been recently reported that cooperative breeding and brood parasitism are associated in certain avifaunas. In theory, the presence of helpers at the nest could benefit hosts if it reduces parental effort and/or within-brood competition at parasitized nests. In turn, brood parasites could benefit from using cooperatively breeding hosts if they obtain more resources at helped nests. However, these hypotheses have been barely investigated. This PhD Theses studies the social organization, individual contribution to parental care and possible effects of cooperative breeding in the Grayish Baywing (*Agelaioides badius*), primary host of a specialist brood parasite, the Screaming Cowbid (*Molothrus rufoaxillaris*). To carry out these objectives, I conducted intensive sampling over 4 breeding seasons (2015-2016, 2016-2017, 2017-2018 y 2018-2019), during which I monitored a total of 229 Baywing nests and collected blood samples from adults and nestlings at 33 breeding groups.

To characterize Baywing's social organization, kinship among the breeding pair, helpers and nestlings was analyzed through ddRAD sequencing using 523 SNPs. Genetic analyses showed that helpers were mostly males and first-order relatives to the breeding male (9 of 21) or to both breeders (5 of 18). In addition, there were 5 males and 2 females who helped non-relatives. Helpers did not share paternity/maternity with the breeding pair in the nests where they assisted and there was no direct evidence of fine-scale genetic structure (i.e. "kin neighborhoods") in the study population.

To evaluate the relative contribution of helpers to nest provisioning and nestling grooming, I conducted video-recordings of nests with nestlings at 4 and 8 days post-hatching (n = 25 and 22, respectively). These video-recordings were also used to quantify food allocation between host and parasitic nestlings, with the aim of studying the effect of helpers on competition for food. Also, I evaluated the contribution of helpers to anti-predatory response through a model presentation experiment in which an aerial predator and a control species were presented at 27 nests with nestlings. The results indicated that helpers participated significantly less than breeders in nest provisioning and defense, whereas nestling grooming was done almost exclusively by the breeding female. The proportion of feedings delivered by breeders was not associated to the presence of helpers; neither there was an association between the presence of helpers and anti-predatory response of male breeders, but females' response was more intense in the presence of helpers. On the other hand, helpers had no clear effect on food allocation at parasitized broods, which was biased towards cowbird nestlings, especially at the

age of 8 days, and there were no differences in growth patterns between Baywing and Screaming Cowbird nestlings between nests with and without helpers. There was a negative association between the presence of helpers and nest predation rates.

This Thesis provides the first detailed description of Baywing's social system and the contribution of helpers to parental care. The results suggest that helping at Baywing nests occurs primarily within family groups that could arise through delayed dispersal of male offspring or the secondary recruitment of helpers that were first-order relatives of the male breeder. This pattern supports the idea that cooperative breeding in Baywings would be favored by kin selection. However, the occasional presence of unrelated helpers together with the low contribution of helpers to parental care suggest that helpers could gain non-reproductive benefits too, such as those derived from living in groups or from increased access to resources in cooperative groups. The data presented here do not support the idea that cooperative breeding allows breeders to reduce their parental effort or reduce within-brood competition at parasitized broods. Nevertheless, it would be useful to continue exploring these options with increased sample sizes and the experimental manipulation of the costs of parental care. Finally, although causal relationships cannot be established, the results suggest that helping at the nest could improve nest survival, which would favor the reproductive success of both Baywings and Screaming Cowbirds. This possible interaction between cooperative breeding and brood parasitism has not been reported previously and it could help explaining why Screaming Cowbirds use preferentially cooperatively breeding hosts.

Key-words:
Cooperative breeding – Brood parasitism – Kin selection - *Agelaioides badius* - *Molothrus rufoaxillaris*

Agradecimientos:

En primer lugar, tengo que agradecer al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas por haberme otorgado la beca doctoral y a la Universidad de Buenos Aires por aceptarme en la carrera de Doctorado

A mi directora, María Cecilia De Mársico. Todas las charlas (y tu eterna paciencia) me formaron tanto como académico como persona y me permitieron también pasarle lo aprendido a las siguientes generaciones. Gracias por (nuevamente) acompañarme en este arduo camino.

A Juan Carlos Reboreda, por el constante aporte de ideas y mirada crítica (constructiva) que ayudaron a pulir y dar forma a la presente tesis.

A Valentina Ferretti, Andrea Astié y Javier López Casenave (nuevamente), por aceptar ser los jurados y enorme predisposición para coordinar difíciles fechas.

A Gracielita y Mabel, siempre con la mejor predisposición y efectividad para resolver inquietudes burocráticas.

A la “Association of Field Ornithologists”, “Animal Behavior Society”, “Neotropical Ornithological Society” y “Asociación Aves Argentinas” por haber financiado tanto asistencia a congresos como mi estadía en el exterior.

Al Laboratorio de Ecología y Comportamiento Animal, presentes pasados y asociados: Beti, Vani, Diego, Kini, Ali, Romi, Carito F, Nati R, Cyn, Sol, Juli, Mili, Nati C, Jairo, Rama, Nico, Jime L, Puche, Meli, Nacho, Martu, Andy, Ani, Rosario J. y Agus (el índice es tuyo). El aporte en los seminarios, los mates a la tarde, las cervecitas a la noche, fueron condimentos clave para que este proceso fuera posible.

A la fundación Elsa Shaw y toda la gente que trabaja en la Reserva “El Destino” por permitirme (nuevamente) realizar el trabajo de campo en tan increíble lugar

Al equipo de jóvenes entusiastas que compartieron conmigo alguna de las cuatro (o todas) largas campañas en “El Destino”. Tati, Tyler, Pame, Pablito, Heather, Carito B, Priscila, Jordan, Shawn, Ro Melzi, Ro Prieto, Belu G y Kevin, su formación como estudiantes de grado también me hizo aprender mucho. A mis ayudantes Seba, Gonza, Mechi, Rosa y Brunito. Su ayuda y compañía durante el trabajo de campo fue clave para el desarrollo de esta tesis. Créanme que yo aprendí más de ustedes de lo que yo les pude enseñar. A Nico, tu rescate a último momento evitó que un camino cuesta arriba se convierta en ascenso vertical. A María! Gracias a tu compromiso y dedicación pude completar el procesado de mis datos.

A Lucho y su tropa de “Luis Chico”.

Al equipo del Cornell Lab of Ornithology. Los conocimientos adquiridos y las excelentes personas que conocí hicieron de la pasantía una experiencia inolvidable. A Irby Lovette por brindar el espacio (y fondos) necesarios para procesar los datos genómicos. A Bronwyn Butcher por el constante acompañamiento tanto en el trabajo de mesada como en el

bioinformático. A Leonardo Campagna, gracias a vos se gestó esta experiencia y como si no fuera suficiente tu acompañamiento académico lo complementaste con los mejores asados que uno puede pedir en EEUU y además me diste un acelerado curso de Fly-cast. A la Tía Nati, por hacerme sentir en casa tan lejos de casa. A Rama y a Nico, los co-equipers.

A mi familia, mi fuerte sostén. Gracias mamá y papá por creer siempre en mí y darme el aliento para superar toda adversidad. Ana y Juano, gracias por haber acompañado a su hermano en este camino haciendo que SIEMPRE termine con una sonrisa.

A Male, por bancarme y darme aliento en este último tirón.

A mis amigos de hoy y de siempre. Mis amigotes de la camada 89 (y asociados) de Banco, Cufita Juli, Chicho, Juanchi, Newhouse, Caporter, Goruts, Pato, Santi, Fede, Towers, Fabri, Dona y Maykel mis hermanos del corazón. Mis amigos de la vida, Titi y Juancho. Mis ex-compañeros, actuales colegas de la FCEyN: Silvio, Chris, Cande, Sofi, Flor, Pataca, Nico M, JuanPe, Cholo, Chileno, Seba y Vir. A Checha, Fer, Anto, Mati, Vik, Sami y Marcos, hoy igual que hace 10 años, gracias por su amistad. La banda de “Giles”, Gon y Tomi, los casi biólogos.

A mis queridos Músicos, gracias por desinteresadamente contarme como es su vida y permitir el desarrollo de este trabajo!

Índice

Resumen i
Abstract iii
Agradecimientos: iv
Índice 1
Capítulo 1. Introducción general 4
¿Por qué ayudan los ayudantes? 4
Organización social, patrones de dispersión y ayuda en el nido 6
Efectos de la ayuda en el nido para la pareja reproductiva y sus crías 8
Cría cooperativa y parasitismo de cría 9
Cría cooperativa en el Neotrópico 10
Objetivos e hipótesis de investigación 11
Referencias bibliográficas: 13
Capítulo 2. Métodos generales 19
Sitio de estudio 19
Especies de estudio 20
Procedimientos generales para el monitoreo de los nidos y colecta de datos 23
Referencias bibliográficas 25
Capítulo 3. Organización social: relaciones de parentesco y estructuración genética a fina escala 28
Introducción 28
Métodos 33
Extracción de ADN 33
Determinación del sexo por métodos moleculares 34
Protocolo ddRAD y secuenciado 35
Procesamiento bioinformático de las secuencias 37
Generación de SNPs 38
Determinación de patrones de parentesco 39
Estructuración genética a fina escala 40
Resultados 40
Muestra general y sexo de los ayudantes 40
Relaciones de parentesco dentro de la nidada 41
Relaciones de parentesco entre ayudantes y pareja reproductiva 42
Parentesco entre ayudantes y pichones 43

Autocorrelación espacial 44
Discusión 46
Referencias bibliográficas 50
Anexos 57
Capítulo 4. Rol de los ayudantes en el aprovisionamiento de nidos con parasitismo de Tordo Pico Corto 61
Introducción 61
Métodos 66
Filmación de nidos 66
Análisis estadísticos 68
Resultados 70
Cría cooperativa y aprovisionamiento a nivel grupal 70
Contribución individual al aprovisionamiento del nido en grupos cooperativos 72
Efecto de la cría cooperativa sobre la contribución de la pareja reproductora 73
Relación entre la cría cooperativa y la distribución de alimento en nidos parasitados 75
Discusión 77
Referencias bibliográficas: 81
Capítulo 5. Rol de los ayudantes en la defensa del nido y otras tareas de cuidado parental 87
Introducción 87
Métodos 90
Experimento para evaluar la respuesta antipredatoria individual y grupal 90
Contribución a otras tareas de cuidado parental 92
Resultados 93
Respuesta antipredatoria a nivel grupal 93
Respuesta antipredatoria a nivel individual 95
Efecto de la cría cooperativa sobre la respuesta antipredatoria de los parentales 98
Contribución al acicalado de los pichones 100
Discusión 101
Referencias bibliográficas 106
Capítulo 6. Beneficios de la cría cooperativa para los pichones de Músico y Tordo Pico Corto 111
Introducción 111
Métodos 114
Efecto de los ayudantes sobre el crecimiento corporal de los pichones 114
Efecto de los ayudantes sobre la supervivencia de la nidada 115
Resultados 116
Efecto de los ayudantes sobre el crecimiento de los pichones 116

Efecto de los ayudantes sobre la supervivencia del nido 118
Discusión 119
Referencias bibliográficas: 122
Capítulo 7. Discusión general 127
Organización social 127
¿Cuánto ayudan los ayudantes y qué efecto tienen sobre el esfuerzo parental? 129
Beneficios de la cría cooperativa e interacciones con el parasitismo de cría 130
Síntesis 132

Capítulo 1.
Introducción general

La cría cooperativa es un sistema reproductivo en el que uno o más adultos (ayudantes) participan del cuidado parental de crías que no son sus descendientes directos. Entre los vertebrados, este sistema ha evolucionado en aves, mamíferos y peces (revisión reciente en Dickinson y Koenig, 2016). En las aves, se encuentra en el 9% de las especies vivientes, aproximadamente, con una distribución global notablemente sesgada hacia las avifaunas de Australia y África sub-sahariana (Ligon y Burt 2004, Cockburn 2006, Feeney et al. 2013). La cría cooperativa plantea una paradoja desde el punto de vista evolutivo porque los ayudantes invierten tiempo y esfuerzo en asistir a otros individuos a expensas de su propia reproducción. Este es el motivo fundamental por el cual la existencia de ayudantes en el nido ha concitado el interés de los ecólogos del comportamiento desde los inicios de la disciplina. A lo largo de los últimos 30 años, el estudio de la cría cooperativa ha sido terreno de importantes debates conceptuales y cambios de paradigma acerca de los factores ecológicos y mecanismos que subyacen a la evolución de la cooperación en sociedades animales (Cockburn 1998, Koenig y Dickinson 2004, Koenig et al. 2016). A continuación se introducen algunos de los principales conceptos e interrogantes en torno a este sistema reproductivo que sirven de marco al desarrollo de la tesis.

¿Por qué ayudan los ayudantes?

La pregunta central en el estudio de la cría cooperativa es por qué algunos individuos posponen su reproducción y asisten a otros en el cuidado de sus crías. La principal explicación propuesta hasta ahora para esta paradoja se basa en las teorías de selección por parentesco (*kin selection*) y *fitness* inclusivo, según las cuales el

comportamiento aparentemente altruista puede ser favorecido si los beneficios genéticos que obtienen los ayudantes son mayores que los costos de ayudar (Griffin y West 2002, Hamilton 1964). Estos beneficios genéticos derivan no sólo de la propia reproducción (beneficios directos) sino también de aumentar el éxito reproductivo de individuos emparentados (beneficios indirectos). Por lo tanto, la cría cooperativa puede evolucionar si los ayudantes incrementan su *fitness* inclusivo a través de mejorar el éxito reproductivo de sus parientes cercanos (Emlen y Wrege 1991, Dickinson et al. 1996, Canestrari et al. 2008). Las evidencias más fuertes a favor de la selección por parentesco como mecanismo evolutivo de la cría cooperativa provienen de especies donde la ayuda en el nido ocurre *a posteriori* de la dispersión natal y los ayudantes activamente eligen asistir a individuos emparentados (Heinsohn 2004, Sharp y Hatchwell 2006).

Si bien la importancia de la selección por parentesco en la evolución de la cría cooperativa está firmemente establecida (Griffin y West 2003, Hatchwell 2009), el uso de herramientas moleculares para la determinación del parentesco ha revelado un panorama mucho más diverso y complejo de lo que se creía respecto de las relaciones genéticas dentro de los grupos cooperativos. Estas técnicas han revelado que la ayuda en el nido también puede ocurrir entre individuos no emparentados (Dunn, Cockburn, y Mulder 1995, Groenewoud et al. 2019, Wright et al. 2010), y que los ayudantes pueden obtener beneficios genéticos directos, ya sea a través de compartir la maternidad/paternidad de las crías con la pareja dominante (Baglione et al. 2002, Haydock, Koenig, and Stanback 2001, Richardson, Burke, Komdeur 2002) o de acceder a fertilizaciones extra- pareja dentro o fuera de su grupo social (Heinsohn 2009). De hecho, un número creciente de estudios moleculares muestra que la ocurrencia de pichones extra-pareja en sistemas con cría cooperativa es similar, o incluso superior en algunos casos, al porcentaje observado en sistemas con cuidado biparental y monogamia social (Brouwer y Griffith 2019, Riehl 2013). Un ejemplo

notable es el de *Malurus cyaneus*, una especie de ratona australiana con cría cooperativa en la cual el 90-100% de los nidos contienen al menos un pichón extra-pareja (Cockburn et al. 2016). Estos hallazgos complejizan el panorama acerca de los potenciales costos y beneficios para los ayudantes (Brouwer y Griffith 2019, Cockburn et al. 2016, Kaiser et al. 2019, Riehl 2013). En este escenario, encontrar una respuesta general a la pregunta de por qué ayudan los ayudantes, dando cuenta de toda esta diversidad de formas de organización social y sistemas de apareamiento sigue representando un enorme desafío.

Organización social, patrones de dispersión y ayuda en el nido

En general, la cría cooperativa suele estar asociada a una demora en la dispersión natal que conduce a la formación de grupos sociales por la retención de crías filopátricas (Hatchwell 2009, Riehl 2013). Esto ha llevado a considerar la demora en la dispersión y la cría cooperativa como dos situaciones inseparables una de otra (Ekman et al. 2004). Sin embargo, la filopatría no es condición necesaria ni suficiente para la cría cooperativa, dado que puede ocurrir demora en la dispersión sin que el sistema presente ayuda en el nido (Ekman et al. 1994, 2004, Gamero et al. 2014) o ayuda en el nido *a posteriori* de la dispersión (Dickinson et al. 1996, Russell y Hatchwell 2001, Groenewoud et al. 2019). Entender por qué los individuos dispersan del territorio natal o no, y cómo esto sienta las bases para la cría cooperativa, es un tema crucial que suele pasarse por alto (Ekman et al. 2004).

Hatchwell (2010) ha llamado la atención sobre la importancia de estudiar los patrones de dispersión para determinar el rol de la selección por parentesco en la ayuda en el nido. El argumento es que el hecho de que los ayudantes y los beneficiarios de la ayuda estén emparentados no constituye por sí mismo evidencia suficiente a favor de la selección por parentesco, dado que dicho patrón puede surgir de manera pasiva si los grupos sociales se forman por la retención de progenie

filopátrica y los individuos que dispersan lo hacen a corta distancia de su territorio natal (Ribeiro et al. 2012, Woxvold et al. 2006). Con este tipo de estructura poblacional viscosa los potenciales ayudantes tienen escasas o nulas oportunidades de asistir a individuos que no estén genéticamente emparentados. Por lo tanto, para evaluar la importancia de los beneficios indirectos para los ayudantes resulta necesario verificar si el grado de parentesco entre ellos y los beneficiarios de la ayuda es mayor que el promedio entre individuos de distintos grupos sociales de la misma población cercanos espacialmente (Woxvold et al. 2006).

Si la selección por parentesco es el mecanismo principal que explica el origen y mantenimiento de la cría cooperativa, es de esperar que los ayudantes asistan preferentemente a aquellos individuos con los que están más emparentados (Komdeur 1994, Russell y Hatchwell 2001, Wright et al. 2010). Responder esta cuestión requiere estudiar la estructura genética a fina escala de la población y determinar las relaciones de parentesco dentro y entre grupos sociales (Ribeiro et al. 2012, Richardson et al. 2002). En las aves, los machos tienden a ser filopátricos, mientras que las hembras son las que dispersan y se reproducen a mayores distancias de su territorio natal (Rollins et al. 2012). Esto podría explicar por qué el sexo de los ayudantes suele estar sesgado hacia el masculino. Sin embargo, se ha registrado la ausencia (Blackmore et al. 2011) e incluso reversiones de dicho patrón (Harrison et al. 2014). El patrón de dispersión puede resultar en una estructuración genética a fina escala de la población y diferencias sexuales en los costos y beneficios de la cooperación, que pueden reflejarse a su vez en la composición de los grupos sociales y en el nivel de contribución de los ayudantes de ambos sexos al cuidado de las crías (Richardson et al. 2002, Canestrari et al. 2005, Wright et al. 2010).

Efectos de la ayuda en el nido para la pareja reproductiva y sus crías

En general, se presupone que el cuidado parental implica costos para los individuos reproductores en términos de una reducción en la condición corporal, supervivencia y/o fecundidad futura (Clutton-Brock 1998, Ketterson y Nolan Jr 1994, Komdeur y Hatchwell 1999). Teniendo esto en cuenta, una cuestión que ha recibido bastante atención en la literatura es qué efecto tiene la contribución de los ayudantes para la pareja reproductiva (Hatchwell 1999, Heinsohn 2004). La ayuda en el nido puede contribuir a reducir los costos de la inversión parental, o bien puede mejorar el éxito reproductivo actual manteniendo un cierto nivel de inversión. Cuál de estas opciones predomina depende de cómo respondan los reproductores a la ayuda, lo cual varía a su vez con el balance de costos y beneficios de invertir en reproducción actual *versus* ahorrar esfuerzo para incrementar las chances de reproducción futura (Crick 1992, Hatchwell 1999, Heinsohn 2004). Las estrategias de los reproductores en respuesta a la contribución de los ayudantes han sido exploradas sobre todo en relación con el aprovisionamiento del nido (Koenig y Walters 2016). Son relativamente escasos los trabajos que han abordado esta cuestión con un enfoque más amplio, teniendo en cuenta también otros aspectos del cuidado parental como la defensa e higiene del nido (e.g. Arnold et al. 2005, Carranza et al. 2008, Bolopo et al. 2015).

Dos factores principales que limitan el éxito reproductivo en las aves son la depredación de los nidos y la disponibilidad de alimento. La ayuda en el nido puede ser beneficiosa en términos de reducir la tasa de depredación si los ayudantes intervienen en la vigilancia y defensa del nido (Clarke y Fitz-Gerald 1994, Poiani 1997, Vera 2009, Baglione et al. 2010). Asimismo, el aporte de los ayudantes a la alimentación de las crías puede mejorar la productividad del nido (Emlen y Wrege

1991, Innes y Johnston 1996, Kingma et al. 2010, Dias et al. 2015), o tener efectos positivos sobre el crecimiento y la condición física con la que los pichones salen del nido (e.g. Dickinson et al. 1996, Wright 1997, Hatchwell 2004).

Examinar los posibles beneficios de la cría cooperativa es una cuestión clave para comprender el mantenimiento de estos sistemas. Pese a los grandes avances realizados, para la mayoría de las especies existe un conocimiento escaso respecto de cuánto contribuyen los ayudantes y qué efecto tienen sobre los reproductores y sus crías.

Cría cooperativa y parasitismo de cría

Una presión de selección particular que podría afectar la dinámica social en las especies con cría cooperativa es el parasitismo de cría. Los parásitos de cría obligados ponen sus huevos en nidos de individuos de otras especies (hospedadores) que cuidan a las crías parásitas a expensas de su propio éxito reproductivo (Davies 2000). Un estudio comparativo reciente muestra que en avifaunas de Australia y África la cría cooperativa es más frecuente en especies hospedadoras de parásitos de cría que en especies no hospedadoras (Feeney et al. 2013). Esta asociación sugiere que el parasitismo de cría podría favorecer la cría cooperativa si la presencia de ayudantes reduce los costos para el hospedador o, a la inversa, que los parásitos de cría podrían seleccionar preferentemente hospedadores con cría cooperativa si estos proveen mayores niveles de cuidado parental a sus crías (Feeney et al. 2013, Poiani y Elgar 1994, Wells y Barker 2017). Sin embargo, por el momento son escasos los estudios que han examinado las interacciones entre estos dos sistemas reproductivos (Canestrari et al. 2009, Ursino et al. 2011, Feeney et al. 2013, Baglione y Canestrari 2017, Wells y Barker 2017).

Cría cooperativa en el Neotrópico

La cría cooperativa ha sido relativamente poco estudiada en aves del Neotrópico, a pesar de que no es infrecuente en las especies de esta región (Cockburn 2006, Riehl 2011, Dias et al. 2013, Brouwer y Griffith 2019, Santos y Macedo 2019). Una de ellas es el Músico (*Agelaioides badius*), un paseriforme de mediano tamaño (~40g) nativo del sur de América del Sur que presenta monogamia social y cría cooperativa facultativa (Fraga 1991, Ursino et al 2011). Estudios previos sugieren que los ayudantes serían predominantemente machos, y que los grupos sociales pueden formarse tanto por la retención de crías que demoran la dispersión como por el reclutamiento de individuos no emparentados con la pareja reproductiva (Fraga 1991, Ursino et al. 2017). Sin embargo, no se han realizado estudios de la estructura genética a fina escala en la población que permitan dilucidar un posible rol de la selección por parentesco en favorecer la cría cooperativa en esta especie. Tampoco se ha evaluado cuál es la contribución relativa de los ayudantes a las distintas tareas de cuidado parental y qué efectos podrían tener sobre la inversión parental de la pareja reproductiva y el crecimiento o supervivencia de las crías.

El Músico es, además, el principal hospedador de un parásito de cría especialista, el Tordo Pico Corto (*Molothrus rufoaxillaris*). Existen varias líneas de evidencia que sugieren una larga historia coevolutiva entre estas dos especies (De Mársico y Reboreda 2014, De Mársico et al. 2019). Entre las potenciales adaptaciones y contra-adaptaciones estudiadas se destaca la capacidad del Músico de discriminar entre crías propias y ajenas, lo cual ha favorecido el mimetismo en las vocalizaciones y coloración del plumaje en los juveniles parásitos (Fraga 1998, De Mársico et a. 2012, Rojas Ripari et al. 2018, Ursino et al. 2018). Por su alto grado de

especialización, el sistema formado por el Músico y el Tordo Pico Corto provee un excelente modelo para investigar posibles interacciones entre cría cooperativa y parasitismo.

Objetivos e hipótesis de investigación

El objetivo general de la tesis fue estudiar el sistema de cría cooperativa en el Músico y examinar posibles interacciones entre la ayuda en el nido y el parasitismo de cría por el Tordo Pico Corto.

Los objetivos específicos fueron:

Objetivo 1) Estudiar la organización social del Músico a partir del análisis de las relaciones de parentesco dentro de los grupos sociales y la estructura genética a fina escala en la población.

En base a información previa, las hipótesis de trabajo son que la cría cooperativa está moldeada principalmente por la selección por parentesco y que además existe una estructuración genética poblacional con filopatría sesgada al sexo masculino. Este objetivo se desarrolla en el Capítulo 3, donde se presentan los resultados acerca de las relaciones de parentesco y estructuración genética a fina escala poblacional, obtenidos usando técnicas genómicas de última generación.

En base a información previa, las hipótesis de trabajo son que los ayudantes son predominantemente machos emparentados con uno o ambos miembros de la pareja reproductiva, y que la dispersión natal está sesgada hacia los machos, como en la mayoría de las aves. Este objetivo se desarrolla en el Capítulo 3, donde se presentan los resultados acerca de las relaciones de parentesco y estructuración

genética a fina escala poblacional, obtenidos usando técnicas genómicas de última generación.

Objetivo 2) Evaluar la contribución relativa de los ayudantes a las distintas tareas de cuidado parental (aprovisionamiento, defensa, higiene y acicalado de los pichones) y un posible efecto de la ayuda sobre la inversión de la pareja reproductora y la distribución del alimento en las nidadas parasitadas por Tordo Pico Corto.

La primera parte del objetivo es descriptiva. En relación con el efecto sobre la pareja reproductiva, las hipótesis evaluadas fueron que la cría cooperativa permite "alivianar la carga" de los reproductores (i.e. existe un efecto compensatorio de la ayuda en el nido) o, alternativamente, que la cría cooperativa resulta en un efecto aditivo del esfuerzo de la pareja reproductiva y los ayudantes. Con respecto a la distribución del alimento dentro de las nidadas, se evaluó la hipótesis de que la cría cooperativa limita la competencia dentro de la nidada a través de una distribución más equitativa de las entregas de alimento. Este objetivo se desarrolla en los Capítulos 4 y 5, donde se presentan por primera vez datos acerca de la contribución individual de los miembros del grupo a las distintas tareas de cuidado parental, obtenidos mediante una intensiva labor de captura y anillado de adultos, filmaciones de nidos y un experimento a campo.

Objetivo 3) Estudiar posibles efectos de los ayudantes en relación con el crecimiento de los pichones y la supervivencia de los nidos ante eventos de predación.

Las hipótesis de trabajo fueron que la cría cooperativa beneficia tanto a los pichones del hospedador como parásitos a través de mejorar el crecimiento y reducir el riesgo de depredación. Este objetivo se desarrolló en el Capítulo 6, para lo cual se obtuvieron y analizaron las curvas de crecimiento de pichones de Músico y Tordo Pico

Corto en nidos con y sin ayudantes, y la relación entre la presencia de ayudantes y el éxito del nido frente a eventos de predación.

Referencias bibliográficas:

Arnold K.E., Owens I.P.F. y Goldizen A.W. (2005). Division of labour within cooperatively breeding groups. *Behaviour*, *142*(11–12), 1577–1590.

Baglione V. y Canestrari, D. (2017). Brood Parasitism and Cooperative Breeding: Seeking an Evolutionary Link. Soler M. (Ed). *"Avian Brood Parasitism"* pp: 219-231. Springer, Cham.

Baglione V., Canestrari D., Chiarati E., Vera, R. y Marcos, J. M. (2010). Lazy group members are substitute helpers in carrion crows. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *277*(1698), 3275–3282.

Baglione V., Marcos J. M., Canestrari D. y Ekman, J. (2002). Direct fitness benefits of group living in a complex cooperative society of carrion crows, *Corvus corone corone*. *Animal Behaviour*, *64*(6), 887–893.

Blackmore C.J., Peakall R. y Heinsohn R. (2011). The absence of sex-biased dispersal in the cooperatively breeding grey-crowned babbler. *Journal of Animal Ecology*, *80*(1), 69–78.

Bolopo D., Canestrari D., Marcos J.M. y Baglione V. (2015). Nest sanitation in cooperatively breeding Carrion Crows. *The Auk*, *132*(3), 604–612.

Brouwer L. y Griffith S.C. (2019). Extra-pair paternity in birds. *Molecular Ecology*, *28*(22), 4864–4882.

Canestrari D., Chiarati E., Marcos J. M., Ekman J. y Baglione V. (2008). Helpers but not breeders adjust provisioning effort to year-round territory resource availability in carrion crows. *Animal Behaviour*, *76*(3), 943–949.

Canestrari D., Marcos J. M. y Baglione V. (2009). Cooperative breeding in carrion crows reduces the rate of brood parasitism by great spotted cuckoos. *Animal Behaviour*, *77*(5), 1337–1344.

Carranza J., Polo V., Valencia, J., Mateos C. y de la Cruz C. (2008). How should breeders react when aided by helpers? *Animal Behaviour*, *75*(4), 1535–1542.

Clarke M.F. y Fitz-Gerald G.F. (1994). Spatial organisation of the cooperatively breeding bell miner *Manorina melanophrys*. *Emu*, *94*(2), 96–105.

Clutton-Brock T.H. (1998). Introduction: studying reproductive costs. *Oikos, 83(3)*, 421–423.

Cockburn A. (1998). Evolution of helping behavior in cooperatively breeding birds. *Annual Review of Ecology and Systematics*, *29*(1), 141–177.

Cockburn A. (2006). Prevalence of different modes of parental care in birds. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *273*(1592), 1375–1383.

Cockburn A., Brouwer L., Margraf N., Osmond H. L. y Van de Pol M. (2016). Superb fairy-wrens: Making the worst of a good job. Koenig W.D. y Dickinson J.L. (Eds.) "*Cooperative Breeding in Vertebrates*" pp. 133-49. Cambridge, UK: Cambridge University Press

Crick H.Q.P. (1992). Load-lightening in cooperatively breeding birds and the cost of reproduction. *Ibis*, *134*(1), 56–61.

De Mársico M.C., Gantchoff M.G. y Reboreda J.C. (2012). Host-parasite coevolution beyond the nestling stage? Mimicry of host fledglings by the specialist screaming cowbird. *Proceedings. Biological Sciences: The Royal Society*, *279*(1742), 3401–3408.

De Mársico M.C. y Reboreda J.C. (2014). Adaptaciones y contraadaptaciones entre el Tordo Pico Corto (Molothurs rufoaxilaris) y el Tordo Músico (*Agelaioides badius*). *El Hornero*, *29*(1), 1–12.

De Mársico M.C., Ursino C A., Scardamaglia R.C. y Reboreda J.C. (2019). Coevolutionary arms race between a specialist brood parasite, the Screaming Cowbird, and its host, the Grayish Baywing. *Journal of Ornithology 160*, 1221–1233.

Dias R.I., Webster M.S. y Macedo R.H. (2015). Helping enhances productivity in campo flicker (*Colaptes campestris*) cooperative groups. *The Science of Nature*, *102*(5–6), 31.

Dickinson J.L., Koenig W.D. y Pitelka F.A. (1996). Fitness consequences of helping behavior in the western bluebird. *Behavioral Ecology*, *7*(2), 168–177.

Dickinson J.L. y Koenig W.D. (2016). Introduction. Koenig W.D. y Dickinson J.L. (Eds.) "*Cooperative Breeding in Vertebrates*", pp. 1–5. Cambridge, UK: Cambridge University Press

Dunn P.O., Cockburn A. y Mulder R.A. (1995). Fairy-wren helpers often care for young to which they are unrelated. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *259*(1356), 339–343.

Ekman J., Dickinson J.L., Hatchwell B.J. y Griesser M. (2004). Delayed dispersal. Koenig W.D y Dickinson J.L (Eds.) "*Ecology and Evolution of Cooperative Breeding in Birds"*, 35–47. Cambridge, UK: Cambridge University Press

Ekman J., Sklepkovych B. y Tegelstrom H. (1994). Offspring retention in the siberian jay (*Perisoreus infaustus*): The prolonged brood care hypothesis. *Behavioral Ecology*, *5*(3), 245–253.

Emlen S.T. y Wrege P.H. (1991). Breeding Biology of White-Fronted Bee-Eaters at Nakuru: The Influence of Helpers on Breeder Fitness. *The Journal of Animal Ecology*, *60*(1), 309–326.

Feeney W.E., Medina I., Somveille M., Heinsohn R., Hall M.L., Mulder, R.A, Stein J.A., Kilner R.M., Langmore, N. E. (2013). Brood parasitism and the evolution of cooperative breeding in birds. *Science 342*(6165), 1506–1508.

Fraga R.M. (1998). Interactions of the parasitic Screaming and Shiny Cowbirds (*Molothrus rufoaxillaris* and *M. bonariensis*) with a shared host, the Bay-winged Cowbird (*M. badius*). SK Robinson y SI Rothstein (Eds.) "*Parasitic birds and their hosts: studies in coevolution"* 173–193.

Fraga R.M. (1991). The Social System of a Communal Breeder, the Bay-winged Cowbird Molothrus badius. *Ethology*, *89*(3), 195–210.

Gamero A., Székely T. y Kappeler P. M. (2014). Delayed juvenile dispersal and monogamy, but no cooperative breeding in white-breasted mesites (*Mesitornis variegata*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, *68*(1), 73–83.

Griffin A.S. y West S.A. (2002). Kin selection: fact and fiction. *Trends in Ecology and Evolution*, *17*(1), 15–21.

Griffin A.S. y West S.A. (2003). Kin discrimination and the benefit of helping in cooperatively breeding vertebrates. *Science*, *302*(5645), 634–636.

Groenewoud F., Kingma S.A., Bebbington K., Richardson D.S. y Komdeur, J. (2019). Experimentally induced antipredator responses are mediated by social and environmental factors. *Behavioral Ecology*, *30*(4), 986–992.

Hamilton W.D. (1964). The Genetical Evolution of Social Behaviour. II. *Journal of Theoretical Biology*, *7*, 17-52.

Harrison X.A., York J.E. y Young A.J. (2014). Population genetic structure and direct observations reveal sex-reversed patterns of dispersal in a cooperative bird. *Molecular Ecology*, *23*(23), 5740–5755.

Hatchwell B. (1999). Investment strategies of breeders in avian cooperative breeding systems. *American Naturalist*, *154*(2), 205–219.

Hatchwell B. (2004). Helpers increase long-term but not short-term productivity in cooperatively breeding Long-tailed tits. *Behavioral Ecology*, *15*(1), 1–10.

Hatchwell B. (2010). Cryptic kin selection: Kin structure in vertebrate populations and opportunities for kin-directed cooperation. *Ethology*, *116*(3), 203–216.

Hatchwell B. (2009). The evolution of cooperative breeding in birds : kinship , dispersal and life history. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 364(1533)*, 3217-3227.

Haydock J., Koenig W.D. y Stanback M.T. (2001). Shared parentage and incest avoidance in the cooperatively breeding acorn woodpecker. *Molecular Ecology*, *10*(6), 1515–1525.

Heinsohn R.G. (2004). Parental care, load-lightening, and costs. Koenig W.D. Dickinson J.L. (Eds.). *Ecology and Evolution of Cooperative Breeding in Birds*, pp. 67–80. Cambridge, UK: Cambridge University Press

Innes K.E. y Johnston R.E. (1996). Cooperative breeding in the white-throated magpie-jay. How do auxiliaries influence nesting success? *Animal Behaviour*, *51*(3), 519–533.

Kaiser S.A., Martin T.E., Oteyza J.C., Danner J.E., Armstad C.E. y Fleischer R. C. (2019). Within-group relatedness and patterns of reproductive sharing and cooperation in the tropical chestnut-crested yuhina. *Animal Behaviour*, *158*, 89–99.

Ketterson E.D. y Nolan Jr V. (1994). Male parental behavior in birds. *Annual Review of Ecology and Systematics*, *25*(1), 601–628.

Kingma S.A., Hall M.L., Arriero E. y Peters A. (2010). Multiple benefits of cooperative breeding in Purplecrowned Fairy-wrens: A consequence of fidelity? *Journal of Animal Ecology*, *79*(4), 757–768.

Koenig W.D., Dickinson J.L. y Emlen, S.T. (2016). Synthesis: Cooperative breeding in the twenty-first century. Koenig W.D. y J.L. Dickinson (Eds.), "*Cooperative Breeding in Vertebrates"* pp. 353–374. Cambridge, UK: Cambridge University Press

Koenig W.D. y Walters E.L. (2016). Provisioning patterns in the cooperatively breeding acorn woodpecker: does feeding behaviour serve as a signal? *Animal Behaviour*, *119*, 125–134.

Koenig W. y Dickinson J. (2004, Eds.). *Ecology and Evolution of Cooperative Breeding in Birds*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.

Komdeur J y Hatchwell B. (1999). Kin recognition : function and mechanism in avian societies. *Trends in Ecology & Evolution, 14(6),* 237-241.

Komdeur J. (1994). Experimental evidence for helping and hindering by previous offspring in the cooperative-breeding Seychelles Warbler *Acrocephalus sechellensis*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, *34*(3), 175-186.

Ligon J.D. y Burt D.B. (2004). Evolutionary origins. Koenig W.D. Dickinson J.L. (Eds.). *Ecology and Evolution of Cooperative Breeding in Birds*, pp. 5–34. Cambridge, UK: Cambridge University Press

Poiani A. (1997). Prey delivered to bell miner nestlings: Is there division of labour among nest attendants? *Emu*, *97*(1), 87–90.

Poiani A. y Elgar M. A. (1994). Cooperative breeding in the Australian avifauna and brood parasitism by Cuckoos (Cuculidae). *Animal Behaviour*, *47*(3), 697–706.

Ribeiro A M., Lloyd P., Feldheim K.A. y Bowie R.C.K. (2012). Microgeographic socio-genetic structure of an African cooperative breeding passerine revealed: Integrating behavioural and genetic data. *Molecular Ecology*, *21*(3), 662–672.

Richardson D.S., Burke T. y Komdeur J. (2002). Direct benefits and the evolution of female-biased cooperative breeding in Seychelles Warblers. *Evolution*, *56*(11), 2313–2321.

Riehl C. (2013). Evolutionary routes to non-kin cooperative breeding in birds. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *280*(1772).

Rojas Ripari J.M., Ursino C.A., Reboreda J.C. y De Mársico M.C. (2018). Innate development of acoustic signals for host parent–offspring recognition in the brood-parasitic Screaming Cowbird *Molothrus rufoaxillaris*. *Ibis 161(4)* 717-729.

Rollins L.A., Browning L.E., Holleley C.E., Savage J.L., Russell A.F. y Griffith S.C. (2012). Building genetic networks using relatedness information: A novel approach for the estimation of dispersal and characterization of group structure in social animals. *Molecular Ecology*, *21*(7), 1727–1740.

Russell A.F. y Hatchwell B. (2001). Experimental evidence for kin-biased helping in a cooperatively breeding vertebrate. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, *268*(1481), 2169–2174.

Sharp S.P. y Hatchwell B. (2006). Development of family specific contact calls in the Long-tailed Tit *Aegithalos caudatus*. *Ibis 148(4)* 649–656.

Ursino C.A., De Mársico M.C., Reboreda J.C. y Riehl C. (2017). Kinship and genetic mating system of the Grayish Baywing (*Agelaioides badius*), a cooperatively breeding Neotropical blackbird . *The Auk*, *134*(2), 410–420.

Ursino C.A., De Mársico M.C., Sued M., Farall A. y Reboreda J.C. (2011). Brood parasitism disproportionately increases nest provisioning and helper recruitment in a cooperatively breeding bird. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, *65*(12), 2279–2286.

Ursino C.A., Gloag R., Reboreda J.C. y De Mársico M.C. (2018). Host provisioning behavior favors mimetic begging calls in a brood-parasitic cowbird. *Behavioral Ecology*, *29*(2), 328–332.

Vera R. (2009). Grupos sociales cooperativos de Corneja: agregaciones no territoriales, comportamiento de vigilancia y compromiso entre las necesidades de pollos y adultos en el aprovisionamiento al nido. *Etologuía: Boletín de La Sociedad Española de Etología*, *23*, 94–95.

Wells M.T. y Barker F.K. (2017). Big groups attract bad eggs: brood parasitism correlates with but does not cause cooperative breeding. *Animal Behaviour*, *133*, 47–56.

Woxvold I. A., Adcock G. J. y Mulder R.A. (2006). Fine-scale genetic structure and dispersal in cooperatively breeding apostlebirds. *Molecular Ecology*, *15*(11), 3139–3146.

Wright J. (1997). Helping-at-the-nest in Arabian babblers: Signalling social status or sensible investment in chicks? *Animal Behaviour*, *54*(6), 1439–1448.

Wright J., McDonald P.G., Te Marvelde L., Kazem A.J.N. y Bishop C.M. (2010). Helping effort increases with relatedness in Bell Miners, but 'unrelated' helpers of both sexes still provide substantial care. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *277*(1680), 437–445.

Capítulo 2.
Métodos generales

Sitio de estudio

El proyecto se llevó a cabo en la Reserva Privada de Flora y Fauna “El Destino” (35° 08’ S 57° 25’ O, Magdalena, Provincia de Buenos Aires), que forma parte de la reserva de biósfera Parque Costero del Sur (MAB-UNESCO). Anteriormente una estancia, este sitio presenta un importante valor patrimonial arquitectónico y contiene relictos de bosque nativo de la costa bonaerense, conocidos localmente como talares (Arturi et al. 2009). Estos bosques ocupan el 11,4% de la reserva (Cagnoni et al. 1996) y se encuentran asentados sobre bancos de conchilla en líneas paralelas a la costa del río (Cavallotto et al. 2004) inmersos en una matriz de pastizales inundables, con flechillares (*Stipa* sp.) en las zonas más altas, espartillares en las zonas más bajas y húmedas (*Spartina* sp. y *Juncus* sp.) y ocasionales cardales (Pagano y Mérida 2009). Los talares están dominados por Tala (*Celtis ehrenbergiana*) y Coronillo (*Scutia buxifolia*), acompañados de especies secundarias como Sombra de toro (*Jodina rhombifolia*) y Molle (*Schinus longifolius*). Durante las décadas del ’40 y ’50 la región sufrió una fuerte extracción de madera para leña (Arturi y Goya 2004) y a pesar de su estatus de Reserva de Biósfera carece de regulaciones sobre actividades productivas, siendo la ganadería y la minería las que generan el mayor impacto. El Parque Costero del Sur cuenta con 7 zonas núcleo con distinta composición, distribución y abundancia de especies cuya conectividad habilita la función del paisaje (Arturi et al. 2009). La reserva privada “El Destino” se ubica en las zona 2, abarcando unas 2000 ha a ambos lados de la Ruta 11, dentro de las cuales el área de estudio ocupa unas 580 ha (Figura 2.1). Actualmente el predio está dedicado a la actividad ganadera, tareas de investigación y turismo rural.

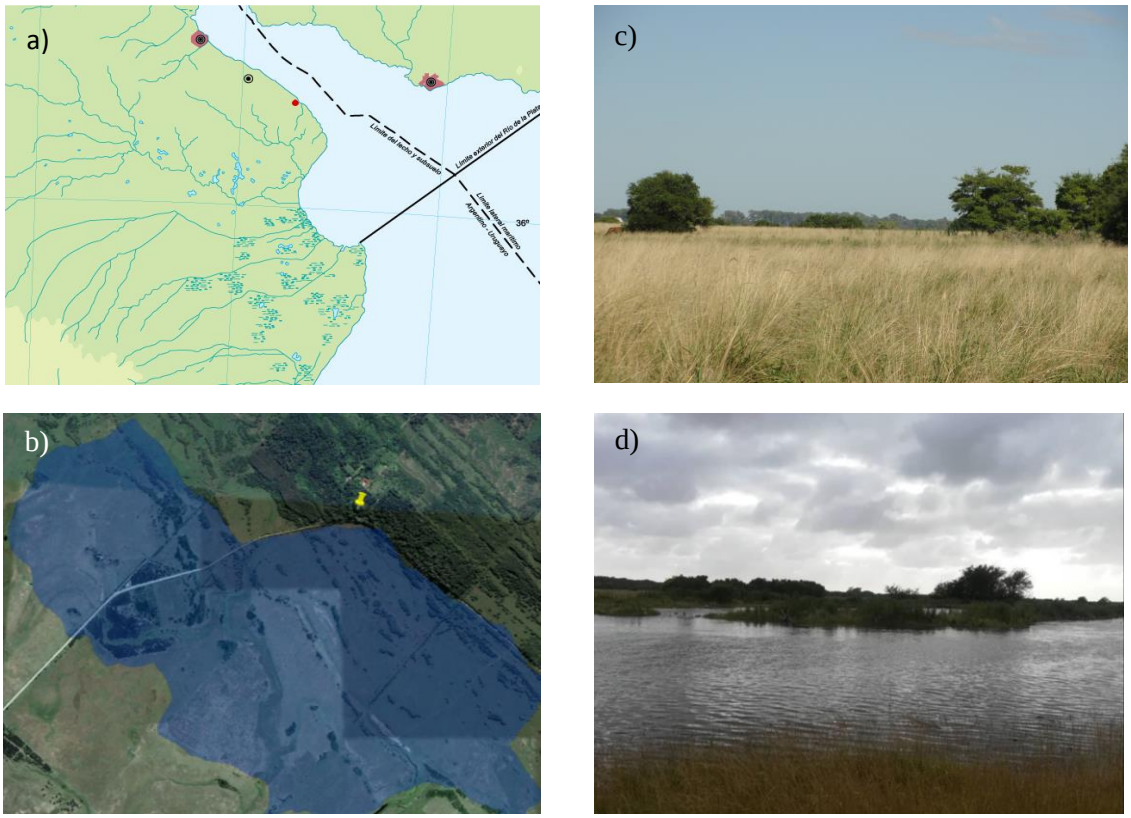

Figura 2.1: a) Sección de la Provincia de Buenos Aires (mapoteca.educ.ar) indicando la ubicación de la Reserva Privada “El Destino” con un punto rojo comparado con la ciudad de La Plata (punto negro), Ciudad Autónoma de Buenos Aires y Montevideo (puntos negros y contorno rojo). b) Imagen de Google Earth donde se encuentra el área de estudio (zona sombreada de azul), y el casco de estancia (pin amarillo). Pueden observarse dentro del área de estudio los relictos de bosque (talares) en cordones paralelos o subparalelos a la costa del Río de la Plata, rodeados de una matriz de pastizales (c) inundables (d).

Especies de estudio

El Músico es residente en el área durante todo el año. Pertenece a la familia Icteridae, subfamilia Agelaiinae (Powell et al. 2014, Remsen et al. 2016) y presenta una amplia distribución en Argentina hasta el norte-centro de la Patagonia, exceptuando la región andina, Uruguay, Paraguay y sur de Brasil (Ortega 1998). Los sexos son indistinguibles tanto en la coloración del plumaje como en el tamaño. La dieta es mayormente insectívora, pero los adultos también consumen semillas (Friedmann 1929). El Músico forma grandes bandadas desde el otoño hasta la primavera, las cuales se disgregan al comienzo de la temporada reproductiva que, en

la Provincia de Buenos Aires abarca desde mediados de noviembre a fines de febrero. Los Músicos anidan en nidos cerrados construidos por otras especies (Figura 2.2), principalmente de la familia Furnariidae (*Phacellodomus* spp., *Synallaxis* spp., *Furnarius rufus*). También utilizan nidos de Benteveo (*Pitangus sulfuratus*, Tyrannidae) y cavidades secundarias como nidos de carpintero (*Colaptes melanochloros* y *C. campestris*) (Fraga 1991, De Mársico et al. 2010). Muy rara vez utilizan nidos abiertos o construyen su propio nido, una estructura laxa en forma de "taza" hecha de pastos (Fraga 1998, De Mársico y Reboreda 2010)

Figura 2.2: Nidos ocupados por Músicos durante las campañas de trabajo. De izquierda a derecha: caja nido, nido de Leñatero (*Anumbius annumbi*), nido de Carpintero (*Colaptes spp*) y nido de hornero (*Furnarius rufus*).

Luego de acondicionar la cámara de incubación (generalmente consiste en una copa de pasto) transcurre una etapa de pre-puesta de duración variable, que en promedio ronda los 6 días pero puede variar entre 2 días y 3 semanas (De Mársico y Reboreda 2010). Transcurrida esta etapa comienza la puesta de huevos, que puede durar entre 3 y 5 días, con una moda de 4 días (De Mársico et al. 2010). Los huevos son puestos alrededor de las 7:00 am.

En el sitio de estudio prácticamente todos los nidos de Músico son parasitados por el Tordo Pico Corto (frecuencia 90-100%), generalmente con más de un huevo parásito por nido (De Mársico et al. 2010). Los huevos de estas especies son similares

en forma y tamaño pero pueden diferenciarse por la pigmentación (Fraga 1983). Los huevos de Tordo Pico Corto son en su mayoría de color rosado con manchas de color marrón oscuro o negro, mientras que los de Músico suelen ser de color gris-verdoso con manchas pardas (Figura 2.3a). Los nidos también pueden ser parasitados por Tordo Renegrido, aunque con una frecuencia mucho menor (16 - 20%). Los huevos de esta especie son fácilmente distinguibles de los otros por su forma más redondeada y patrón de coloración (Figura 2.3b).

Los periodos de incubación de Músico y Tordo Pico Corto son de 13 y 12 días, respectivamente. Los pichones recién nacidos de ambas especies pueden ser identificados por diferencias en el color de piel y la pigmentación de la punta de su pico, que es de color oscuro en el Músico (Fraga 1979). A partir de los 4 días de edad la similitud entre los pichones de ambas especies aumenta y, para cuando salen del nido, son prácticamente indistinguibles entre sí a simple vista (De Márgico et al. 2012, Figura 2.3c). Los pichones permanecen en el nido entre 12 y 16 días y luego de salir, los juveniles pueden permanecer durante al menos 2-3 semanas en el territorio natal, en compañía de los adultos (De Márgico et al. 2010).

Figura 2.3: a) Fotos de dos huevos de Músico (abajo izquierda) y de Tordo Pico Corto (arriba derecha). b) Huevo de Tordo Renegrido colectado en un nido de Músico. c) Pichón de Tordo Pico Corto (izquierda, pico pálido) y Músico (los otros tres) de 4 días de edad, cuando aún son distinguibles.

La proporción de nidos asistidos reportada para el sitio de estudio es del 40% de los nidos, con un rango de 1 a 4 ayudantes por nido (Ursino et al. 2011). Salvo excepciones, los ayudantes se unen a la pareja reproductiva luego de la eclosión de los huevos, y su número puede aumentar durante la etapa de pichones y después que estos salen del nido (Fraga 1991, Ursino et al. 2011). Fraga (1991) ha reportado hasta 8 ayudantes acompañando a una pareja reproductiva con juveniles. El Músico es una especie de nidada única, es decir que, salvo raras veces, las parejas no vuelven a reproducirse en la temporada si tuvieron un intento reproductivo exitoso (Fraga 1991). Durante la etapa juvenil, los adultos continúan proveyendo alimento hasta aproximadamente un mes después de dejar el nido (Fraga 1991). En esta etapa los grupos sociales se alejan cada vez más del sitio de nidificación a medida que los juveniles adquieren mayores habilidades de vuelo, y pueden fusionarse con otros grupos.

Procedimientos generales para el monitoreo de los nidos y colecta de datos

Durante las temporadas reproductivas 2015-2016, 2016-2017, 2017-2018 y 2018-2019 se realizó una búsqueda exhaustiva de nidos de Músico en toda el área de estudio. Los nidos se localizaron usando como claves la presencia y llamados de alarma de los adultos y mediante búsqueda sistemática a lo largo de los talares. Para facilitar la colecta de datos, desde el año 2002 se instalaron en el área de estudio cajas-nido de madera de 30 x 20 x 16 cm (alto, ancho y profundidad), con un orificio de entrada de 4,5 cm de diámetro y un techo-tapa móvil para acceder al contenido del nido. Estas cajas son utilizadas ocasionalmente, aunque siempre con baja frecuencia.

Los nidos encontrados fueron monitoreados regularmente hasta que produjeron volantones o fracasaron. Una vez confirmada la actividad, el nido fue georreferenciado mediante GPS (Garmin E-trex10) y se le asignó un número para su

identificación. En cada visita al nido se registró el contenido, el número de adultos presentes y su identidad en caso de estar anillados. El monitoreo se realizó entre las 6:30 y 19:00, excepto en los nidos en periodos de pre-puesta y puesta, que fueron visitados luego de las 7:30 hs para no interferir con la puesta de huevos del Músico, que ocurre alrededor de las 7:00 hs.

Todos los huevos encontrados fueron marcados con tinta indeleble para su identificación y asignados al Músico, Tordo Pico Corto o Tordo Renegrido según sus características diagnósticas. Para cada nido se registró la fecha y etapa del ciclo de nidificación en la que fue encontrado, y se le asignó una fecha de inicio correspondiente a la puesta del primer huevo del hospedador.

Siempre que fue posible, los nidos fueron inspeccionados diariamente durante las etapas de puesta. Se manipularon todas las nidadas durante el período de puesta, dejando 4 huevos de Músico y 2 de Tordo Pico Corto. Esta composición está dentro de la variación natural observada en los nidos de Músico y no es infrecuente en el área de estudio (De Mársico et al. 2010). Los huevos de Tordo Pico Corto extra que debieron ser removidos fueron usados para parasitar artificialmente otros nidos o colectados para otros proyectos de investigación. Dado que las hembras de Tordo Pico Corto suelen poner sus huevos de manera asincrónica respecto de la puesta del hospedador, se eligieron los huevos parásitos de forma tal que los pichones nacieran el mismo día que el primer pichón de Músico. La composición de los nidos fue ajustada al final del periodo de puesta. Al iniciar la etapa de incubación los eventos visita fueron con menor frecuencia retirando huevos de tordo provenientes de parasitismo posterior.

Figura 2.3: Fotografías que ilustran los procedimientos de captura y extracción de sangre de individuos adultos.

Luego de la eclosión se identificó a cada pichón mediante marcas de tinta indeleble en los tarsos. Nuevamente se visitaron los nidos en forma diaria y en cada visita se registró el tamaño de grupo, la edad de los pichones, su peso y largo de tarso. En esta etapa también se procedió a capturar a todos los adultos del grupo social mediante redes de niebla, asignándole a cada individuo capturado una combinación única de tres anillos plásticos de color y un anillo metálico numerado (Figura 2.3). A cada individuo se le extrajo una pequeña muestra de sangre (30-50 µl) por punción de la vena braquial que será posteriormente utilizada para determinar su sexo (objetivo 1 y 2) y relaciones de parentesco (objetivo 1). La sangre fue colectada con un capilar heparinizado y almacenada en buffer de lisis (100mM Tris, 100mM EDTA, 10 mM NaCl, 2% SDS) a temperatura ambiente hasta su traslado al laboratorio. El mismo procedimiento de anillado y extracción de sangre se aplicó a los pichones a los 8-9 días de edad. Luego de esa edad, los nidos ya no fueron inspeccionados para evitar la salida prematura de los pichones, pero se observaron regularmente desde una cierta distancia hasta registrar la salida de al menos un pichón del nido. Los nidos que produjeron al menos un volantón fueron considerados exitosos.

Referencias bibliográficas

Arturi M.F. y Goya J.F. (2004). Estructura, dinámica y manejo de los talares del NE de Buenos

Aires. *Ecología y Manejo de Los Bosques de Argentina, La Plata, Editorial de La Universidad Nacional de La Plata*.

Arturi M., Meroni M.P., Paleo, C., y Herrera, R. (2009). Lineamientos para una zonificación del Parque Costero del Sur basada en la relación del paisaje con la cultura. *Parque Costero Del Sur: Magdalena y Punta Indio (J Athor, Ed.). Fundación de Historia Natural Félix de Azara, Buenos Aires*, 18–36.

Cagnoni M., Faggi, A.M., y Ribichich, A. (1996). La vegetación de la Reserva "El Destino" (Partido de Magdalena, Provincia de Buenos Aires). *Parodiana*, *9*(1), 25–44.

Cavallotto J.L., Violante, R.A., y Parker, G. (2004). Sea-level fluctuations during the last 8600 years in the de la Plata river (Argentina). *Quaternary International*, *114*(1), 155–165.

De Mársico M.C., Mahler, B., y Reboreda, J.C. (2010). Reproductive success and nestling growth of the baywing parasitized by Screaming and Shiny Cowbirds. *The Wilson Journal of Ornithology*, *122*(3), 417–431.

De Mársico M.C., y Reboreda, J.C. (2010). Brood parasitism increases mortality of Bay-Winged Cowbird nests. *The Condor*, *112*(2), 407–417.

Fraga R.M. (1998). Interactions of the parasitic Screaming and Shiny Cowbirds (*Molothrus rufoaxillaris* and *M. bonariensis*) with a shared host, the Bay-winged Cowbird (*M. badius*). SK Robinson y SI Rothstein (Eds.) "*Parasitic birds and their hosts: studies in coevolution"* 173–193. Oxford UK, Oxford Orntithology.

Fraga R.M. (1991). The social system of a communal breeder, the Bay-winged Cowbird *Molothrus badius*. *Ethology*, *89*(3), 195–210.

Friedmann H. (1929). Subgenus *Molothrus*. *Molothrus bonariensis* the shiny cowbird. *The Study in the Biology of Social Parasitism. Thomas, C., Springfield, Illinois*, 57–144.

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

Pagano L.G. y Mérida E. (2009). Aves del Parque costero del Sur. *Parque Costero Del Sur. Naturaleza, Conservación y Patrimonio Natural. Buenos Aires: Fundación de Historia*

Natural Félix de Azara, 200–244.

Powell A., Barker F.K., Lanyon S.M., Burns K.J., Klicka J. y Lovette I. (2014). A comprehensive species-level molecular phylogeny of the New World blackbirds (Icteridae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *71*, 94–112.

Remsen J.V., Powell A., Schodde R., Barker F.K. y Lanyon S.M. (2016). A revised classification of the Icteridae (Aves) based on DNA sequence data. *Zootaxa*, *4093*(2), 285–292.

Capítulo 3.
Organización social: relaciones de parentesco y estructuración genética a fina escala

Introducción

La cría cooperativa plantea una paradoja desde el punto de vista evolutivo: los ayudantes optan por invertir en el cuidado de crías ajenas a expensas de postergar su propia reproducción. De acuerdo con la teoría de selección por parentesco, esta estrategia podría ser favorecida si los costos en términos de *fitness* para los ayudantes son menores que los beneficios genéticos que reciben por ayudar (Hamilton 1964, Griffin y West 2002). En muchas especies de aves con cría cooperativa, los ayudantes suelen ser parientes en primer grado (hijos o hermanos) de alguno de los miembros de la pareja reproductiva, lo cual es consistente con la idea de que el comportamiento de los ayudantes está dirigido principalmente por beneficios en términos de *fitness* inclusivo (Hamilton 1964, Koenig et al. 2016).

Sin embargo, en los últimos años, el uso de técnicas moleculares para la determinación del parentesco ha revelado que la ayuda en el nido también puede ocurrir entre individuos no emparentados, abriendo nuevos debates acerca de la importancia relativa de los beneficios indirectos *versus* directos en la evolución de este comportamiento (Riehl 2013, Cockburn et al. 2016, Shen et al. 2016, Kaiser et al. 2019) Más aún, la cría cooperativa aparece asociada a una gran variedad de sistemas de apareamiento, desde monogamia genética hasta sistemas promiscuos (Riehl 2013). Dar cuenta de esta diversidad ha mostrado ser un enorme desafío, especialmente en aquellos casos donde no parece haber beneficios genéticos

evidentes para los ayudantes y existen conflictos entre las partes sobre la inversión en reproducción y cuidado parental (Cockburn 2013).

Por otro lado, se ha señalado que incluso si los ayudantes están cercanamente emparentados con la pareja reproductora y las crías a las que asisten, esto por sí mismo no es una evidencia suficiente de que está actuando la selección por parentesco porque la ayuda en grupos familiares puede ser un efecto colateral de una población “viscosa”, donde los individuos dispersan a corta distancia de su territorio natal (Woxvold et al. 2006, Hatchwell 2010, Ribeiro et al. 2012). Una estructura viscosa puede surgir si existen restricciones ecológicas en el acceso a territorios o parejas reproductivas que hacen que sea más costoso para los individuos dispersar e intentar reproducirse de manera independiente que permanecer en el territorio natal (Selander 1964, Greenwood 1980, Blackmore y Heinsohn 2008, Dobson 2013). En las aves, los machos suelen ser el sexo filopátrico, mientras que las hembras dispersan y se reproducen a mayores distancias (Clarke et al. 1997, Double et al. 2005, Woxvold et al. 2006, Ribeiro et al. 2012). Sin embargo, en algunos casos se ha registrado la ausencia (Blackmore et al. 2011) o reversiones de dicho patrón (Woxvold et al. 2006, Berg et al. 2009, Ribeiro et al. 2012). Las diferencias sexuales en el patrón de dispersión pueden ser determinantes de la composición de los grupos sociales al incidir en el balance de los costos y beneficios de la ayuda para cada sexo. Por lo tanto, estudiar la estructura genética a fina escala teniendo en cuenta no sólo las relaciones de parentesco dentro de los grupos sociales sino los patrones de dispersión, es un paso fundamental para caracterizar la organización social de los sistemas cooperativos y evaluar si la ayuda está seleccionada por el parentesco o por otro tipo de beneficios (Richardson et al. 2002, Dickinson y Hatchwell 2009, Ribeiro et al. 2012, Green y Hatchwell 2018).

Si la selección por parentesco es el mecanismo principal que explica el origen y mantenimiento de la cría cooperativa es de esperar que los ayudantes dirijan activamente su ayuda hacia aquellos individuos con los que están más emparentados (Komdeur 1994, Dickinson y Hatchwell 2009). Uno de los mejores ejemplos es el del Mito (*Aegithalos caudatus*), donde los ayudantes son individuos cuyo evento reproductivo fracasó y asisten en nidos donde tienen una relación de parentesco de primer orden, generalmente hermanos, con uno de los miembros de la pareja reproductora (Hatchwell 2016). En esta especie se ha demostrado la existencia de mecanismos de reconocimiento individual (Sharp et al. 2005) y un ajuste fino en la contribución de los ayudantes, quienes aumentan sus tasas de entrega de alimento en función de su parentesco promedio con la nidada a la que asisten (Nam et al. 2010).

Pese a los importantes avances que hubo en el conocimiento de la cría cooperativa en las últimas décadas, aún se conoce relativamente poco acerca de este sistema en la región neotropical (Rodrigues y Carrara 2004, Cockburn 2006, Riehl 2011, Dias et al. 2013). En particular en el Músico, el sistema de cría cooperativa fue estudiado por primera vez por Fraga (1991). Este autor registró la presencia de 1 a 4 ayudantes en el 95% de los nidos monitoreados. En base a observaciones de individuos anillados y estimando las relaciones de parentesco a través de pedigrís, sugirió que la ayuda ocurre principalmente en grupos familiares donde los ayudantes suelen ser crías de años anteriores de uno o ambos miembros de la pareja reproductiva (Fraga 1991). Más recientemente, un estudio basado en marcadores microsatélites mostró que el sistema de apareamiento de esta especie es monogamia social con ocasionales fertilizaciones por fuera de la pareja, y que los grupos sociales pueden formarse tanto por la retención de crías que demoran la dispersión como por el reclutamiento de individuos no emparentados con la pareja reproductiva (Figura 3.1, Ursino et al. 2017). Además, en este estudio se observaron dos casos de parasitismo intraespecífico (i.e. crías de una misma nidada que no compartían ninguno de los

padres) y un caso de cuasi-parasitismo (i.e. crías que eran hijas del padre social pero no compartían la madre genética). Estos resultados plantean una organización social más compleja que la descrita anteriormente por Fraga (1991), pero no son concluyentes respecto del rol del parentesco en dicha organización. Una limitación del estudio de Ursino et al. (2017) para caracterizar el sistema de cría cooperativa del Músico es que contó con muestras de sólo 8 ayudantes y usó sólo 7 loci microsatélites, lo que confiere un poder de resolución relativamente bajo para inferir el parentesco.

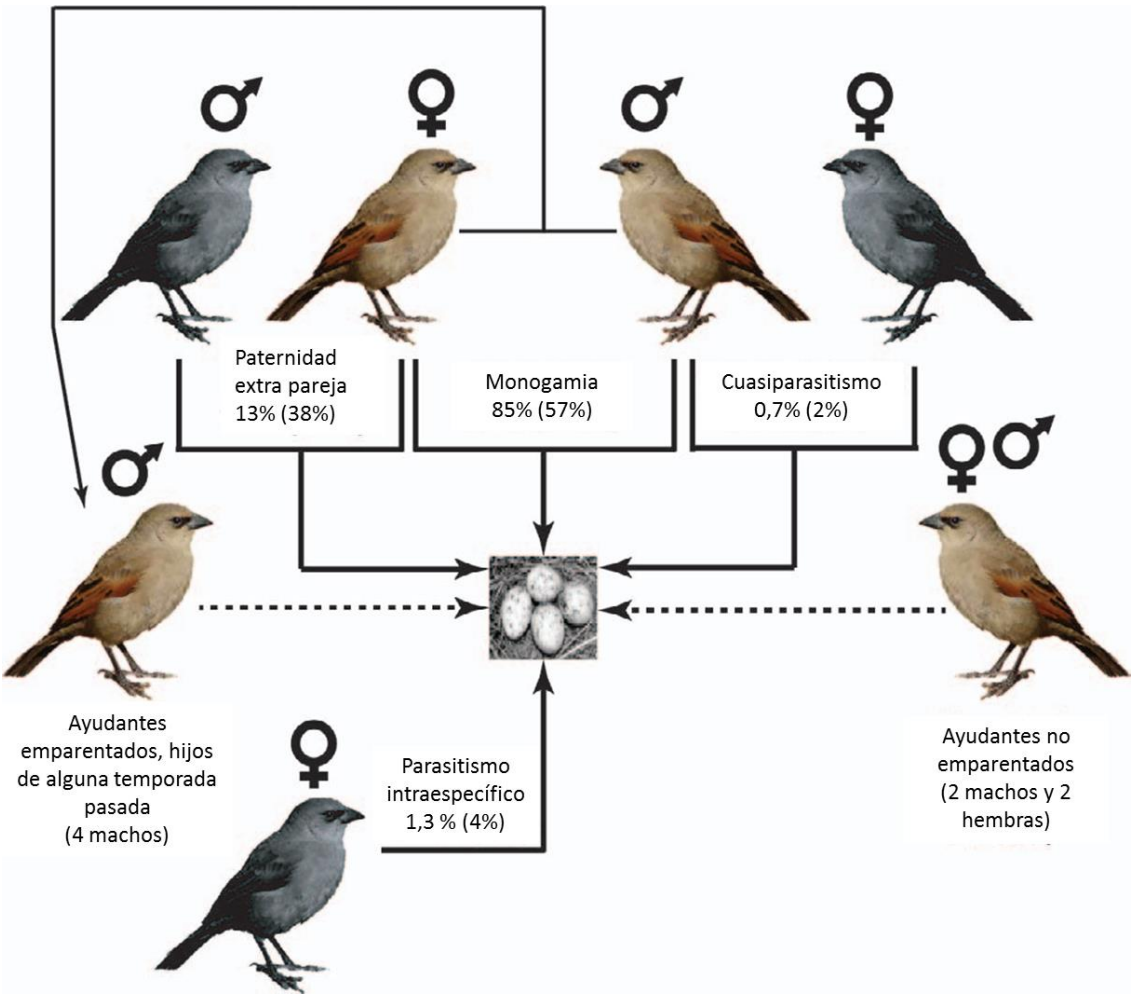

Figura 3.1: Relaciones genéticas dentro de los grupos cooperativos de Músico reportadas por Ursino et al. (2017). Los valores indican el porcentaje de pichones (de un total de 153 pichones genotipificados) que fueron asignados a: la pareja social (monogamia), fertilizaciones por fuera de la pareja (paternidad extra-pareja), cuasiparasitismo y parasitismo. Entre paréntesis, el porcentaje de nidos correspondiente (n = 47). Los individuos en color representan las relaciones genéticas determinadas en forma directa, y los individuos en gris, las inferidas a

partir de las relaciones de parentesco entre los pichones del nido (medio-hermanos por parte de madre o padre, o no relacionados).

El uso de marcadores moleculares es clave en el estudio de la ecología y comportamiento animal. Hoy en día los análisis genéticos son parte de un cambio de paradigma donde la genómica se está abriendo paso, lo cual se ve favorecido por la creciente disponibilidad de recursos genómicos y métodos para amplificar múltiples marcadores a la vez (i.e. *multiplexing*, Weinman et al. 2015, Aguillon et al. 2017, Thrasher et al. 2018, Flanagan and Jones 2019). Actualmente, las técnicas genómicas constituyen una herramienta cada vez más difundida para abordar preguntas sobre la biología reproductiva y ecología del comportamiento de especies silvestres (e.g.: Cramer et al. 2011, Weinman et al. 2015, Thrasher et al. 2018, Flanagan y Jones 2019). En particular, se están utilizando cada vez más los polimorfismos de un único nucleótido (SNPs por sus siglas en inglés) debido a que son fáciles de cuantificar y son menos costosos que los marcadores genéticos más tradicionales, los microsatélites (Jones et al. 2010).

El objetivo general de este capítulo es estudiar la organización social del Músico a través del análisis de las relaciones de parentesco dentro y entre los grupos sociales. Los objetivos particulares son: 1) estudiar cómo están compuestos los grupos sociales, 2) evaluar si los ayudantes obtienen principalmente beneficios genéticos indirectos (i.e. a través de la reproducción de individuos emparentados) o directos (i.e. a través del acceso a paternidad/maternidad dentro o fuera de su grupo social), 3) estudiar si existe una estructuración genética a fina escala en la población, y 4) determinar los patrones sexuales de dispersión. Si el sistema de cría cooperativa presente en el Músico está modelado principalmente por la selección por parentesco se espera que los ayudantes sean en su mayoría parientes en primer grado de la pareja reproductiva y las crías a las que asisten, y que no compartan la maternidad/paternidad con la pareja dominante. Por el contrario, si la cría cooperativa

en este sistema está modelada principalmente por beneficios genéticos directos, se espera que los ayudantes presenten bajo o nulo grado de parentesco con la pareja a la que asisten y ganen paternidad/maternidad de las crías dentro del grupo social. Con respecto al patrón de dispersión, si los machos son el sexo filopátrico (i.e. el patrón típico de las aves), se espera que el coeficiente de parentesco entre machos de grupos sociales cercanos sea mayor, en promedio, que el coeficiente de parentesco entre las hembras. Además, se espera que el grado de parentesco entre los machos correlacione negativamente con la distancia geográfica entre los grupos sociales a los que pertenecen.

Métodos

Extracción de ADN

Las muestras de sangre de adultos y pichones, colectadas siguiendo los procedimientos descriptos en el Capítulo 2, fueron sometidas a un protocolo de extracción de ADN por isopropanol-NaCl modificado del procedimiento estándar etanol-NaCl (Miller et al. 1988). Para verificar la presencia de ADN en el extracto se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 2% y tinción de Gelred (Biotium 2013) revelado con radiación UV (Figura 3.2). El muestreo incluyó además 28 individuos que fueron anillados con anterioridad a la temporada 2015-2016 y fueron observados atendiendo nidos durante el presente estudio. En los casos en que estos individuos no pudieron ser recapturados, se obtuvo ADN de muestras de sangre existentes (Ursino et al. 2017). Dada la baja cantidad y calidad de ADN disponible en estas 28 muestras, el material genético fue extraído mediante el kit Qiagen DNeasy para sangre y tejidos.

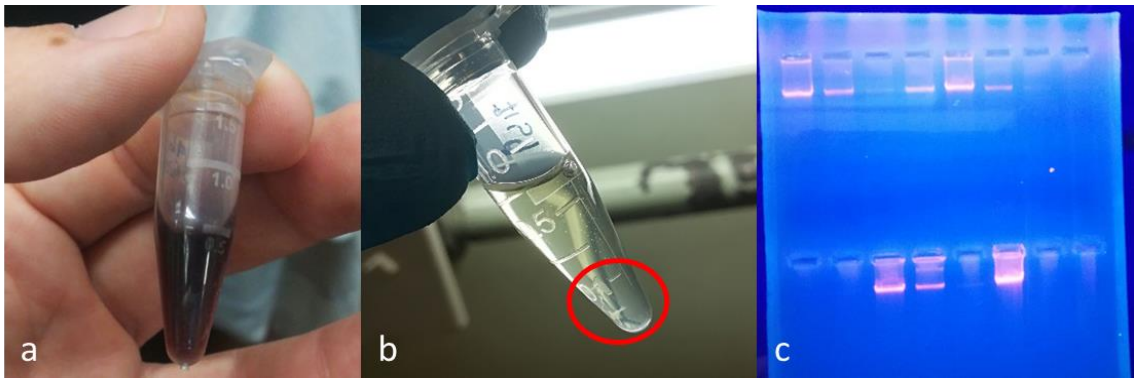

Figura 3.2: Muestra de sangre en buffer de lisis (a) sometida al proceso de extracción de ADN (b, precipitado en círculo rojo). El ADN extraído fue sembrado en un gel de agarosa, y la corrida revelada por UV (c, calles 1-6 superior, 3-4 y 6 inferior muestran extracciones de ADN exitosas).

Determinación del sexo por métodos moleculares

La determinación del sexo de los adultos se realizó mediante la amplificación del gen CHD (*Chromo Helicase DNA Binding*) mediante los primers 2550F y 2718R (Fridolfsson y Ellegren 1999, Lee et al. 2010). Este gen se encuentra en los cromosomas sexuales y difiere en el largo de sus intrones dependiendo de si se encuentra en el cromosoma Z o W, lo que permite diferenciar machos y hembras (ZZ y ZW respectivamente, Figura 3.3) (Griffiths et al. 1998, Fridolfsson y Ellegren 1999, Ursino et al. 2017). Las amplificaciones fueron llevadas a cabo en un volumen de 10 µl con 40 mM de $MgCl_2$, 2 mM de dNTPs, 2 µM de cebador 2718R, 2 µM de cebador 2550F, 0,25 U/µl de polimerasa Taq (Sigma), 10-50 ng de ADN templado, 1 µl de buffer para amplificación (Sigma) y completado con agua libre de nucleasas. La amplificación inició con 3 minutos de precalentado a 94°C. Continuó con 41 ciclos de 30 segundos de desnaturalización a 94°C, 30 segundos de alineamiento a 40,5°C y 40 segundos de extensión a 72°C. La elongación final duró 5 minutos a 72°C y los productos de la amplificación fueron revelados en gel de agarosa al 2% revelado con Bromuro de Etidio (0,16 mg por gel).

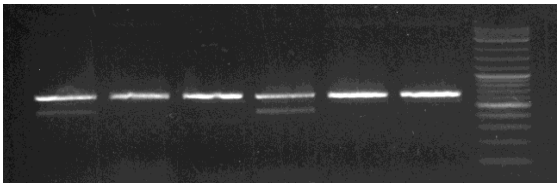

Figura 3.3 Foto del revelado de un gel con el producto de PCR del gen CDH presente en los cromosomas sexuales Z y W. Las calles 2, 3, 5 y 6 muestran una sola banda correspondiente a individuos machos (ZZ), mientras que las calles 1 y 4 donde se ve una doble banda corresponden a hembras (ZW). La calle 7 revela el patrón (*ladder*) utilizado, cuyo rango cubre de 100 a 1000 pb.

Protocolo ddRAD y secuenciado

El protocolo de ddRAD (*double digest restriction-site associated DNA*) y procesado informático para la obtención de SNPs siguió los lineamientos de Peterson et al. (2013) con las modificaciones de Thrasher et al. (2018). La concentración de ADN presente en los extractos fue determinada mediante fluorómetro y kit de ensayos Qubit dsDNA BR (ThermoFisher Scientific). Las muestras fueron reconcentradas o diluidas a 8-50 ng/µl, según correspondiera, utilizando 100-500 ng de ADN por muestra y agrupadas de a 20 a modo de que la concentración de ADN sea lo más similar posible (Thrasher et al. 2018). Posteriormente, fueron tratadas con las enzimas de restricción SbfI-HF (NEB, R3642L) y MspI (NEB, R0106). En primer instancia se incorporó un adaptador P1 diferente a cada muestra de los grupos previamente armados (20 *barcodes* diferentes) y a cada grupo se le asignó un índice (*Index*) diferente y un adaptador P2-MspI mediante una ligasa T4. El adaptador P1 se unió al extremo 5’ del sitio de corte y su barcode permitió su identificación en el procesado bioinformático y el adaptador P2 al extremo 3’ y permitió que sólo los fragmentos con doble sitio de corte sean amplificados posteriormente.

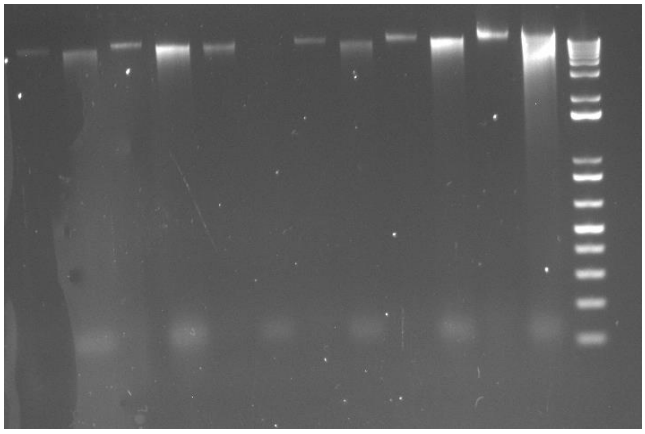

Figura 3.4: Resultado de la digestión del ADN con las enzimas de restricción durante el protocolo ddRAD. En las calles impares se observan las muestras no digeridas (bandas discretas) y en las pares, el resultado de la digestión (bandas chorreadas). La última calle de la derecha corresponde al tamaño de bandas, que cubre un rango de 100 a 1000 kpb.

Luego de la digestión (Figura 3.4) y ligado de adaptadores las muestras fueron agrupadas dentro de cada índice y se siguió un proceso de purificación mediante *Ampure-beads* de elaboración propia eliminando sobrantes de la digestión enzimática (Rohland y Reich 2012) y se determinó la concentración final mediante ensayos Qubit dsDNA BR (ThermoFisher Scientific). Las regiones con doble sitio de corte tienen un tamaño variable, por lo que fueron sometidas a un proceso de selección por tamaño mediante *Bluepippin* (Sage Science) para filtrar las que tuvieron entre 400 y 700 pb. Este procedimiento fue realizado en el Centro de Recursos Biotecnológicos (BRC) de la Universidad de Cornell y se estimó la concentración de ADN de cada índice mediante un ensayo de Qubit dsDNA BR (ThermoFisher Scientific). Los fragmentos del tamaño seleccionado correspondientes a cada grupo fueron amplificados con un cebador por índice (12 en total) a un volumen de 25 µl. Cada amplificación se realizó por triplicado incorporando 10 µl de ADN (~10 ng) de cada índice purificado, 12,5 µl de buffer Phusion Master Mix (Phusion High-Fidelity PCR Master Mix), 1,25 µl de cebador P1 y 1,25 µl de cebador Index (uno para cada *índice*). El programa de amplificación inició con un precalentado a 98ºC por 30 segundos. Continuó con 11

ciclos de desnaturalización a 98ºC por 5 segundos, alineamiento a 60ºC por 25 segundos y extensión a 72ºC por 10 segundos. La elongación final fue a 72ºC por 5 minutos. Finalizada la amplificación las tres réplicas fueron combinadas y se corroboró el éxito de la misma en un gel de agarosa (Figura 3.5). Luego se realizó una purificación final mediante *Ampure-beads* y se estimó la concentración de ADN mediante un ensayo de Qubit dsDNA BR (ThermoFisher Scientific). Finalmente 4 µl de cada índice purificado fueron enviados al BRC para estimar el tamaño promedio de los fragmentos y así según la concentración de cada índice llevar a 2 nM la cantidad total de ADN por índice. Estos fueron agrupados en un mismo tubo el cual se envió a un secuenciador Illumina HiSEQ 2500 (largo de corrida 100 pb).

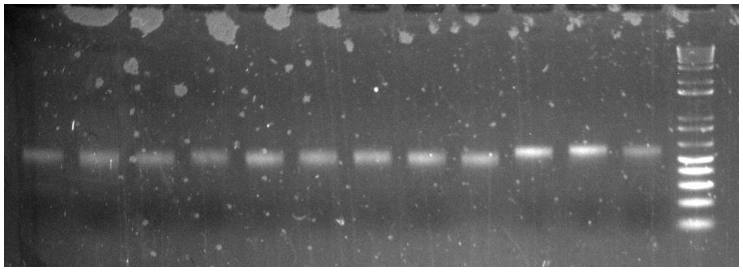

Figura 3.5: Amplificación de los fragmentos generados por acción de las enzimas de restricción de cada *barcode* (calles 1-12) luego de la selección por tamaño con *Bluepippin*. La calle 13 revela el patrón (*ladder*) utilizado (100 – 1000 pb).

Procesamiento bioinformático de las secuencias

Una vez obtenidas las lecturas de las secuencias, estas fueron sometidas a un proceso de filtrado de calidad usando el programa *FastQC* versión 0.11.5 (www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc) con los parámetros descriptos en Thrasher et al. (2018), y cortadas a 97 pb mediante el comando *FastQC-trimmer* (http://hannonlab.cshl.edu/fastx_toolkit/), con el fin de eliminar extremos 3' defectuosos (i.e. donde liga el adaptador). El proceso de filtrado continuó hasta descartar todas las lecturas que contuvieran al menos una base con un puntaje *Phred quality* menor a 10

y/o presentaran un valor de *Phred quality* menor a 20. El ensamblado de las secuencias ya filtradas se realizó mediante el programa Stacks 2.4 (Catchen et al. 2013). Mediante el módulo *process_radtags* se clasificaron las lecturas según sus *barcodes* (*demultiplexing*), generando archivos con secuencias que fueron asignadas a cada individuo. Al no contar con la secuencia completa del genoma del Músico o algún pariente cercano, el ensamble y alineado de secuencias se realizó mediante el módulo *denovo_map_pl*. Para ello ese ajustó un parámetro de profundidad *(m)* de 10, que implica que debe haber como mínimo 10 lecturas idénticas para considerar un alelo nuevo. Se consideraron hasta 4 inconsistencias por locus entre individuos heterocigotas (M) y 4 inconsistencias entre dos alelos de la población (n).

Generación de SNPs

Se secuenciaron con éxito 170 individuos (71 pichones y 99 adultos) obteniendo lecturas entre 24,94x a 70,86x y se ejecutó el módulo *populations* del procedimiento Stacks, mediante el cual las secuencias fueron filtradas y se eliminaron sitios nucleotídicos no informativos. Se ajustó el comando *–r* a 0,80 para seleccionar los loci presentes en al menos el 80% de los individuos secuenciados. Para evitar incluír SNPs que se encuentren en desequilibrio de ligamiento se conservó uno solo por locus (el primero en ser secuenciado diferenciado) mediante el comando *–write_single_snp.* La relación de frecuencias alélicas fue ajustada usando el comando *min_maf*. Con él se generaron dos subconjuntos de datos con una frecuencia alélica mínima de 0,05 y 0,1 restringiendo el número de heterocigotas que pudieran secuenciarse por error. Por último, los genotipos fueron exportados en formato *.vcf* (Variant Call Format) y *.genepop*, los reconocidos por los programas para análisis de parentesco posteriormente utilizados. El primer subconjunto (frecuencia alélica mínima = 0,05) generó 523 SNPs informativos con una heterocigosidad esperada media general de 0,27 y un contenido de información polimórfico medio (*Polymorphic Information Content* o *PIC*) de 0,22. El segundo subconjunto (frecuencia alélica mínima

= 0,1) generó 356 SNPs con una heterocigocidad esperada media de 0,35 y un *PIC* medio de 0,28.

Determinación de patrones de parentesco

A partir de los genotipos de los individuos de cada grupo social se estimaron las relaciones de parentesco calculando el coeficiente IBD (*Identy by descent*). Este coeficiente es una medida continua de la similitud genética relativa entre dos individuos respecto a dos individuos tomados al azar de una población de referencia que expresa la proporción de alelos idénticos compartidos en promedio por descendencia directa. Los genotipos también fueron utilizados para asignar la paternidad de la pareja social y de los ayudantes a los pichones de la nidada, estimando el parentesco entre los padres putativos y pichones por un lado, y entre pichones de una misma nidada por otro. Para ello se analizaron los genotipos en formato *.vcf* mediante la función *snpgdsIBDMLE* del paquete *SNPRelate* (Zheng 2013) mediante software estadístico R 3.6.1 (R Core Team 2017). El coeficiente IBD (*Identity by descent*) construido es proporcional al coeficiente de parentesco r (Queller and Goodnight 1989, Zheng 2013, Doren et al. 2019). Para descartar loci en desequilibrio se filtraron medante el comando *maf* ajustando la frecuencia alélica mínima a 0,2. Para evitar estimar parentescos irrelevantes al incroporar por error pichones parásitos las secuencias fueron procesadas con un análisis de componentes principales mediante el comando *snpgdsPCA* (Zheng 2013). Los parentescos estimados fueron puestos a prueba utilizando el cociente de verosimilitudes mediante el comando *snpgdsIBDMLELogLik* (Zheng 2013). Las mismas comparaciones fueron realizadas mediante el programa ML-RELATE (Kalinowski et al. 2006) sobre los genotipos en formato *.genepop* mediante el método de máxima verosimilitud, el cual clasifica todas las comparaciones realizadas en las categorías “parental-hijo”, “hermanos completos”, “medio hermanos” (parientes de segundo grado) y “sin parentesco”. La presencia de muchos loci con bajo polimorfismo redujo la resolución de esta última prueba y en

pocos casos se pudo diferenciar entre las categorías “hermanos completos” y “parental-hijo”.

Estructuración genética a fina escala

Para estudiar la existencia de estructuración genética a fina escala y los patrones sexuales de dispersión, se realizó un análisis de autocorrelación espacial (Smouse y Peakall 1999). Mediante la función *ecomalecot* del paquete *EcoGenetics* (Roser et al. 2017) se analizó el patrón espacial de los genotipos obtenidos (previa transformación de formato *genepop* a *ecogen* mediante el comando *genpop2ecogen*), correlacionando la distancia genética (estimada en la sección anterior) y la distancia geográfica (coordenadas UTM) entre los adultos muestreados, separando el análisis por sexo. Los patrones de parentesco fueron analizados en categorías crecientes de distancias que contengan al menos dos individuos para comparar corrigiendo las múltiples comparaciones por Bonferronni secuencial (Holm 1979). Para visualizar los correlogramas se usó el comando *eco.plotCorrelog* con el cual se construyó generando categorías de distancia crecientes en las que existen al menos dos puntos que comparar. Se analizó el patrón de la campaña 2017-2018, donde más ayudantes fueron capturados y mayor distancia entre los grupos sociales genotipificados.

Resultados

Muestra general y sexo de los ayudantes

Se trabajó con 27 nidadas de las cuales 14 reclutaron ayudantes. En la mayoría de los casos sólo fue un ayudante salvo un nido donde se capturaron dos y otros dos nidos donde se capturaron 3 ayudantes. Se logró determinar el sexo de 21 ayudantes, de los cuales 19 (90%) fueron machos. Las muestras correspondientes a los individuos asignados como hembras reproductivas en base a la presencia de parche

de incubación dieron como resultado dos bandas en la amplificación del gen CHD, lo que permitió validar las determinaciones a campo.

Relaciones de parentesco dentro de la nidada

Se pudo estimar el grado de parentesco entre los pichones en 28 nidadas, de las cuales 18 tuvieron 3-4 pichones y 9 tuvieron 1-2 pichones (Tabla Anexo 3.1). Considerando los nidos con 3-4 pichones, en 13 estos fueron hermanos completos entre sí e hijos de ambos padres sociales, indicando monogamia genética de la pareja reproductora. En 2 nidos hubo 1 pichón clasificado como medio hermano del resto de la nidada. Presentaron un parentesco de primer grado (IBD > 0,38) con la hembra social pero no presentaron parentesco con el macho reproductor, por lo que fueron clasificados como eventos de paternidad por fuera de la pareja (*PFP*). (Tabla Anexo 3.1). El tercer nido es un caso dudoso porque el análisis asignó un pichón como medio-hermano pero, al mismo tiempo, indicó un parentesco de primer orden entre los pichones y la pareja reproductiva (Nido N35_2015, Anexo Tabla 3.1). Por último, hubo un nido donde uno de los pichones no estuvo emparentado con la pareja reproductiva o con los demás pichones de la nidada y fue clasificado como un caso de parasitismo intraespecífico (Tabla Anexo 3.1).

Si se consideran todas las nidadas, incluyendo las que tuvieron 1-2 pichones, 18 nidos tuvieron hermanos completos, 5 tuvieron al menos 1 pichón producto de PFP (i.e. parentesco con la hembra reproductora pero no con el macho social) y 3 tuvieron parasitismo intraespecífico (i.e. pichones no emparentados con la pareja reproductiva). Entre estos últimos, hubo un nido donde sólo nacieron 2 pichones, de los cuales uno fue clasificado como un caso de parasitismo intraespecífico, y el otro como cuasi-parasitismo (i.e. parentesco con el macho reproductor pero no con la hembra social, Anexo Tabla 3.1). Se registró también un caso donde no se logró capturar a la

hembra, sólo nació un Músico y éste no presentó parentesco con macho reproductor ni ayudante.

Relaciones de parentesco entre ayudantes y pareja reproductiva

El parentesco entre los adultos del grupo social se analizó usando 14 nidos en los cuales se pudo genotipificar a los ayudantes y a la pareja reproductiva (n = 12), a todos los adultos menos a la hembra reproductora (n = 2) o a la hembra reproductora y a la ayudante hembra. En estos nidos hubo un total de 16 ayudantes (14 machos y 2 hembras). Una de las ayudantes hembra asistió en dos nidos distintos y hubo tres nidos que contaron con 2 ayudantes. En 10 nidos con un total de 11 ayudantes macho se determinó que estos estuvieron emparentados con al menos un miembro de la pareja reproductiva (Figura 3.6; Anexo Tabla 2). En 3 de esos 10 nidos (dos con dos ayudantes y uno con uno) los ayudantes fueron asignados como hijos de la pareja reproductiva ya que presentaron parentesco de primer orden con ambos (no se registró parentesco entre miembros de la pareja), mientras que en los otros 7 (cada uno con un ayudante), los ayudantes mostraron parentesco de primer o segundo grado sólo con el macho reproductor. En ningún caso se observó que un ayudante estuviera emparentado sólo con la hembra reproductora. Los dos ayudantes machos restantes no presentaron parentesco con ninguno de los miembros de la pareja reproductiva, al igual que las dos ayudantes hembras.

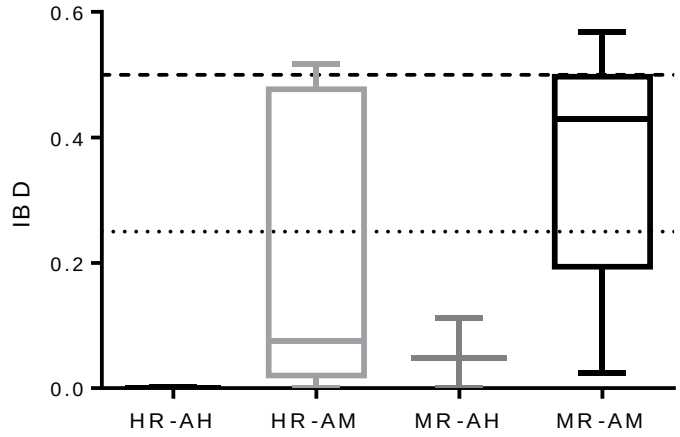

Figura 3.6: Coeficientes de parentesco (IBD) estimados entre los ayudantes de cada sexo (AM = ayudante macho, *n* = 19, AH = ayudante hembra, *n* = 2) y los miembros de la pareja a la que asistieron (HR = hembra reproductora, MR = macho reproductor). Las líneas punteadas corresponden a los valores estimados para parientes de primer orden (r = 0,5) y segundo orden (r = 0,25). El gráfico incluye las comparaciones AM vs HR para los ayudantes cuya condición fue resuelta al estimar parentesco con los pichones. Aquí (y en los gráficos de cajas subsiguientes de la tesis, GraphPad Prism versión 6.00) la línea horizontal de las cajas corresponde a la mediana, las cajas el rango intercuartílico y los *whiskers* los valores extremos.

Parentesco entre ayudantes y pichones

El parentesco entre los ayudantes y las nidadas a las que asistieron se analizó usando 14 nidos donde se pudo genotipificar tanto a los ayudantes, al menos un parental y pichones (Figura 3.7). En 5 nidos se estimó un parentesco de segundo grado (IBD ≈ 0,25), equivalente a una relación de medio-hermanos, en 2 nidos se estimó un parentesco de primer grado (IBD ≈ 0,5), equivalente a hermanos completos (ML-Relate asignó a la pareja reproductiva como parentales), y en los 7 nidos restantes no se detectó parentesco entre los pichones de la nidada y los ayudantes (en uno de esos casos el ayudante presentó parentesco de segundo grado con el macho reproductor). Cabe señalar el caso de un ayudante que no estuvo emparentado con la pareja reproductora ni con los pichones del nido, pero presentó parentesco de primer grado (IBD ≈ 0,5) con un pichón nacido en otro nido que estuvo activo más tempranamente en esa temporada reproductiva. En los nidos que tuvieron paternidad

por fuera de la pareja y ayudantes (n = 5), estos no fueron los padres genéticos de las crías extra-pareja ya que no se registró parentesco entre ellos. Por otro lado, realizó la misma comparación para 5 nidos en los que no se tenía certeza de haber capturado al macho social o al ayudante. En dos casos no se registró parentesco con los pichones (ni con la hembra reproductora), determinando al individuo como ayudante no emparentado, mientras que en los otros 3 se estimó un parentesco de segundo grado con los pichones (nulo con la hembra), indicando parentesco de primer orden con el macho reproductor. Esta información fue incluida en las figuras 3.6 y 3.7.

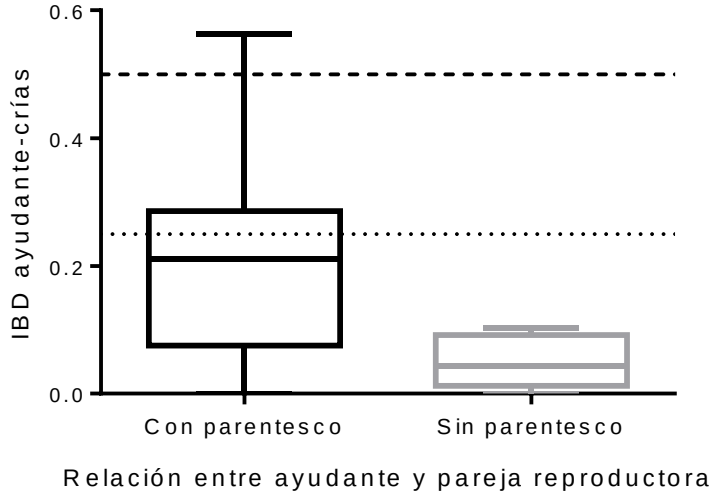

Figura 3.7: Coeficiente de parentesco (IBD) estimado entre los ayudantes y los pichones de los nidos asistidos, según la relación entre los primeros y la pareja reproductora (emparentados: n = 10 nidos, no emparentados: n = 8 nidos). Las líneas punteadas corresponden a los valores estimados para parientes de primer y segundo orden. En el gráfico se incluyen también los 5 ayudantes cuya relación con la pareja reproductora fue estimada de manera indirecta.

Autocorrelación espacial

Dado que se separaron los datos por sexo y temporada los correlogramas admitieron entre 8 y 10 clases de distancia. No se encontraron evidencias de estructuración genética a fina escala en la población. El análisis de las distancias genéticas y geográficas no mostró un patrón claro para ninguno de los sexos y las

estimaciones no se separan de manera significativa de lo esperado por azar (Figura 3.8).

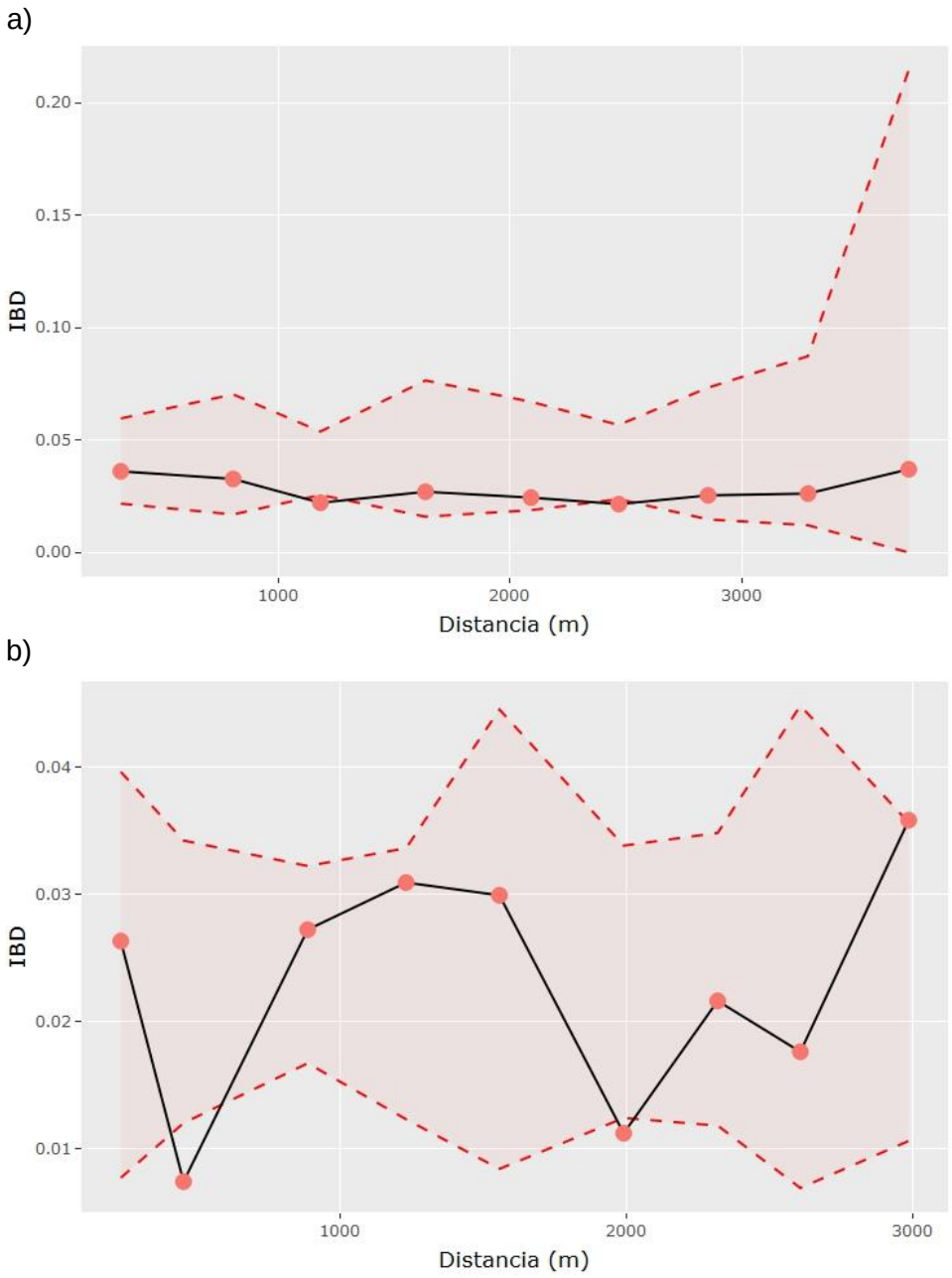

Figura 3.8: Correlogramas para machos (a, n=27) y hembras (b, n=14) adultos en la temporada 2017-2018. El eje *x* indica el radio del círculo analizado mientras que el eje *y* representa el promedio de parentesco estimado para cada categoría de distancia y el sombreado rojo corresponde a la banda de error correspondiente para cada intervalo de distancia.

Discusión

Los resultados de este Capítulo corroboran algunas observaciones previas y aportan nueva información acerca de la organización social de los Músicos. Los análisis mostraron que los ayudantes son mayoritariamente machos, en coincidencia con reportes previos (Fraga 1991, Ursino et al. 2017). Esto era esperable teniendo en cuenta que, en la mayoría de los sistemas de cría cooperativa estudiados, el sexo de los ayudantes está sesgado hacia los machos (Dickinson et al. 1996, Brussaard et al. 1997, Cockburn 1998, Russell and Hatchwell 2001). También en línea con estudios previos, se encontró que los machos que ayudan en el nido suelen estar emparentados con los individuos a los que asisten (Fraga 1991, Ursino et al. 2017). Sin embargo, a diferencia de lo observado por Ursino et al. (2017), en esta tesis se encontró que los ayudantes fueron tanto hijos de temporadas anteriores de la pareja reproductora como parientes en primer grado (posiblemente hijos) sólo del macho reproductor. Este patrón podría generarse a partir de la filopatría natal de los juveniles machos, que permanecen en el grupo social ante un eventual recambio de la hembra reproductora (Dickinson 1996, Hatchwell et al. 2000, Cockburn 2003, Ridley 2016), o también podría surgir si los potenciales ayudantes macho se reclutan preferencialmente en nidos de otros machos emparentados a posteriori de dispersar (Hatchwell et al. 2001, Baglione et al. 2003).

El análisis del parentesco entre los adultos y las crías mostró también que los ayudantes no obtienen paternidad/maternidad dentro del grupo al que asisten. Pese a que la paternidad por fuera de la pareja no fue infrecuente en este estudio (~30% de los nidos tuvieron al menos un pichón extra-pareja), sólo uno de los pichones extra-pareja fue hijo de un ayudante capturado casi dos meses después y a unos 700 m del sitio donde nació ese pichón. Estos resultados indican que la reproducción en los nidos de Músico está fuertemente sesgada hacia la pareja reproductora y que la

obtención de beneficios genéticos directos no cumpliría un papel importante en favorecer la cría cooperativa. Por el contrario, este escenario es consistente con la hipótesis de que la cría cooperativa en el Músico está modelada principalmente por la selección por parentesco. Sin embargo, no es posible descartar que los ayudantes estén obteniendo otros beneficios directos no reproductivos, tales como beneficios derivados de la vida en grupo o del acceso a recursos dentro del territorio (Woolfenden y Fitzpatrick 1984, Stacey y Ligon 1991, Koenig et al. 1992). Distinguir entre estas alternativas no es sencillo, pero resulta necesario para dar respuesta a la pregunta de por qué ayudan los ayudantes. Sería muy útil en el futuro realizar estudios que permitan cuantificar la ganancia en *fitness* inclusivo de los ayudantes y evaluar si la ayuda *en sí* permite obtener beneficios directos (no reproductivos), por ejemplo comparando la supervivencia de ayudantes que muestran distintos niveles de contribución, controlando por el tamaño de grupo y calidad del territorio (Dickinson y Hatchwell 2004, Cockburn et al. 2016)

La obtención de beneficios directos no genéticos permitiría explicar también la presencia ocasional en los nidos de Músico de ayudantes no emparentados con la pareja reproductora (3 de 14 ayudantes machos y 2 de 2 hembras en este estudio). Además de los mencionados más arriba, los individuos no emparentados podrían estar obteniendo experiencia para su propia reproducción (Skutch 1961) o mejorando sus perspectivas de acceder a un territorio o pareja reproductiva en el futuro (Woolfenden y Fitzpatrick 1984, Piper y Slater 1993, Ribeiro et al. 2012). Alternativamente, la ayuda en el nido podría ser un “pago de renta” que estos individuos deben afrontar para ser tolerados en el territorio (Mulder y Langmore 1993). La idea que subyace a esta hipótesis es que la ayuda entre individuos no emparentados puede ser el “menos malo de los escenarios” si intentar dispersar y reproducirse de manera independiente resulta demasiado costoso en términos de supervivencia. Otra posibilidad que sugieren los resultados es que los ayudantes machos no emparentados sean en realidad hijos

sociales pero no genéticos de la pareja reproductiva a la que asisten. El hecho de que exista ocasional parasitismo intraespecífico o cuasi-parasitismo en los nidos de Músico (Ursino et al. 2017, este Capítulo) puede conducir a una situación en la que juveniles macho extra-pareja permanecen en el territorio natal asistiendo a individuos que son parientes sociales pero no genéticos. Sería interesante poder contar con una mayor proporción de individuos marcados en la población y seguir a los grupos familiares durante más de una temporada reproductiva para evaluar esta idea.

Un interrogante particular que queda sin resolver es el rol que juegan las ayudantes hembras en la organización social. En sistemas donde existen hembras "subordinadas", estas suelen copular con el macho dominante en un ambiente de cuasi-parasitismo o de nidada comunal (Richardson et al. 2002, Riehl 2017). Las dos hembras ayudantes capturadas no mostraron maternidad dentro del nido asistido, pero no puede descartarse que obtengan algún tipo de beneficio genético directo de su ayuda si se tiene en cuenta que hay registros ocasionales de cuasi-parasitismo y parasitismo intra-específico en los nidos de Músico (Ursino et al. 2017, esta tesis). Estos resultados hacen necesario indagar aún más en el comportamiento de estas hembras para entender por qué permanecen como ayudantes en lugar de reproducirse de manera independiente, cuánto contribuyen al cuidado parental y qué beneficios obtienen (Richardson et al. 2001, Riehl 2013, Koenig et al 2016).

Contrariamente a lo esperado, el análisis de auto-correlación espacial no mostró estructuración genética a fina escala para ninguno de los sexos. Esto puede deberse tanto a cuestiones biológicas como metodológicas. Por un lado, los individuos capturados y anillados en este trabajo rara vez fueron re-avistados en los mismos territorios en años consecutivos. Esta territorialidad "flexible" que sugiere la observación a campo dificulta la estimación de distancias de dispersión y podría estar inhibiendo la formación de patrones. Incluso si la dispersión natal está sesgada a uno

de los sexos, es posible que no se puedan detectar patrones claros si los individuos se desplazan más allá de una cierta distancia luego de dejar el nido (Nelson-Flower y Ridley 2015, Riehl 2017). Los datos presentados aquí contrastan con estudios anteriores que han reportado la dispersión de juveniles de Músico a corta distancia del territorio natal y una gran fidelidad al sitio de nidificación (Fraga 1988, 1991). La discrepancia podría deberse a diferencias entre los sitios de estudio en las características del ambiente y la disponibilidad de sitios de nidificación, que pueden condicionar la organización social a través de la incidencia en los costos de la dispersión natal. A nivel metodológico, el análisis fue realizado con pocos puntos por año, lo que limita las categorías de distancia que pueden ser utilizadas. La menor categoría generada por el análisis fue de 0-400 m, lo cual excede largamente la distancia de dispersión reportada previamente para el Músico, de alrededor de 100 m (Fraga 1991). Otra consecuencia del reducido tamaño muestral es que la potencia del análisis haya sido insuficiente para detectar la estructura genética subyacente y diferencias sexuales en la distancia de dispersión. Algunas observaciones a campo sugieren que este podría ser el caso. Por ejemplo, en cuatro casos donde fue posible registrar la transición a reproductor en un ayudante macho, la distancia que separó el nido asistido del nido propio fue de unos 250 m, mientras que en dos casos de hembras juveniles que fueron observadas en su primer evento reproductivo, la distancia entre el nido propio y aquel donde nacieron fue de 400 y 700 m. Aunque anecdóticas, estas observaciones son consistentes con un patrón de dispersión natal sesgado al sexo femenino. Incrementar el tamaño muestral para realizar análisis más robustos permitirá determinar si hay una estructuración genética a fina escala (i.e. “vecindario de parientes”) y diferencias sexuales en la dispersión, y cómo estas inciden en la organización social de los Músicos. En particular sería importante establecer si la ayuda en grupos familiares surge pasivamente como resultado de una población viscosa o si los potenciales ayudantes eligen activamente asistir a sus familiares

directos (Covas and Griesser 2007, Hatchwell 2010). Esta última opción requiere la existencia de un sistema de reconocimiento del parentesco social en base a señales visuales o acústicas, algo que aún no ha sido investigado en esta especie.

Referencias bibliográficas

Aguillon S. M., Fitzpatrick J.W., Bowman R., Schoech S.J., Clark A.G., Coop, G. y Chen N. (2017).Deconstructing isolation-by-distance: The genomic consequences of limited dispersal. *PLoS Genetics*, *13*(8), 1–27.

Baglione V., Canestrari D., Marcos J.M., y Ekman J. (2003). Kin selection in cooperative alliances of Carrion Crows. *Science*, *300*(5627), 1947–1949.

Berg E.C., Eadie J.M., Langen T.A., y Russell A.F. (2009). Reverse sex-biased philopatry in a cooperative bird: Genetic consequences and a social cause. *Molecular Ecology*, *18*(16), 3486–3499.

Biotium (2013). Safety report of GelRed and GelGreen. Nucleic acid detection technologies. http://www.biotium.com

Blackmore C.J., y Heinsohn R. (2008). Variable mating strategies and incest avoidance in cooperatively breeding Ggrey-crowned babblers. *Animal Behaviour*, *75*(1), 63–70.

Blackmore C.J., Peakall R. y Heinsohn R. (2011). The absence of sex-biased dispersal in the cooperatively breeding grey-crowned babbler. *Journal of Animal Ecology*, *80*(1), 69–78.

Brussaard L., Behan-Pelletier V.M., Bignell D.E., Brown V.K., Didden W., Folgarait P., Fragoso C, Freckman D.W., Gupta V., Hattori's T., Hawksworth D. L. Virginia, R.A. (1997). Biodiversity and ecosystem functioning in soil. *Ambio*, *26*(8), 563–570.

Clarke A.L., Sæther B.-E., Røskaft E., Saether B.E. y Roskaft, E. (1997). Sex Biases in Avian Dispersal: A Reappraisal. *Oikos*, *79*(3), 429.

Cockburn A. (2013). Cooperative breeding in birds: towards a richer conceptual framework. Sterelny K., Joyce R., Calcott B. y Fraser B. (Eds)*"Cooperation and its Evolution"* pp. 223–245. MIT Press: Cambridge, Massachusetts.

Cockburn A. (1998). Evolution of helping behavior in cooperatively breeding birds. *Annual Review of Ecology and Systematics*, *29*(1), 141–177.

Cockburn A. (2006). Prevalence of different modes of parental care in birds. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *273*(1592), 1375–1383.

Cockburn A., Brouwer L., Margraf, N. Osmond H.L. y Van de Pol, M. (2016). Superb fairy-wrens: Making the worst of a good job. Koenig W.D. y J.L. Dickinson (Eds.), "*Cooperative Breeding in Vertebrates"* pp: 133-149. Cambridge, UK: Cambridge University Press

Covas R. y Griesser M (2007). Life history and the evolution of family living in birds. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, Vol. 274, pp. 1349–1357.

Cramer, E. R. A., Hall, M. L., de Kort, S.R., Lovette, I.J. y Vehrencamp, S.L. (2011). Infrequent extra-pair paternity in the Banded Wren, a synchronously breeding tropical passerine. *The Condor*, *113*(3), 637–645.

Dias, R.I., Macedo, R.H., Goedert D., y Webster M.S. (2013). Cooperative breeding in the Campo Flicker II. *The Condor*, *115*(4), 855–862.

Dickinson J.L., Koenig W.D. y Pitelka F.A. (1996). Fitness consequences of helping behavior in the western bluebird. *Behavioral Ecology*, *7*(2), 168–177.

Dickinson J.L. y Hatchwell B. (2004). Fitness consequences of helping. In *Ecology and Evolution of Cooperative Breeding in Birds* (pp. 48–66).

Dickinson J.L., y Hatchwell B.. J. (2009). Fitness consequences of helping. In *Ecology and Evolution of Cooperative Breeding in Birds* (pp. 48–66).

Dobson F. S. (2013). The enduring question of sex-biased dispersal: Paul J. Greenwood's (1980) seminal contribution. *Animal Behaviour*, *85*(2), 299–304.

Doren B. M. Van, Hruska J. P., Dzielski S. A. y Butcher B. G. (2019). Helpers at a Sapayoa nest are kin. *Bulletin of the British Ornithologists' Club*, *139*(2), 94.

Double M. C. Peakall R. Beck N. R. y Cockburn A. (2005). Dispersal, Philopatry, and infidelity: dissecting local genetic structure in Superb Fairy-Wrens (*Malurus Cyaneus*). *Evolution*, *59*(3), 625–635.

Flanagan S.P. y Jones A.G. (2019). The future of parentage analysis: From microsatellites to SNPs and beyond. *Molecular Ecology*, *28*(3), 544–567.

Fraga R.M. (1988). Nest sites and breeding success of Baywinged Cowbirds (*Molothrus badius*). *Journal of Ornithology*, *129*(2), 175–183.

Fraga R.M. (1991). The social system of a communal breeder, the Bay-winged Cowbird *Molothrus badius*. *Ethology*, *89*(3), 195–210.

Fridolfsson A.K. y Ellegren H. (1999). A simple and universal method for molecular sexing of birds. *Journal of Avian Biology*, 116–121.

Green J.P. y Hatchwell B.J. (2018). Inclusive fitness consequences of dispersal decisions in a cooperatively breeding bird, the Long-tailed Tit (*Aegithalos caudatus*). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *115*(47), 12011–12016.

Greenwood P.J. (1980). Mating systems, philopatry and dispersal in birds and mammals. *Animal Behaviour*, *28*(4), 1140–1162.

Griffin A.S., y West S.A. (2002). Kin selection: fact and fiction. *Trends in Ecology y Evolution*, *17*(1), 15–21.

Griffiths R., Double M. C., Orr K. y Dawson R J.G. (1998). A DNA test to sex most birds. *Molecular Ecology*, *7*(8), 1071–1075.

Hamilton W.D. (1964). The genetical evolution of social behaviour II. *Journal of Theoretical Biology*, *7*(1), 17–52.

Hatchwell B., Ross D.J., Fowlie M.K. y McGowan, A. (2001). Kin discrimination in cooperatively breeding Long-tailed Tits. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *268*(1470), 885–890.

Hatchwell B. (2010, March). Cryptic kin selection: Kin structure in vertebrate populations and opportunities for kin-directed cooperation. *Ethology*, Vol. 116, pp. 203–216.

Hatchwell B.. (2016). Long-tailed tits: Ecological causes and fitness consequences of redirected helping. Koenig W.D. y J.L. Dickinson (Eds.), "*Cooperative Breeding in Vertebrates"* pp: 39–57. Cambridge, UK: Cambridge University Press.

Jones A.G., Small C.M., Paczolt K.A. y Ratterman N.L. (2010). A practical guide to methods of parentage analysis. *Molecular Ecology Resources*, *10*(1), 6–30.

Kaiser S. A., Martin T. E., Oteyza J. C., Danner J. E., Armstad C. E., y Fleischer R. C. (2019). Within-group relatedness and patterns of reproductive sharing and cooperation in the tropical Chestnut-crested Yuhina. *Animal Behaviour*, *158*, 89–99.

Kalinowski S.T., Taper M.L. y Marshall T.C. (2007). Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Molecular ecology*, *16*(5), 1099-1106.

Kalinowski S. T., Wagner A. P. y Taper M. L. (2006). ML-RELATE: A computer program for maximum likelihood estimation of relatedness and relationship. *Molecular Ecology Notes*, *6*(2), 576–579.

Koenig W.D., Pitelka F. A., Carmen W. J., Mumme R. L. y Stanback, M. T. (1992). The evolution of delayed dispersal in cooperative breeders. *Quarterly Review of Biology*, *67*(2), 111–150.

Koenig W.D, Dickinson J. L. y Emlen, S. T. (2016). Synthesis: Cooperative breeding in the twenty-first century. Walter D. Koenig y J. L. Dickinson (Eds.), *Cooperative Breeding in Vertebrates"* pp. 353–374. Cambridge, UK: Cambridge University Press

Komdeur J. (1994). Experimental evidence for helping and hindering by previous offspring in the cooperative-breeding Seychelles warbler *Acrocephalus sechellensis*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, *34*(3).

Lee J.C.I., Tsai L.C., Hwa P.Y., Chan C. L., Huang A., Chin S.C., Wang L., Lin J, Linacre A, Hsieh H.M. (2010). A novel strategy for avian species and gender identification using the CHD gene. *Molecular and Cellular Probes*.

Miller S.A., Dykes D.D. y Polesky H.F. (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*, *16*(3), 1215.

Mulder R.A. y Langmore N.E. (1993). Dominant males punish helpers for temporary defection in superb fairy-wrens. *Animal Behaviour*, *45*(4), 830–833.

Nam K.B., Simeoni M., Sharp S.. y Hatchwell B. (2010). Kinship affects investment by helpers in a cooperatively breeding bird. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *277*(1698), 3299–3306.

Nelson-Flower M.J. y Ridley A.R. (2015). Male-male competition is not costly to dominant males in a cooperatively breeding bird. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, *69*(12), 1997–2004.

Piper W.H. y Slater G. (1993). Polyandry and incest avoidance in the cooperative stripe-backed wren of Venezuela. *Behaviour*, *124*(3–4), 227–247.

Peterson B.K., Weber J.N., Kay E.H., Fisher H.S. y Hoekstra,H.E. (2012). Double digest RADseq: an inexpensive method for de novo SNP discovery and genotyping in model and non-model species. *PloS one, 7(5).*

Queller D.C. y Goodnight K.F. (1989). Estimating Relatedness Using Genetic Markers. *Evolution*, *43*(2), 258.

R Core Team. (2017). R: A language and environment for statistical computing (Version 3.4. 2). *Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing*.

Ribeiro A.M., Lloyd P. Feldheim K.A. y Bowie R.C.K. (2012). Microgeographic socio-genetic structure of an African cooperative breeding passerine revealed: Integrating behavioural and genetic data. *Molecular Ecology*, *21*(3), 662–672.

Richardson D.S., Burke T. y Komdeur J. (2002). Direct benefits and the evolution of female-biased cooperative breeding in Seychelles warblers. *Evolution*, *56*(11), 2313–2321.

Riehl C. (2011). Living with strangers: direct benefits favour non-kin cooperation in a communally nesting bird. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *278*(1712), 1728–1735.

Riehl C. (2013). Evolutionary routes to non-kin cooperative breeding in birds. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *280*(1772), 20132245.

Riehl C. (2017). Kinship and incest avoidance drive patterns of reproductive skew in cooperatively breeding birds. *American Naturalist*, *190*(6), 774–785.

Rodrigues M. y Carrara L.A. (2004). Co-operative breeding in the Rufous-fronted Thornbird *Phacellodomus rufifrons*: A Neotropical ovenbird. *Ibis*, *146*(2), 351–354.

Rohland N. y Reich D. (2012). Cost-effective, high-throughput DNA sequencing libraries for multiplexed target capture. *Genome Research*, *22*(5), 939–946.

Roser L.G., Ferreyra L.I., Saidman B.O. y Vilardi J.C. (2017). EcoGenetics: An R package for the management and exploratory analysis of spatial data in landscape genetics. *Molecular Ecology Resources*, *17*(6), e241–e250.

Russell A.F. y Hatchwell B. (2001). Experimental evidence for kin-biased helping in a cooperatively breeding vertebrate. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, *268*(1481), 2169–2174.

Selander R.K. (1964). Speciation in wrens of the genus *Campylorhynchus*. *Univ. Calif. Pub. Zool.*, *74*, 1–305.

Sharp S.P., McGowan A., Wood M.J. y Hatchwell B. (2005). Learned kin recognition cues in a social bird. *Nature*, *434*(7037), 1127–1130.

Shen S.F., Yuan H.W. y Liu M. (2016). Taiwan Yuhinas: Unrelated joint-nesters cooperate in unfavorable environments. Dickinson J.L. y Koenig W.D (Eds.), "*Cooperative Breeding in Vertebrates"* pp: 237-256 Cambridge, UK: Cambridge University Press.

Skutch A.F. (1961). Helpers among birds. *The Condor*, *63*(3), 198–226.

Smouse P.E. y Peakall R. (1999). Spatial autocorrelation analysis of individual multiallele and multilocus genetic structure. *Heredity*, *82*(5), 561–573.

Stacey P.B. y Ligon J.D. (1991). The benefits-of-philopatry hypothesis for the evolution of cooperative breeding: variation in territory quality and group size effects. *American Naturalist*, *137*(6), 831–846.

Thrasher D.J., Butcher B.G., Campagna L., Webster M.S. y Lovette I.J. (2018). Double-digest RAD sequencing outperforms microsatellite loci at assigning paternity and estimating relatedness: A proof of concept in a highly promiscuous bird. *Molecular Ecology Resources*, *18*(5), 953–965.

Ursino C.A., De Mársico M.C., Reboreda J.C. y Riehl C. (2017). Kinship and genetic mating system of the Grayish Baywing (*Agelaioides badius*), a cooperatively breeding Neotropical blackbird . *The Auk*, *134*(2), 410–420.

Vekemans X., y Hardy O.J. (2004). New insights from fine-scale spatial genetic structure analyses in plant populations. *Molecular Ecology*, *13*(4), 921–935.

Weinman L.R., Solomon J.W. y Rubenstein D.R. (2015). A comparison of single nucleotide polymorphism and microsatellite markers for analysis of parentage and kinship in a cooperatively breeding bird. *Molecular Ecology Resources*, *15*(3), 502–511.

Woolfenden G.E. y Fitzpatrick J.W. (1984). *The Florida scrub jay: demography of a cooperative-breeding bird* (Vol. 20). Princeton University Press.

Woxvold I.A., Adcock G.J. y Mulder R.A. (2006). Fine-scale genetic structure and dispersal in cooperatively breeding apostlebirds. *Molecular Ecology*, *15*(11), 3139–3146.

Zheng X. (2013). *A Tutorial for the R Package SNPRelate*. 1–26. *Universidad de Washington (Estados Unidos).*

Anexos

Tabla Anexo 3.1: Relaciones de parentesco intra-nidada estimadas a partir de *SNPRelate* y *ML-Relate* (M genética = Monogamia genética, HC = hermanos completos, MH = medio hermanos, SP= sin parentesco, CP = cuasi parasitismo, PIE = parasitismo intraespecífico, PFP= paternidad fuera de la pareja).

Nido	PFP	Relación	Clasificación	Tamaño nidada	Parentales
N28_2015	0	-	M genética	1	Ambos
N6_2016	0	HC	M genética	1	Ambos
N1_2017	1	SP	PFP al menos	1	Macho rep
N2_2016	1	HC	PFP	2	Ambos
M42_2016	0	HC	M genética	2	Ambos
N20_2015	2	SP	1 CP 1 PIE	2	Ambos
N59_2017	0	HC	M genética	2	Ninguno
N5_2017	1	MH	PFP	2	Ninguno
N3_2016	1	SP	PIE	2	Ambos
N24_2015	0	HC	M genética	3	Ambos
M35_2016	1	HC	PFP *	3	Hembra rep
M42_2015	0	HC	M genética	3	Ambos
N11_2016	0	HC	M genética	3	Ambos
N15_2016	0	HC	M genética	3	Ambos
N23_2015	0	HC	M genética	3	Ambos
N26_2017	1	1MH	PFP	3	Macho rep
N30_2016	0	HC	M genética	3	Hembra rep
N40_2015	1	1MH	PFP	3	Ninguno
N49_2016	1	1SP	1 PIE	3	Hembra rep
N52_2017	1	1MH	PFP	3	Hembra rep
N53_2017	0	HC	M genética	3	Hembra rep
N64_2017	0	HC	M genética	3	Hembra rep
N8_2015	0	HC	M genética	3	Hembra rep
N46_2015	0	HC	M genética	4	Hembra rep
N33_2015	0	HC	M genética	4	Ninguno
N35_2015	1	1MH	M genética	4	Ambos
N35_2016	0	HC	M genética	4	Hembra rep
N35_2017	0	HC	M genética	2	Ambos

*Los machos adultos fueron muestreados pero no presentaron parentesco con los pichones

Tabla Anexo 3.2: Relaciones de parentesco estimado a partir de *SNPRelate* y *ML-Relate* (SP= sin parentesco, MH = medio hermano, HC = hermano completo, PC = parental-cría) entre ayudantes (H) y miembros de la pareja reproductiva (MR=macho reproductor, HR= hembra reproductora) genotipificados.

Nido	Comparación	IBD	LogLik	ML-Relate
M35_2016	H_HR	0,025	1	SP
M35_2016	H_MR	0,056	1	SP
N15_2016	H_HR	0,495	0,794	PC
N24_2015	H_MR	0,569	0,231	HC
N24_2015	H_HR	0,007	1	SP
N26_2017	H_MR	0,429	0,048	HC
N28_2015	H_MR	0,444	0,12	HC
N28_2015	H_HR	0,514	1	PC
N28_2015	H_MR	0,470	0,707	PH
N28_2015	H_HR	0,518	0,02	HC
N35_2015	H_MR	0,386	0,238	MH
N35_2015	H_HR	0	0,956	SP
N35_2016	H_HR	0	1	SP
N35_2017	H_MR	0,473	0,012	HC
N35_2017	H_HR	0,055	0,786	SP
N43_2017	H_HR	0,065	0,042	SP
N43_2017	H_MR	0,497	0,149	HC
N44_2017	H_HR	0,438	0,069	HC
N44_2017	H_HR	0,392	0,089	HC
N44_2017	H_MR	0,420	0,043	HC
N44_2017	H_HR	0,471	0,003	HC
N44_2017	H_MR	0,511	0,030	HC
N44_2017	H_HR	0,416	0,209	HC
N49_2016	H_HR	0	0,388	SP
N52_2017	H_HR	0,085	0,095	SP
N64_2017	H_HR	0,045	0,458	SP
N4_2016	H_MR	≈0,5*	-	HC /PC*
N4_2016	H_HR	≈0,5*	-	HC /PC*
N14_2015	H_MR	0,194	0,247	MH
N14_2015	H_HR	0,042	1	SP
N1_2017	H_MR	0,116		SP
N2_2016	H_MR	0	0,628	SP
N2_2016	H_HR	0	0,987	SP
N3_2016	H_MR	0,118	0,864	SP
N3_201	H_HR	0	1	SP
N46_2015	H_HR	0	0,675	SP
N46_2015	H_HR	0,06	0,429	SP

*Parentesco estimado por pedigrí. Incluye las comparaciones de los ayudantes determinados luego de la estimación de parentesco con pichones.

Tabla Anexo 3.3: Relaciones de parentesco estimado a partir de *SNPRelate* y *ML-Relate* (SP= sin parentesco, MH = medio hermano, HC = hermano completo) entre ayudantes y los respectivos pichones asistidos genotipados con éxito. Los * indican estimaciones generadas a partir de familiares cercanos.

Nido	Ayudante	Pichón	IBD		ML-Relate
N35_2015	2317	7146	0,332	0,127	MH
N35_2015	2317	7147	0,068	0,335	SP
N35_2015	2317	7148	0,068	1	SP
N35_2015	2317	7149	0,080	0,620	SP
M35_2016	7347	7361	0,048	1	SP
M35_2016	7347	7362	0,022	0,442	SP
M35_2016	7347	7363	0,090	0,162	SP
N43_2017	5611	5621	0,174	0,057	MH
N43_2017	5611	5622	0,222	0,711	MH
N43_2017	5611	5623	0,224	0,064	MH
N35_2017	2327	7686	0,221	0,460	MH
N35_2017	2327	7687	0,169	0,387	MH
N28_2015	7113	7117	0,562	0,679	HC
N28_2015	7112	7117	0,449	0,263	HC
N15_2016	7127	7351d	0,317	0,241	MH
N15_2016	7127	7352	0,187	0,027	MH
N15_2016	7127	7353	0,245	0,834	MH
N35_2016	7380	7477	0,033	0,455	SP
N35_2016	7380	7478	0,102	0,898	SP
N35_2016	7380	7376	0,037	1	SP
N49_2016	7364	7490	0,017	1	SP
N49_2016	7364	7491	0,103	0,193	SP
N49_2016	7364	7492	0,181	0,954	MH
N26_2017	3856	7654	0,255	0,204	MH
N26_2017	3856	7655	0	1	SP
N26_2017	3856	7656	0,189	0,448	MH
N52_2017	323K	7693	0,211	0,876	MH
N52_2017	323K	7692	0,022	0,45	SP
N52_2017	323K	7695	0,046	0,097	SP
N64_2017	5620	5625	0,095	0,445	SP
N64_2017	5620	5626	0,092	0,783	SP
N64_2017	5620	5627	0,087	0,740	SP
N24_2015	7124	7121	0,460	0,104	MH
N24_2015	7124	7118	0,321	0,376	MH
N4_2016	7141	7331	0,401*	-	HC*
N4_2016	7141	7332	0,49*	-	HC*
N46_2015	7175	7174	0,060	0,934	SP
N46_2015	7175	7171	0,068	0,973	SP

Continúa en la siguiente págna

Continúa de la página anterior					
N46_2015	7175	7173	0,111	0,408	SP
N46_2015	7175	7172	0,210*	0,088	MH*
N46_2015	7028	7174	0,044	0,613	SP
N46_2015	7028	7171	0,051	0,584	SP
N46_2015	7028	7173	0,084	0,784	SP
N46_2015	7028	7172	0,156	0,926	SP
N2_2016	7325	7334	0,005	1	SP
N2_2016	7325	7335	0	1	SP
N3_2016	7325	7342	0,001	1	SP
N14_2015	7155	7162	0	0,825	SP
N1_2017	7103	7651	0,001	1	SP

*****En este nido los pichones eran hermanos completos.

Capítulo 4.
Rol de los ayudantes en el aprovisionamiento de nidos con parasitismo de Tordo Pico Corto

Introducción

El cuidado parental implica costos para los individuos reproductores, quienes disponen de recursos limitados para asignar a su progenie y a su propia supervivencia. De acuerdo con la teoría de historias de vida, es de esperar que los padres ajusten su nivel de esfuerzo de modo tal de optimizar el balance entre invertir en reproducción actual y futura (Linden y Møller 1989, Stearns 1992, Santos y Nakagawa 2012). En las especies con cría cooperativa, los ayudantes podrían afectar dicho balance si, mediante su contribución al aprovisionamiento de las crías, permiten a los reproductores incrementar su éxito reproductivo actual (Rabenold 1984, Mumme 1992, Woxvold y Magrath 2005, Doerr and Doerr 2007, Canestrari et al. 2009, Preston et al. 2016) y/o mejorar sus perspectivas de supervivencia y reproducción futura (Brown 1978, Crick 1992, Khan y Walters 2002, Hatchwell 2004, Kingma et al. 2010).

La cuestión de cuánto invierten los ayudantes en el cuidado de las crías y el efecto de su ayuda sobre la inversión parental ha sido investigada tanto a nivel teórico (e.g. Hatchwell 1999, Heinsohn 2004, Johnstone 2011) como empírico (e.g. Wright y Dingemanse 1999, Legge 2000, Russell et al. 2007, Koenig y Walters 2011, 2012, Paquet et al. 2015). La información disponible indica que la contribución que realizan los ayudantes puede variar notablemente no sólo entre especies, sino incluso dentro de un mismo grupo social. Se reportaron ejemplos como el clásico trabajo del Martín Pescador Pío (*Ceryle rudis*) donde los ayudantes secundarios realizan un aporte casi nulo (Reyer 1980), o el de la Corneja (*C. corone corone*) donde hay ayudantes que se

involucran en el cuidado cuando los parentales no logran cubrir la demanda del nido (Baglione et al. 2010). En contraparte, en el sistema del Mielero Chillón (*Manorina melanocephala*) los ayudantes contribuyen a la alimentación de las crías al mismo nivel que uno o ambos reproductores (Wright et al. 1999). De todas maneras el patrón más común es que los ayudantes contribuyan menos que la pareja reproductiva (Mumme 1992, Legge 2000, Canestrari et al. 2005). Dentro de una misma especie, puede haber variación en la contribución que realizan los ayudantes, por ejemplo según el sexo, edad y/o grado de parentesco con los receptores de la ayuda (Komdeur 1994, Canestrari et al. 2005, Kingma et al. 2010). Esta variación tanto inter como intra-específica aún dista de ser totalmente entendida, pero ha sido interpretada de modo general en base a diferentes balances entre los beneficios genéticos del cuidado aloparental para los ayudantes y los costos en términos de reducción de supervivencia y pérdida de fecundidad futura (Heinsohn 2004).

Por su parte, los individuos reproductores pueden responder de distintas maneras ante la presencia de ayudantes (Hatchwell 1999, Heinsohn 2004). Una opción es que los reproductores compensen la ayuda reduciendo su contribución al aprovisionamiento del nido, un efecto que se conoce como “alivianar la carga” o *load-lightening* (Brown 1978, Johnstone et al 2011, Koenig et al. 2010, Kingma et al. 2010). En el otro extremo, los reproductores pueden mantener su nivel de esfuerzo, lo que lleva a que la contribución de los ayudantes tenga un efecto aditivo sobre la entrega de alimento (Emlen y Wrege 1991, Boheemen et al. 2019). Hatchwell (1999) analizó bajo qué condiciones los reproductores adoptan cada una de estas estrategias haciendo un estudio comparativo de 27 especies. Los resultados mostraron una asociación entre la estrategia de los reproductores y el riesgo de que los pichones mueran de hambre en los nidos no asistidos: el efecto de los ayudantes de “alivianar la carga” de los reproductores aparece con mayor frecuencia en especies donde la reducción de nidada es poco habitual en ausencia de ayudantes, mientras que el efecto aditivo

aparece en especies donde el cuidado no cooperativo suele ser insuficiente para que la nidada completa sobreviva (Hatchwell 1999). Estas estrategias no son mutuamente excluyentes y se han reportado situaciones en las que la compensación es parcial (Boheemen et al. 2019, Zöttl et al. 2013) o en las que el efecto de los ayudantes difiere entre reproductores machos y hembras (Meade et al. 2010, Koenig et al 2011, Manica et al. 2011). Un estudio más reciente reveló también que el efecto compensatorio o aditivo de los ayudantes puede estar modulado por las condiciones ecológicas, como por ejemplo la variación interanual en la disponibilidad de alimento, lo que sugiere que los reproductores responderían de manera flexible frente a la ayuda que reciben según cómo cambien los costos y beneficios de invertir en su progenie actual *versus* priorizar su supervivencia para invertir en reproducción futura (Guindre-Parker y Rubinstein 2015). Dentro de este marco, estudiar los patrones individuales de entrega de alimento dentro de los grupos cooperativos es un paso clave para comprender las reglas de decisión de padres y ayudantes e identificar posibles beneficios de la ayuda en el nido.

La contribución de los ayudantes al cuidado parental y su efecto sobre el esfuerzo de la pareja reproductiva pueden ser particularmente importantes en especies que son hospedadoras de parásitos de cría obligados. Los parásitos de cría explotan el cuidado parental de otros individuos (hospedadores) que son quienes crían a la progenie parásita, muchas veces a expensas de su propio éxito reproductivo (Kilner et al. 1999). En un estudio comparativo reciente se ha visto que, en avifaunas de Australia y África, la cría cooperativa es más frecuente en especies hospedadoras de parásitos de cría que en especies no hospedadoras (Feeney et al. 2013). Este patrón sugiere que los costos del parasitismo de cría podrían favorecer la presencia de ayudantes en el nido, o bien, que los parásitos podrían usar preferentemente hospedadores con cría cooperativa si la presencia de ayudantes redunda en un beneficio para sus crías (Feeney et al. 2013, Wells y Barker 2017). La presencia de ayudantes puede mitigar los costos del parasitismo de cría por distintas vías. En la

Ratona Australiana *Malurus cyaneus*, principal hospedadora del Cuclillo de Bronzfield (*Chalcites basalis*), los grupos cooperativos son más eficientes en defender el nido y repeler los ataques de las hembras parásitas, lo que resulta en una menor tasa de parasitismo y, en consecuencia, un mayor éxito reproductivo (Feeney et al. 2013). La cría cooperativa también parece reducir el riego de parasitismo por parte del Críalo (*Clamator glandarius*) en uno de sus hospedadores, la Corneja, *Corvus corone corone* (Canestrari et al. 2009). En este sistema los ayudantes alimentan a la hembra reproductora mientras está atendiendo el nido, esto permite incrementar el tiempo de atención, haciendo a su vez más difícil para las hembras parásitas sincronizar su puesta con la del hospedador (Canestrari et al. 2009). Por último, los ayudantes también podrían reducir los costos del parasitismo para los hospedadores y sus crías a través de su contribución al aprovisionamiento del nido. En teoría, tales efectos son posibles si la ayuda resulta en una menor inversión parental de los hospedadores en las nidadas parasitadas, o si limita la intensidad de la competencia entre los pichones parásitos y los del hospedador. A favor de esto último, en dos especies (no afectadas por el parasitismo de cría) con cría comunal se ha observado que el tamaño de grupo estuvo asociado a una mayor coordinación de las visitas de entrega de alimento (Shen et al. 2010) o una mayor tasa de entrega per cápita (Bebbington et al. 2018), lo que en ambos casos sugiere un rol de la cooperación en reducir la competencia dentro de la nidada. Sin embargo, pese a las posibles implicancias en la evolución de los sistemas hospedador-parásito, las interacciones entre la cría cooperativa y el parasitismo apenas han sido investigadas (Baglione y Canestrari 2016).

El sistema formado por el Músico y el Tordo Pico Corto provee un excelente modelo, en un sistema social complejo, para estudiar las estrategias de inversión parental y los posibles efectos de la ayuda en el nido en la asignación de recursos en las nidadas parasitadas. Un estudio previo sugiere una relación entre el parasitismo de

cría y la cría cooperativa. Ursino et al. (2011) encontraron que el número de pichones parásitos, pero no el tamaño total de nidada, estuvo asociado a una mayor tasa de entrega de alimento al nido. Además, los nidos parasitados artificialmente con huevos o pichones de Tordo Renegrido, reclutaron más ayudantes que los nidos no parasitados o parasitados sólo por Tordo Pico Corto (Ursino et al. 2011). Estos resultados sugieren un sistema de cría cooperativa flexible donde tanto los reproductores como los ayudantes pueden ajustar su inversión en función de la demanda extra que implica tener pichones parásitos en la nidada. Una mayor demanda en los nidos parasitados es esperable debido a que, en comparación con los pichones del hospedador, los pichones de Tordo Pico Corto crecen más rápido y alcanzan un tamaño mayor (De Mársico et al. 2010), tienen un comportamiento de pedido de alimento más exagerado (Lichtenstein y Dearborn 2004, Ursino 2016) y sus vocalizaciones son más efectivas para estimular la entrega de alimento por parte de los Músicos adultos (Ursino et al. 2019). Por otro lado, estudios previos han reportado una asociación positiva entre la tasa de entrega al nido y el tamaño de grupo, lo que sugiere que los reproductores no compensan o compensan parcialmente la contribución de los ayudantes (Fraga 1991, Ursino et al. 2011). Sin embargo, estos datos son correlaciónales y requieren ser corroborados con un análisis de las contribuciones individuales de adultos marcados. Además de su efecto sobre la inversión de los reproductores, la presencia de ayudantes podría tener consecuencias para la competencia dentro de la nidada, teniendo en cuenta que los pichones de Tordo Pico Corto son hábiles competidores y suelen acaparar una mayor proporción de entregas que las esperadas por azar (Ursino 2016)

Los objetivos específicos de este capítulo son estudiar: 1) la contribución individual al aprovisionamiento del nido, 2) las estrategias de los reproductores en respuesta a la presencia de ayudantes, y 3) el efecto de la cría cooperativa en la competencia entre pichones parásitos y del hospedador. Bajo la hipótesis de que la

cría cooperativa actúa alivianando la carga sobre la pareja reproductiva se espera que la tasa de entrega de alimento per cápita (por pichón) no difiera entre nidos con y sin ayudantes y que exista una asociación negativa entre la presencia de ayudantes y la proporción de entregas que realizan los reproductores. Alternativamente, si los ayudantes tienen un efecto aditivo sobre el esfuerzo de la pareja reproductora se espera que la tasa de entrega per cápita sea mayor en los nidos con ayudantes y que no haya asociación entre la presencia de ayudantes y la contribución relativa de los reproductores. En relación con el parasitismo de cría, si la cría cooperativa permite reducir los costos de la competencia generada por los pichones parásitos, se espera que la proporción de entregas que reciben los pichones del hospedador y parásitos sea más equitativa en presencia de ayudantes.

Métodos

Filmación de nidos

Para evaluar la contribución de los miembros del grupo social a la entrega de alimento y cuantificar cómo se distribuyen las entregas entre los pichones parásitos y del hospedador, durante las temporadas 2015-2016, 2016-2017, 2017-2018 y 2018-2019, se realizaron filmaciones de los nidos a los 4 (n = 25 nidos) y 8 (n = 22 nidos) días de edad de los pichones. Previo a las filmaciones, la pareja reproductiva y los ayudantes fueron capturados con redes de niebla y anillados con una combinación única de anillos de colores y un anillo de aluminio numerado. Se usaron videocámaras digitales (marca Sony Handycam HDR o IONPRO) para filmar la entrada de los nidos, a fin de registrar la identidad de los adultos en cada viaje de entrega de alimento. En paralelo, se filmó el interior del nido usando una microcámara provista de leds infrarrojos (marca Handykam) conectada a un grabador digital de video (marca Lawmate, PV-500 Eco o PV-500 lite) para registrar la entrega de alimento a los pichones individuales (ver más abajo). Las microcámaras fueron colocadas el día

previo a la filmación. En los casos que la estructura del nido lo permitió, se usó una videocámara IONPRO apuntando a la cámara de incubación para registrar tanto la identidad de los adultos que entregaron alimento como los pichones receptores de las entregas (Figura 4.1). Para cuantificar la cantidad de alimento recibida por los pichones del hospedador *versus* los pichones parásitos se tomaron como individuos focales el Tordo Pico Corto de mayor tamaño de la nidada y el Músico más cercano en tamaño. Se adoptó este criterio porque estos individuos son los más fáciles de identificar en cada filmación y se obtienen resultados comparables con estudios previos (Ursino 2016). Los pichones focales de cada nido fueron marcados individualmente en el pico y alas para poder identificarlos en las filmaciones.

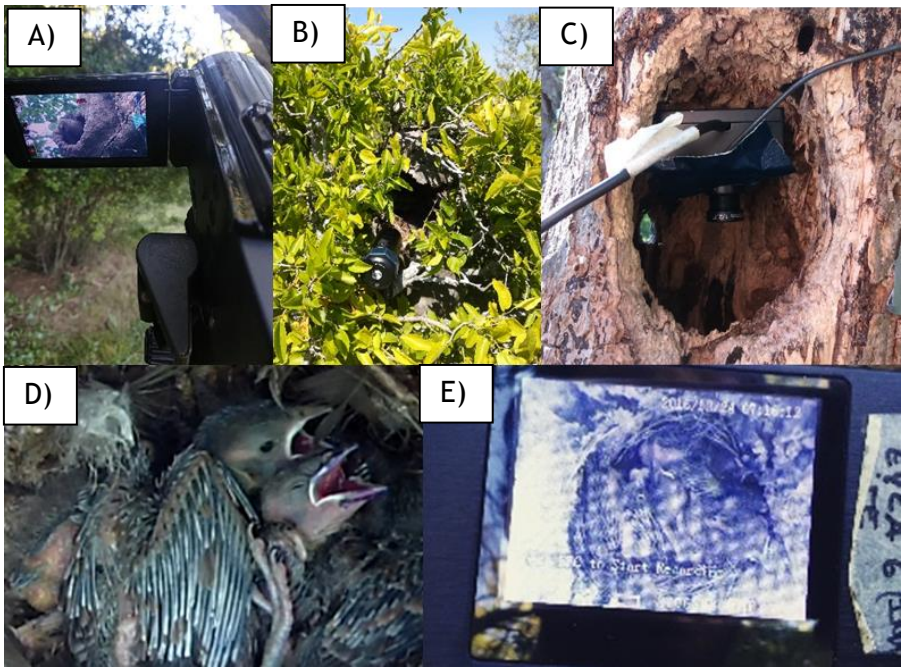

Figura 4.1: Fotografías que ilustran el equipo utilizado para filmar el aprovisionamiento de las nidadas de Músico. A) Filmadora digital (Handycam) ubicada al pie de un nido (en este caso, un nido de Hornero) para registrar la llegada de los adultos con alimento, B) action cam ubicada cerca de la entrada de un nido construido dentro de un antiguo avispero de Camoatí (*Polibia scuttelaris*), C) microcámara colocada en un nido ubicado en una cavidad de carpintero), D) pichones registrados por la cámara de B), y E) imagen del interior del nido capturada con la microcámara, donde pueden observarse los pichones de 8 días de edad.

Las filmaciones se realizaron durante la mañana (7:00 a 11:00 hs). En algunos casos en los que la filmación falló por desplazamientos de la microcámara (por ejemplo debido al roce de los adultos durante la entrada y salida del nido) o tuvo que suspenderse por mal tiempo, el procedimiento se repitió al día siguiente. A partir de las mismas se cuantificó la tasa de entrega de alimento per cápita, medida como el número total de entregas por hora dividido el número de pichones en el nido. Siempre que fue posible se registró la identidad de los individuos en cada viaje de alimentación y su rol en el grupo (hembra reproductora, macho reproductor o ayudante), y la identidad del pichón receptor de cada entrega, clasificándolo en: parásito focal, parásito no focal, hospedador focal y hospedador no focal.

Análisis estadísticos

Los análisis se ejecutaron con el software estadístico R 3.4.2 (R Core Team 2017). Para analizar la entrega de alimento se construyeron modelos lineales generales mixtos (*LMMs*) mediante la función *lme* del paquete *lme4* (Bates et al. 2015) con la tasa de entrega de alimento per cápita (i.e. número de entregas por hora por pichón) como variable respuesta y la presencia o no de ayudantes y el número de pichones parásitos como variables explicativas. Debido a eventos de depredación y fallas en las filmaciones (por problemas técnicos o interferencia del ganado), hubo un desbalance de los tamaños muestrales entre edades y un bajo número de filmaciones pareadas por nido. Teniendo en cuenta esto, se realizaron modelos separados para cada edad (4 y 8 días).

La contribución individual al aprovisionamiento del nido se analizó construyendo modelos lineales generalizados mixtos (*GLMMs*) mediante la función *glmmTMB* (Brooks et al. 2017) del paquete del mismo nombre. El análisis se realizó sobre un subconjunto de los nidos donde se pudo determinar la identidad del adulto en más del 90% de las entregas. La variable respuesta fue la proporción del total de

eventos de alimentación realizado por cada miembro del grupo. Esta variable permite comparar las contribuciones relativas de la pareja reproductiva y ayudantes sobre el total de entregas, controlando por las posibles diferencias en la tasa de entrega entre nidos debido, por ejemplo, a variaciones en la disponibilidad de alimento y tamaño o composición de las nidadas. Se utilizó una distribución binomial, relativizando la proporción de alimento sobre el total con el comando *weights*, y considerando la identidad del nido como factor aleatorio. La variable explicativa fue el rol de cada individuo dentro del grupo: hembra reproductora (HR), macho reproductor (MR) o ayudante (Ay). Cabe destacar que los nidos filmados sólo se registró la presencia de un ayudante.

Para estudiar la relación entre la presencia de ayudantes y el esfuerzo de la pareja reproductora se modeló la proporción de alimento entregado por los miembros de la pareja en función del sexo, la presencia o no de ayudantes y la interacción entre estas variables. Se evaluó el ajuste y validez de los modelos mediante el examen de la distribución de residuos predichos *vs*. residuos de Pearson y se cuantificó la dispersión. En los casos donde se observó sobre-dispersión se incorporó un factor aleatorio a cada observación (en inglés *Observation Level Random Effect* u *OLRE*), siguiendo la sugerencia de Browne et al (2005).

Para analizar si hubo diferencias en la entrega de alimento entre los pichones de Músico y Tordo Pico Corto focales se relativizó el número de entregas recibidas por cada pichón sobre el número total de entregas al nido. Se construyeron *GLMM*s (distribución binomial) considerando la especie del pichón, el tamaño de nidada y la presencia o no de ayudantes como factores fijos, y la identidad del nido como factor aleatorio. Las comparaciones *a posteriori* correspondientes a los términos significativos fueron realizadas con el comando y paquete *emmeans* (Lenth 2019).

Resultados

Se obtuvieron en total 25 videos de nidadas de 4 días de edad y 22 de nidadas de 8 días. A pesar de los esfuerzos por controlar el tamaño y composición de las nidadas, la ocurrencia de punciones de huevos y fallas en la eclosión devino en nidadas de composición variable (promedio ± desvío estándar) de 4,4 ± 0,7 pichones y (1,4 ± 0,5 pichones de Tordo Pico Corto) a los 4 días de edad, y 4,3 ± 1,0 pichones (1,3 ± 0,7 pichones de Tordo Pico Corto) a los 8 días. De los nidos filmados a los 4 días de edad, 10 tuvieron al menos un ayudante, mientras que a los 8 días hubo ayudantes en 12 de los nidos. En los análisis de contribución individual se trabajó con un subconjunto de videos en los que se pudo determinar con certeza la identidad de cada individuo. Para que las proporciones fueran comparables en los análisis de recepción de alimento se trabajó sólo con nidadas de 4 pichones.

Cría cooperativa y aprovisionamiento a nivel grupal

No se observó una asociación significativa entre la presencia de ayudantes y la tasa de entrega de alimento per cápita para ninguna de las edades analizadas (Figura 4.2, Tabla 4.1). El número de pichones parásitos tampoco mostró efectos significativos sobre la entrega de alimento al nido (Tabla 4.1). Aunque no fue analizado estadísticamente, los datos sugieren que, en promedio, la tasa de entrega per cápita fue mayor a los 8 que a los 4 días de edad (Figura 4.2).

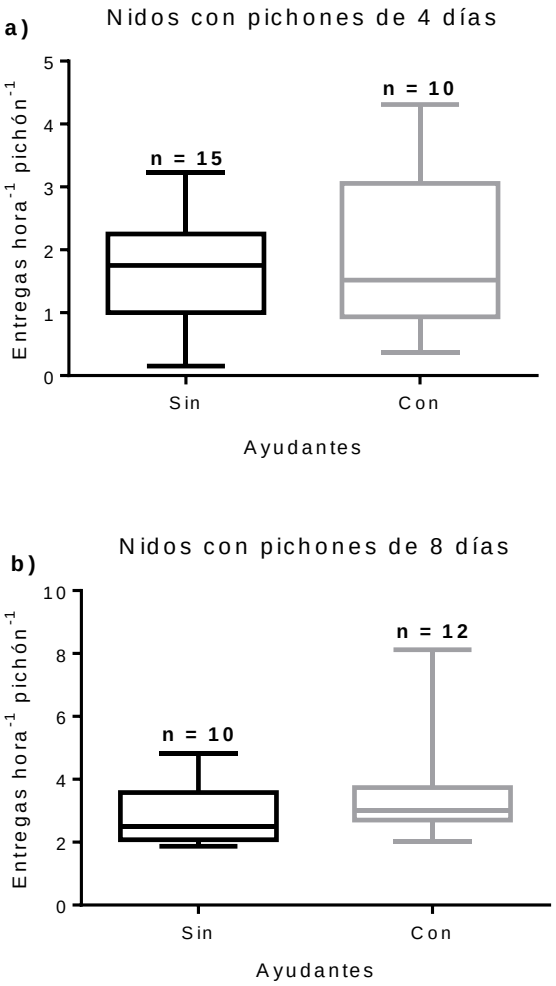

Figura 4.2: Gráficos de cajas ilustrando la tasa de entrega de alimento per cápita en nidos con y sin ayudantes a la edad de 4 días (n = 25) y 8 días (n = 22) de edad de los pichones.

Tabla 4.1: Resumen de los *LMMs* de tasa de entrega de alimento per cápita a los 4 y 8 días de edad en función de la presencia de ayudantes y el número de pichones parásitos. Se indican estimadores con su error estándar, estadístico y *P* para cada parámetro.

	Parámetro	Est ± EE	t	*P*
4 días (n = 25)	Intercepto	2,419 ± 1,503	1,609	0,124
	Presencia de ayudantes (Si)	-0,233 ± 0,477	-0,489	0,630
	Pichones parásitos	-0,395 ± 0,481	-0,821	0,422
8 días (n = 22)	Intercepto	5,529 ± 1,579	3,502	0,003
	Presencia de ayudantes (si)	0,032 ± 0,530	0,059	0,953
	Pichones parásitos	-0,392 ± 0,521	-0,753	0,463

Contribución individual al aprovisionamiento del nido en grupos cooperativos

En los nidos con cría cooperativa, se observó que el aporte de los ayudantes al aprovisionamiento del nido fue significativamente menor que el de la hembra y macho reproductores tanto a los 4 días (comparaciones *a posteriori*: ayudantes *vs.* hembra: estadístico = 3,61 y *P* < 0,006, ayudantes *vs.* macho: estadístico = 3,34, *P* < 0,01 , n = 7 nidos) como a los 8 días de edad (comparaciones *a posteriori*: ayudantes *vs.* hembra: estadístico = 7,39, *P* < 0,001 ayudantes *vs.* macho: estadístico = 6,09, *P* < 0,001 , n = 7 nidos, Tabla 4.2, Figura 4.3). Las comparaciones *a posteriori* no dieron diferencias significativas en la proporción de entregas entre las hembras y machos reproductores para ninguna de las edades (4 días: estadístico = 0,41 y *P* = 0,91, 8 días: estadístico = 1,68 y *P* = 0,24), pese a que a los 8 días el aporte de estos últimos fue marginalmente menor (Tabla 4.2, Figura 4.3).

Tabla 4.2: Resumen de los G*LMMs* (distribución binomial) de la proporción de entregas por individuo en función del rol dentro del grupo cooperativo y el tamaño de nidada. La categoría de hembra reproductora corresponde al nivel de referencia. Se indican estimadores con su error estándar, estadístico y *P* para cada parámetro. En negrita se resaltan los términos significativos).

	Parámetro	Est ± EE	z	*P*
4 días (n = 7)	Intercepto	-9,857±1,341	-7,35	<0,001
	Rol (macho reproductor)	-0,265±0,625	-0,42	0,675
	Rol (ayudante)	**-2,894±0,801**	**-3,61**	**<0,001**
8 días (n = 7)	Intercepto	-8,903±0,240	-37,10	<0,001
	Rol (macho reproductor)	-0,458±0,344	-1,33	0,182
	Rol (ayudante)	**-2,196±0,397**	**-5,52**	**<0,001**

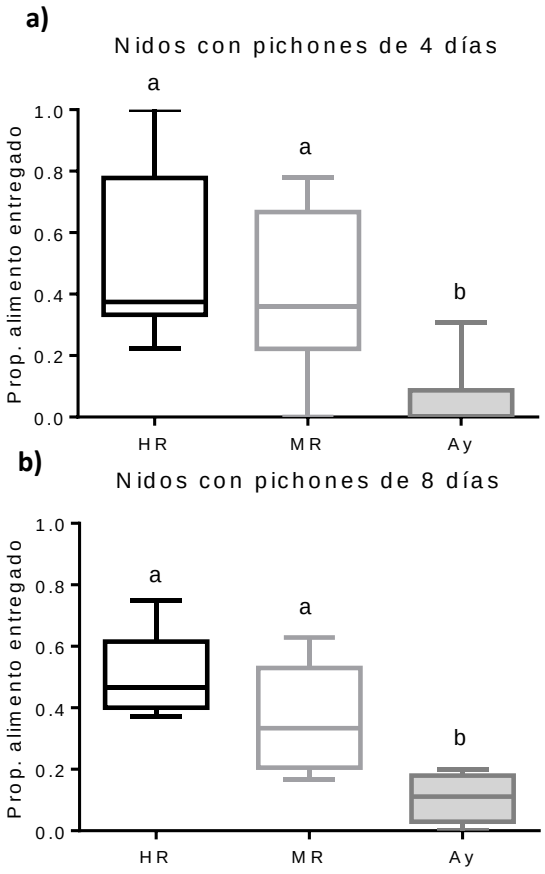

Figura 4.3: Gráficos de cajas ilustrando la proporción de entregas realizadas según el rol dentro del grupo (HR = hembra reproductora, MR = macho reproductor, Ay = ayudante), en nidos con pichones de 4 días (a) y 8 días (b) de edad. Letras diferentes indican diferencias significativas en las comparaciones *a posteriori* de Tukey.

Efecto de la cría cooperativa sobre la contribución de la pareja reproductora

Tanto a los 4 como a los 8 días de edad de los pichones, los machos reproductores realizaron una menor proporción de entregas que las hembras, independientemente de la presencia de ayudantes (Tabla 4.3, Figura 4.4). Para ambas edades la proporción de alimento entregada por los individuos reproductores no estuvo asociada a la presencia de ayudantes (Tabla 4.3, Figura 4.4).

Tabla 4.3: Resumen de los *GLMMs* (distribución binomial) de la proporción de entregas realizada por los miembros de la pareja reproductiva a los 4 y 8 días de edad de los pichones en función del sexo, la presencia de ayudantes y la interacción entre ambas variables. Se indican estimadores con su error estándar, estadístico y *P* para cada parámetro. Las categorías "Hembra" y "sin ayudante" toman valores de referencia en el intercepto. En negrita se resaltan los términos significativos ($P < 0,05$).

	Parámetro	Est ± EE	Z	*P*
4 días	Intercepto	-8,29±0,43	-19,491	<0,001
	Sexo (Macho)	**-1,31±0,62**	**-2,11**	**0,03**
	Ayudantes (si)	-0,51±0,73	-0,70	0,48
(n=18)	Sexo:Ayudantes	0,95±1,05	-0,91	0,36
8 días	Intercepto	-8,17±0,40	-20,06	<0,001
	Sexo (Macho)	**-1,07±0,54**	**-1,99**	**0,04**
	Ayudantes (si)	-0,81±0,54	-1,49	0,13
(n=14)	Sexo:Ayudantes	0,478±0,767	0,024	0,53

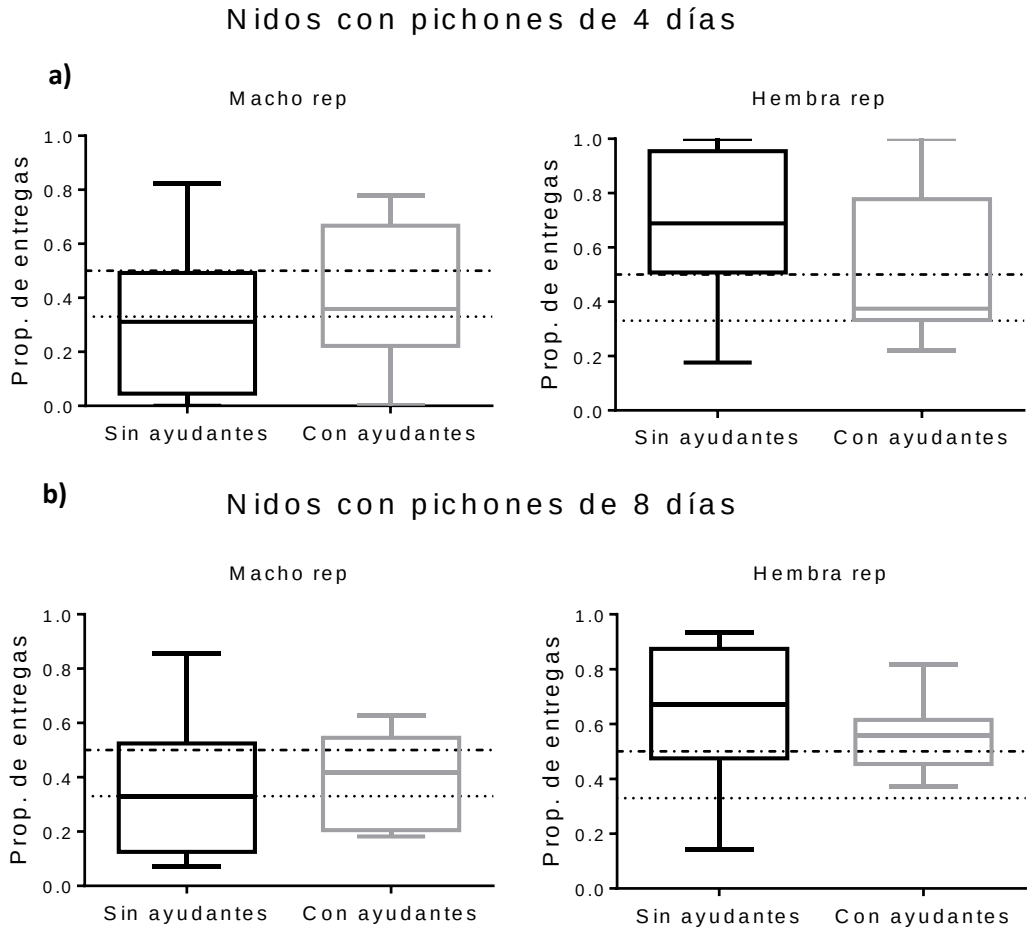

Figura 4.4: Gráficos de cajas ilustrando la proporción de entregas de los parentales en nidos con pichones de 4 (a) y 8 (b) días de edad en función de la presencia de ayudantes. La línea guionada corresponde a una proporción equitativa sin ayudantes (0,5) y la punteada, en presencia de ayudantes (0,33).

Relación entre la cría cooperativa y la distribución de alimento en nidos parasitados

En los nidos con pichones de 4 días se observó una interacción significativa entre la especie del pichón focal y la presencia de ayudantes en la proporción de entregas recibida por el pichón (Figura 4.5, Tabla 4.4). Las pruebas *a posteriori* indican que en los nidos con cuidado no cooperativo los pichones de tordo focales recibieron una mayor proporción de entregas que los pichones de Músico (comparaciones de Tukey: t-ratio = -2,20, *P* = 0,04, Figura 4.5a), mientras que en nidos con ayudantes no se encontraron diferencias (t-ratio = 0,52, *P* = 0,14).

A los 8 días de edad, no hubo un efecto de interacción significativo en la proporción de entregas recibida por cada pichón. Al remover el término de interacción, la proporción de entregas recibida por el pichón de Tordo fue significativamente mayor que la recibida por el Músico (Est ± EE = 0,71 ± 0,26, Z = 3,30, P < 0,001, Figura 4.5). La presencia de ayudantes no tuvo efecto sobre la proporción de entregas recibida por cada pichón (Tabla 4.4, Figura 4.5).

Tabla 4.4: Resumen de los G*LMMs* (distribución binomial) de la proporción de entregas obtenida por los pichones focales a la edad de 4 y 8 días en función de la especie, presencia de ayudantes y la interacción entre ambos factores. Las categorías "sin ayudantes" y "hospedador" tomaron los valores de referencia. Se indican estimadores con su error estándar, estadístico y *P* para cada parámetro.En negrita se resaltan los términos significativos.

	Parámetro	Est ± EE	Z	*P*
4 días (n = 13)	Intercepto	-10,44 ± 0,312	-33,47	<0,001
	Ayudantes (Sí)	0,665 ± 0,523	1,27	0,204
	Especie (Parásito)	**0,583 ± 0,265**	**2,20**	**0,028**
	Ayudantes:Especie	**-1,170 ± 0,470**	**-2,49**	**0,013**
8 días (n = 13)	Intercepto	-10,72 ± 0,31	-34,22	<0,001
	Ayudantes (Sí)	0,045 ± 0,373	0,12	0,903
	Especie (Parásito)	0,747 ± 0,396	1,89	0,059
	Ayudantes:Especie	-0,048 ± 0,472	-0,10	0,917

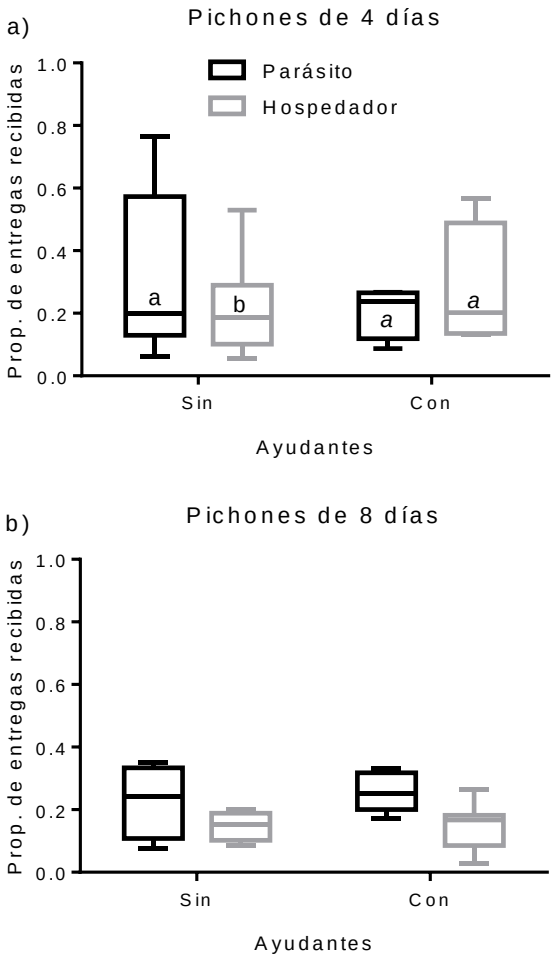

Figura 4.5: Gráficos de cajas de la proporción de entregas recibida por los pichones focales del hospedador y parásito a los 4 (a) y 8 días (b) de edad en función de la presencia o no de ayudantes en el nido. Letras diferentes indican diferencias significativas en las comparaciones *a posteriori* de Tukey.

Discusión

En este capítulo se presentan por primera vez datos acerca de la contribución individual de los reproductores y ayudantes de Músico al aprovisionamiento del nido. El análisis de estos resultados muestra que los ayudantes realizan un aporte sustancialmente menor que los individuos reproductores, independientemente de la edad de la nidada. Este patrón es común a otros sistemas de cría cooperativa, donde también se observan asimetrías en las tasas de entrega de alimento entre los ayudantes y uno o ambos reproductores (Legge 2000, Maccoll y Hatchwell 2003,

Canestrari et al. 2005). La baja contribución de los ayudantes en el Músico es llamativa si se tiene en cuenta que, en la mayoría de los casos, estuvieron emparentados en primer o segundo grado con las crías a las que asistieron (Capítulo 3). Este bajo nivel de esfuerzo podría estar reflejando un balance entre los costos del cuidado aloparental y las perspectivas de reproducción futura, que determina las estrategias de inversión individual (Heinsohn 2004). En este sentido, si la ayuda en el nido no resulta crítica para la supervivencia de las crías, como sugiere el hecho de que la cría cooperativa es facultativa en esta especie, los ayudantes podrían estar ajustando su esfuerzo de forma tal de realizar el mínimo aporte para ser tolerados en el territorio sin comprometer su propia supervivencia y reproducción. Un estudio más detallado de los costos energéticos del cuidado parental en el Músico y sus efectos a corto y largo plazo para los ayudantes puede ayudar a entender mejor por qué estos no realizan un aporte mayor. En la Corneja, como se mencionó previamente, se ha visto que los ayudantes "haraganes", que normalmente no contribuyen al cuidado de las crías, tienen en realidad un comportamiento flexible y aportan más alimento cuando se reduce experimentalmente la contribución de otros miembros del grupo (Baglione et al. 2010). Estudios previos sugieren que tanto el reclutamiento de ayudantes como la entrega de alimento a nivel grupal en el Músico se pueden ajustar de manera flexible en función de la demanda (Ursino et al. 2011), pero esta hipótesis requiere ser investigada de manera experimental. También puede ocurrir que la baja inversión en la entrega de alimento se deba a una mayor especialización en otro tipo de cuidados como la defensa del nido frente a potenciales depredadores (Arnold et al. 2005, Koenig et al. 2019, Capítulo 5). Otra posibilidad que no se puede descartar y vale la pena examinar a futuro es que los ayudantes desempeñen un papel más importante en el cuidado de las crías luego de que estas salen del nido.

Los resultados también sugieren ciertas diferencias en la contribución individual entre los miembros de la pareja reproductora, aunque esto sólo fue evidente

cuando se comparó la proporción de entregas controlando al mismo tiempo por la presencia de ayudantes en el nido. El menor aporte de los machos a la alimentación de las crías podría estar relacionado con la menor certeza de paternidad debido a fertilizaciones por fuera de la pareja, que en el Músico representan aproximadamente el 30% de las crías (Ursino et al. 2017, Capítulo 3). Bajo estas condiciones, los machos podrían optar por reducir su inversión en la nidada y priorizar su propio mantenimiento (Hatchwell 1999). Una asociación negativa entre certeza de paternidad y tasa de entrega de alimento se ha observado en otras especies (Burke et al. 1989, Neff et al. 2003, Kokko y Jennions 2012, Huges et al 2013, Boheemen et al 2019). Por otro lado, las diferencias sexuales en aprovisionamiento del nido podrían deberse a cierto grado de división de tareas donde las hembras realizan una mayor inversión en alimentación y empolle y los machos contribuyen más a la defensa del nido (Capítulo 5).

A su vez, la contribución de la pareja reproductiva no estuvo asociada a la presencia de ayudantes, lo que sugiere que los reproductores no compensan la ayuda reduciendo su inversión en la entrega de alimento. Sin embargo, no se observó la asociación positiva esperada entre la tasa de entrega y la presencia de ayudantes, si la ayuda tiene un efecto aditivo en el aprovisionamiento (Hatchwell 1999). Este resultado contrasta con estudios previos donde se encontró un aumento en la tasa de entrega en función del tamaño de grupo, controlando por la edad y tamaño de la nidada (Fraga 1991, Ursino et al. 2011). Es posible que en este trabajo, el porcentaje de entregas realizado por los ayudantes haya sido demasiado bajo como para detectar un aumento estadísticamente significativo en la tasa de entrega respecto de nidos con cuidado no cooperativo. Otra posibilidad es que el efecto de los ayudantes en las tasas de entrega sólo sea detectable bajo ciertas condiciones, como por ejemplo, una excesiva demanda de alimento (Ursino et al. 2011) o condiciones ecológicas menos favorables (Guindre-Parker y Rubinstein 2015). También es importante tener en

cuenta que la tasa de entrega de alimento al nido puede estar influenciada por otros factores no considerados en el análisis como la calidad del territorio o de la pareja reproductiva. Examinar esos factores excede los objetivos de esta tesis, pero deberían considerarse en futuros estudios, para dilucidar el efecto de los ayudantes sobre la inversión de los reproductores. Una forma de controlar estas fuentes de variación puede ser manipular experimentalmente el esfuerzo de los ayudantes, por ejemplo a través de incrementar los costos energéticos del forrajeo, y evaluar cómo varía la tasa de entrega de la pareja reproductiva ante esta situación (Baglione et al 2010).

Contrariamente a lo esperado, no se encontraron evidencias a favor de que la cría cooperativa podría reducir la competencia por el alimento entre los pichones parásitos y del hospedador. En nidos con ayudantes la proporción de entregas recibida por ambos pichones fue similar a los 4 días de edad, a diferencia de los nidos sin ayudantes, donde el Tordo recibió una mayor proporción. Sin embargo, este patrón no se observó a los 8 días, edad a la cual la proporción de entregas fue mayor para los pichones parásitos independientemente de la presencia de ayudantes. Estos resultados sugieren que el aporte que realizaron los ayudantes a la alimentación de las crías resultó insuficiente como para contrarrestar la capacidad del parásito de acaparar una mayor proporción de las entregas, al menos a edades más avanzadas (Ursino 2016). Estudios previos sugieren que los pichones parásitos pueden ajustar su comportamiento de pedido de alimento a medida que crecen según su experiencia con el hospedador (Roldán et al. 2013, Rojas Ripari et al. 2018). Esto, sumado a que las diferencias de tamaño son más marcadas a medida que los pichones crecen (De Márs ico et al. 2010), podría explicar por qué el Tordo Pico Corto compite más eficazmente por el alimento a los 8 días edad. De todos modos, si bien no se puede descartar por completo que los ayudantes jueguen un rol en limitar la competencia dentro de la nidada, la distribución más equitativa a los 4 días de edad en nidos con ayudantes podría atribuirse simplemente a que la variabilidad en las observaciones no

permitió detectar diferencias en la proporción de alimento entregada. Más allá de estos resultados, sería interesante evaluar si la cría cooperativa tiene un efecto amortiguador de la competencia entre las crías de Músico y Tordo Pico Corto luego de que estas dejan el nido. Los posibles efectos de los ayudantes para el crecimiento y supervivencia de los pichones, tanto del hospedador como parásitos, se abordará en el Capítulo 6.

Referencias bibliográficas:

Arnold K. E., Owens I. P. F., y Goldizen A. W. (2005). Division of labour within cooperatively breeding groups. *Behaviour*, *142*(11–12), 1577–1590.

Baglione V. y Canestrari D. (2016). Carrion crows: Family living and helping in a flexible social system. Koenig W.D. y J.L. Dickinson (Eds.), "*Cooperative Breeding in Vertebrates"* pp: 97–114. Cambridge, UK: Cambridge University Press.

Baglione V., Canestrari D., Chiarati E., Vera R., y Marcos J. M. (2010). Lazy group members are substitute helpers in carrion crows. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *277*(1698), 3275–3282.

Bebbington K., Fairfield E. A., Spurgin L. G., Kingma S. A., Dugdale H., Komdeur J. y Richardson, D. S. (2018). Joint care can outweigh costs of nonkin competition in communal breeders. *Behavioral Ecology*, *29*(1), 169–178.

Boheemen, L. A. Van, Richardson, D. S., Burke, T., Komdeur, J., y Dugdale, H. L. (2019). Compensatory and additive helper effects in the cooperatively breeding Seychelles warbler (*Acrocephalus sechellensis*). *Ecology and Evolution*, 9(5) 2986–2995.

Baglione V., Canestrari D., Chiarati E., Vera R., y Marcos J.M. (2010). Lazy group members are substitute helpers in Carrion Crows. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *277*(1698), 3275-3282.

Brooks M., Kristensen K., Benthem K., Magnusson A., Berg C., Nielsen A., Skaug H. J. Mächler M. y Bolker B. (2017). glmmTMB balances speed and flexibility among ackages for zero-inflated generalized linear mixed modeling. *The R Journal*, *9*(2), 378.

Brown J.L. (1978). Avian Communal Breeding Systems. *Annual Review of Ecology and Systematics*, *9*(1), 123–155.

Browne W.J., Subramanian S.V., Jones K. y Goldstein H. (2005). Variance partitioning in multilevel logistic models that exhibit overdispersion. *Journal of the Royal Statistical Society: Series A (Statistics in Society)*, *168*(3), 599–613.

Canestrari D., Marcos J.M. y Baglione, V. (2005). Effect of parentage and relatedness on the individual contribution to cooperative chick care in carrion crows *Corvus corone corone*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, *57*(5), 422–428.

Canestrari D., Marcos J.M. y Baglione V. (2009). Cooperative breeding in carrion crows reduces the rate of brood parasitism by great spotted cuckoos. *Animal Behaviour*, *77*(5), 1337–1344.

Crick H. Q. P. (1992). Load-lightening in cooperatively breeding birds and the cost of reproduction. *Ibis*, *134*(1), 56–61.

Doerr E. D., y Doerr V.A.J. (2007). Positive effects of helpers on reproductive success in the brown treecreeper and the general importance of future benefits. *Journal of Animal Ecology, 76(5)*, 966–976.

Emlen S.T. y Wrege P.H. (1991). Breeding Biology of White-Fronted Bee-Eaters at Nakuru: The Influence of Helpers on Breeder Fitness. *Journal of Animal Ecology*, *60*(1), 309.

Feeney W.E., Medina I., Somveille M., Heinsohn R., Hall M.L., Mulder R. A., Stein J. A., Kilner R. M. y Langmore N. E. (2013). Brood parasitism and the evolution of cooperative breeding in birds. *Science*, *342*(6165), 1506–1508.

Fraga R.M. (1991). The social system of a communal breeder, the Bay-winged Cowbird *Molothrus* badius. *Ethology*, *89*(3), 195–210.

Guindre-Parker S. y Rubenstein D.R (2018) Multiple benefits of alloparental care in a fluctuating environment. *Royal Society open science, 5(2), 172406*

Hatchwell B. (2004). Helpers increase long-term but not short-term productivity in cooperatively breeding Long-tailed Tits. *Behavioral Ecology*, *15*(1), 1–10.

Heinsohn R.G. (2004). Parental care, load-lightening, and costs. Koenig W.D. Dickinson J.L. (Eds.). *Ecology and Evolution of Cooperative Breeding in Birds*, pp. 67–80. Cambridge, UK: Cambridge University Press

Johnstone R.A. (2011). Load lightening and negotiation over offspring care in cooperative breeders. *Behavioral Ecology*, *22*(2), 436–444.

Khan M.Z. y Walters J.R. (2002). Effects of helpers on breeder survival in the red-cockaded woodpecker (*Picoides borealis*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, *51*(4), 336–344.

Kilner R.M., Noble D.G., y Davies N.B. (1999). Signals of need in parent-offspring communication and their exploitation by the Common Cuckoo. *Nature*, *397*(6721), 667–672.

Kingma S.A., Hall M. L., Arriero E. y Peters A. (2010). Multiple benefits of cooperative breeding in purplecrowned Fairy-wrens: A consequence of fidelity? *Journal of Animal Ecology*, *79*(4), 757–768.

Koenig W.D. y Walters E.L. (2011). Age-related provisioning behaviour in the cooperatively breeding Acorn Woodpecker: Testing the skills and the pay-to-stay hypotheses. *Animal Behaviour*, *82*(3), 437–444.

Koenig W.D. y Walters E.L. (2012). Brooding, provisioning, and compensatory care in the cooperatively breeding Acorn Woodpecker. *Behavioral Ecology*, *23*(1), 181–190.

Koenig W.D., Walters E L. y Barve S. (2019). Does helping-at-the-nest Help? The case of the Acorn Woodpecker. *Frontiers in Ecology and Evolution*, *7*, 272.

Komdeur J. (1994). Experimental evidence for helping and hindering by previous offspring in the cooperative-breeding Seychelles warbler *AcrocephMus sechellensis*. *Behavioral Ecology and Sociobiology, 34*(3), 175–186.

Legge S. (2000). The effect of helpers on reproductive success the laughing kookaburra. *Journal of Animal Ecology*, *69*(4), 714–724.

Linden M. y Møller A.P. (1989). Cost of reproduction and covariation of life history traits in birds. *Trends in Ecology y Evolution*, *4*(12), 367–371.

Maccoll A.D.C. y Hatchwell B. (2003). Hereditability of parental effort in a passerine. *Evolution*, *57*(9), 2191–2195.

Mumme R.L. (1992). Do helpers increase reproductive success? *Behavioral Ecology and Sociobiology*, *31*(5), 319–328.

Paquet M., Covas R. y Doutrelant C. (2015). A cross-fostering experiment reveals that prenatal environment affects begging behaviour in a cooperative breeder. *Animal Behaviour*, *102*, 251–258.

Preston S.A.J., Briskie J.V. y Hatchwell B (2016). Adult helpers increase the recruitment of closely related offspring in the cooperatively breeding Rifleman. *Behavioral Ecology*, *27(1)*, 1617–1626.

R Core Team, R. (2017). R: A language and environment for statistical computing (Version 3.4. 2). *Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing*.

Rabenold K.N. (1984). Cooperative enhancement of reproductive success in tropical Wren societies. *Ecology*, *65*(3), 871–885.

Reyer H.U. (1980). Flexible helper structure as an ecological adaptation in the Pied Kingfisher (*Ceryle rudis rudis* L.). *Behavioral Ecology and Sociobiology, 6(3),* 219-227.

Rojas Ripari J.M., Ursino C.A., Reboreda J.C. y De Mársico M.C. (2019). Innate development of acoustic signals for host parent–offspring recognition in the brood-parasitic Screaming Cowbird *Molothrus rufoaxillaris*. *Ibis*, *161(4)*, 717-729.

Roldán M., Soler M., Márquez R. y Soler J. (2013). The vocal begging display of Great Spotted Cuckoo *Clamator glandarius* nestlings in nests of its two main host species : genetic differences or developmental plasticity? *Ibis, 155(4),* 867–876.

Russell A.F., Langmore N.E., Cockburn A., Astheimer L.B. y Kilner R.M. (2007). Reduced egg investment can conceal helper effects in cooperatively breeding birds. *Science*, *317*(5840), 941–944.

Santos E.S.A., y Nakagawa S. (2012). The costs of parental care: a meta-analysis of the trade-off between parental effort and survival in birds. *Journal of Evolutionary Biology*, *25*(9), 1911–1917.

Shen S.F., Chen H.C., Vehrencamp S.L. y Yuan H.W. (2010). Group provisioning limits sharing conflict among nestlings in joint-nesting Taiwan Yuhinas. *Biology Letters*, *6*(3), 318–321.

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

Ursino C.A., De Mársico M.C., Sued M., Farall A. y Reboreda J.C. (2011). Brood parasitism disproportionately increases nest provisioning and helper recruitment in a cooperatively breeding bird. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, *65*(12), 2279–2286.

Ursino C.A., De Mársico M.C. y Reboreda, J.C. (2019). Brood parasitic nestlings benefit from unusual host defenses against botfly larvae (*Philornis* spp.). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, *73*(11), 146 -3.

Ursino C.A., De Mársico M.C., Reboreda J.C. y Riehl,C. (2017). Kinship and genetic mating system of the Grayish Baywing (*Agelaioides badius*), a cooperatively breeding Neotropical blackbird. *The Auk*, *134*(2), 410–420.

Ursino C.A. (2016). Efecto de dos parásitos de cría sobre el cuidado parental de una especie con cría cooperativa, el Músico *(Agelaioides badius)*. Universidad de Buenos Aires. Tesis doctoral.

Wells M.T. y Barker F.K. (2017). Big groups attract bad eggs: brood parasitism correlates with but does not cause cooperative breeding. *Animal Behaviour*, *133*, 47–56.

Woxvold I.A. y Magrath M.J L. (2005). Helping enhances multiple components of reproductive success in the cooperatively breeding Apostlebird. *Journal of Animal Ecology*, *74*(6), 1039–1050.

Wright J. y Dingemanse N.J. (1999). Parents and helpers compensate for experimental changes in the provisioning effort of others in the Arabian babbler. *Animal Behaviour*, *58*(2), 345–350.

Capítulo 5.
Rol de los ayudantes en la defensa del nido y otras tareas de cuidado parental

Introducción

Una etapa crítica en la vida de las aves nidícolas es la que transcurre dentro del nido (Ricklefs 1969, Skutch 1985, Martin 1995). Con un desarrollo incompleto, las crías dependen totalmente de los padres para sobrevivir y abandonar con éxito el nido. En muchas especies, la principal causa de fracaso de los nidos es la depredación, por lo que es de esperar que actúe como una fuerte presión de selección, modelando rasgos de historia de vida y comportamentales (Barbosa y Castellanos 2005, Caro 2005, Creel y Christianson 2008).

El riesgo de depredación puede influir en múltiples aspectos de la biología reproductiva y rasgos de historia de vida, incluyendo la inversión en el número y/o tamaño de los huevos (Slagsvold 1982, Martin 1995, Doligez y Clobert 2003, Eggers et al. 2005, Ferretti et al. 2005, Zanette et al. 2011, Dillon y Conway 2018), la actividad de incubación (Conway y Martin 2000, Ghalambor y Martin 2001, Ferretti et al. 2005, Ibáñez-Álamo et al. 2012), la entrega de alimento al nido (Fontaine y Martin 2006, Ghalambor y Martin 2001, Martin et al. 2011) y el periodo de desarrollo de los pichones (Ferretti et al. 2005, Martin et al. 2011, Zanette et al. 2011). La plasticidad en la respuesta de los individuos frente al riesgo de depredación sugiere que este impone compromisos en la asignación de tiempo y energía a distintas actividades (por ej. defensa del nido o aprovisionamiento, (Heinsohn 2009)). Por lo tanto, entender las decisiones tomadas frente al riesgo de predación puede servir para comprender mejor sus consecuencias en términos de *fitness* y la evolución de distintas estrategias de

cuidado parental (Ghalambor y Martin 2001, Martin y Briskie 2009, Ibáñez- Álamo et al. 2015).

En las especies con cría cooperativa, los ayudantes suelen participar en las tareas de vigilancia del nido y defensa frente a potenciales predadores (Komdeur 1999, Arnold et al. 2005, Canestrari et al. 2009, Feeney et al. 2013, Groenewoud et al. 2016, 2019). La reducción del riesgo de depredación es uno de los principales beneficios de la vida en grupo (Alexander 1974, Bertram 1980), y en las aves con cría cooperativa el aporte de los ayudantes a la vigilancia y defensa del nido puede verse reflejado en un mayor éxito reproductivo (Komdeur y Kats 1999). Además, contar con asistencia en la defensa del nido podría beneficiar a los parentales a largo plazo si les permite reducir su inversión en estos comportamientos (i.e. alivianar la carga), y dedicar más tiempo y energía a otras actividades sin afectar la supervivencia de la nidada. Dado que los costos y beneficios de invertir en el intento reproductivo actual *versus* mejorar las perspectivas de reproducción futuras varían según el sexo y estatus reproductivo, es esperable que existan asimetrías a nivel individual en la contribución a la defensa del nido (Groenewoud et al. 2019). Incluso puede ocurrir una división de tareas, donde algunos individuos se especializan en la defensa del nido y otros en el aprovisionamiento (Arnold et al. 2005). Por lo tanto, es importante considerar los patrones individuales de contribución a otras tareas de cuidado además de la entrega de alimento a fin de entender mejor las estrategias de inversión parental, tanto entre como dentro de los sistemas de cría cooperativa (Carranza et al. 2008, Koenig et al. 2016).

En los Músicos, se sabe que los ayudantes participan en la defensa del nido e intervienen en ahuyentar potenciales depredadores (Fraga 1991). En esta especie, la depredación es una importante causa de fracaso de los nidos y, en particular, es la principal fuente de mortalidad de los pichones (De Mársico y Reboreda 2010), por lo

cual la contribución de los ayudantes a la defensa del nido puede influir en el éxito reproductivo y la inversión de la pareja reproductiva. Sin embargo, cuánto contribuyen los ayudantes ante el riesgo de depredación y qué efecto tiene esto sobre el comportamiento de los reproductores aún no ha sido investigado. Tampoco se sabe cuánto participan los ayudantes en otras tareas de cuidado parental como la higiene del nido y el acicalamiento de los pichones. Los nidos de Músico suelen contener ectoparásitos, principalmente ácaros hematófagos y larvas de moscas del género *Philornis* (Fraga 1984). Las larvas de *Philornis* crecen subcutáneamente en los pichones alimentándose de tejido y fluidos, lo que suele producir efectos sub-letales como anemia o un menor crecimiento, o letales cuando la carga parasitaria es lo suficientemente alta o la infección ocurre al poco tiempo de nacer (Arendt 1985, Fessl y Tebbich 2002, Dudaniec y Kleindorfer 2006, Rabuffetti y Reboreda 2007, Segura y Reboreda 2011, Dominguez et al. 2015). Los Músicos presentan un comportamiento específico anti-*Philornis*, desconocido en otras especies, que consiste en extraer las larvas de debajo de la piel del pichón tirando de ellas con el pico (Fraga 1984, Ursino et al. 2019). La remoción de las larvas tiene un valor adaptativo importante porque permite evitar todos los efectos negativos de la infección, tanto para los pichones de Músico como para los de sus parásitos de cría (Fraga 1984, Ursino et al. 2019). Consistente con esto, se suele observar en filmaciones de los nidos de Músico que los pichones son acicalados con frecuencia y de manera muy minuciosa, probablemente para inspeccionarlos en busca de larvas (Ursino et al. 2019). Sin embargo, no está claro si esta tarea de acicalado es realizada por todos los miembros del grupo o sólo por la hembra reproductora, quien es la única que lleva a cabo la tarea de empollar.

El objetivo general de este capítulo es estudiar el rol de los ayudantes en la defensa del nido y otras tareas de cuidado parental. Los objetivos particulares son: 1) analizar la contribución relativa de padres y ayudantes a la defensa del nido frente a potenciales depredadores, 2) evaluar cómo la presencia de ayudantes afecta el

comportamiento antipredatorio del grupo en general y de los individuos reproductores en particular, y 3) determinar la contribución de los ayudantes a la tarea de acicalado de los pichones. Si la cría cooperativa mejora la defensa del nido, se espera que la pareja reproductora muestre un similar nivel de respuesta frente a un potencial predador en nidos con ayudantes respecto de nidos no asistidos, y que el nivel de respuesta anti-predatoria del grupo en su conjunto sea mayor en nidos con ayudantes respecto a los nidos sin ayudantes (i.e. efecto aditivo).

Métodos

Experimento para evaluar la respuesta antipredatoria individual y grupal

Durante las campañas 2015-2016, 2016-2017 y 2017-2018 se llevó a cabo un experimento donde se evaluó la respuesta de los parentales y ayudantes ante el riesgo de depredación del nido. El experimento se realizó en 27 nidos donde se conocía con certeza el tamaño del grupo y se contaba con la totalidad, o todos menos uno, de los individuos anillados. Como el aumento de la percepción del riesgo de depredación puede afectar la entrega de alimento al nido (Arnold et al. 2005) el experimento se realizó una vez completadas las filmaciones de aprovisionamiento (Capítulo 4).

Para el experimento se usó un diseño de medidas repetidas donde se presentaron de manera secuencial modelos taxidermizados (tres) de un predador aéreo de nidos (*Milvago chimango*) y una especie control inofensiva para el Músico (*Mimus saturninus*, *Paroaria coronata* o *Colaptes melanochloros*) a los grupos reproductivos, aleatorizando el orden de las presentaciones entre nidos (Figura 5.1a). Los modelos fueron ubicados a una distancia de aproximadamente 1,5 - 2,0 m del nido. Cada presentación tuvo una duración de 3 min, con una separación de 20 min entre presentaciones para evitar efectos de arrastre en la respuesta (Figura 5.1a). Para registrar la respuesta de los individuos se colocó una filmadora digital (Sony HDR

CX110) montada en un trípode cerca del nido. Simultáneamente, se observaron los ensayos en tiempo real desde un escondite ubicado a unos 10 m del nido (Figura 5.1b) usando binoculares 8x42 y se registraron los observaciones mediante notas de voz con un grabador de periodista (marca Olympus). La cámara y el escondite fueron montados 20 min antes del primer ensayo para permitirles a los Músicos aclimatarse a su presencia. A partir de las desgrabaciones de las filmaciones y las notas de voz se cuantificaron las siguientes variables respuesta: latencia en responder, medida como el tiempo transcurrido desde que se inició el ensayo hasta que cada individuo focal (hembra reproductora, macho reproductor o ayudantes) se acercó a un metro o menos del modelo, y la intensidad de la respuesta, medida como el número de ataques dirigido hacia el modelo por los individuos que respondieron. Aquellos casos en los que un individuo no se acercó al modelo en todo el ensayo se clasificaron como "no respuesta".

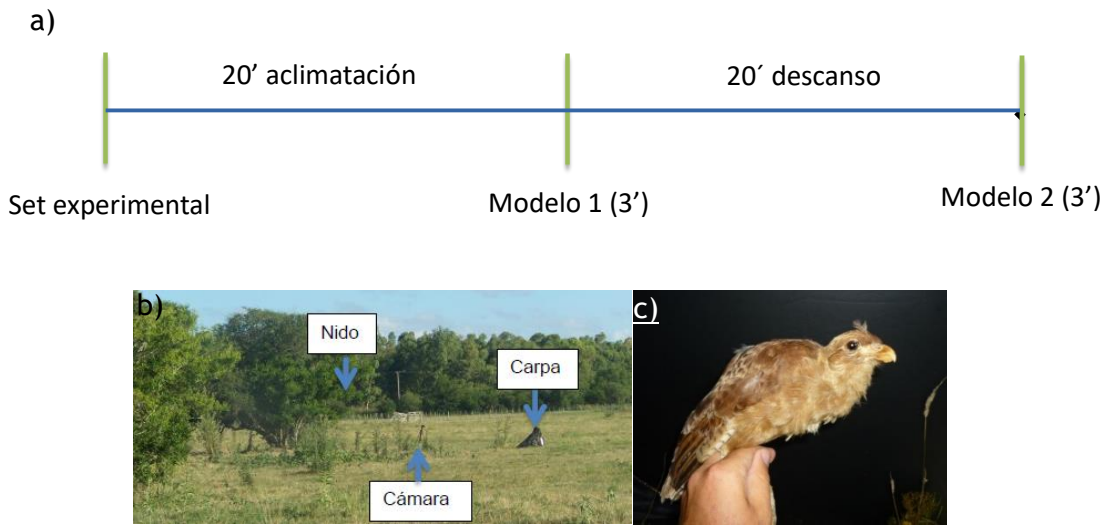

Figura 5.1: a) Esquema del diseño experimental empleado. El orden en el que se presentó cada modelo (predador – control) fue aleatorizado. b) Fotografía que ilustra cómo fueron ubicados la cámara y el escondite en relación al nido. c) Modelo de predador (*Milvago chimango*) utilizado en los experimentos.

Contribución a otras tareas de cuidado parental

Las mismas filmaciones realizadas para analizar la contribución a la entrega de alimento (Capítulo 4) se usaron para cuantificar la contribución individual al acicalado de los pichones. Para ello se registró la proporción de tiempo total que cada integrante del grupo dedicó a este comportamiento.

Análisis estadísticos

Siguiendo la sugerencia de Jahn-Eimermacher et al. (2011), para analizar la latencia en la respuesta a la presentación de los modelos se utilizó un modelo estratificado de riesgos proporcionales de Cox, implementado en la función *coxph* del paquete *survival* (Therneau 2015). Para analizar la intensidad de la respuesta (número de ataques) se utilizaron modelos lineales generalizados mixtos (*GLMMs*). Debido a que los datos mostraron sobredispersión, se usó una distribución binomial negativa con función de enlace log (Hardin y Hilbe 2012)

Por un lado, se estudió la respuesta grupal frente a los tratamientos en función de la presencia o no de ayudantes en el nido. En el caso de la variable latencia, se modeló por separado el efecto del tratamiento (con la identidad del nido como factor aleatorio) y el efecto de la presencia de ayudantes sobre la latencia en la respuesta al predador (con año como factor aleatorio), debido a que el modelo mostró problemas de convergencia cuando se incluían ambas variables explicativas. Cada uno de estos modelos incluyó además el tamaño de nidada como factor fijo porque es de esperar que los adultos modifiquen su inversión en la defensa del nido de acuerdo costo de producción de la nidada. Para el número de ataques, el modelo incluyó como factores fijos el tratamiento (predador o control), la presencia o no de ayudantes, el tamaño de nidada, y la interacción entre tratamiento y presencia de ayudantes, y como factores aleatorios el nido y la temporada reproductiva debido a que se observó una marcada variación interanual en la respuesta.

Por otro lado, se analizó la respuesta individual frente al modelo de predador según el rol dentro del grupo (i.e. hembra reproductora, macho reproductor o ayudante), incluyendo también el tamaño de nidada como factor fijo y el nido como factor aleatorio. Estos modelos se realizaron por separado para los nidos con y sin ayudantes. Para el número de ataques, los modelos incluyeron además el año como factor aleatorio. Por último, para evaluar el efecto de los ayudantes en la inversión de los reproductores, se modeló por separado el número de ataques hacia el predador realizado por machos y hembras reproductores, con la presencia de ayudantes y el tamaño de nidada como factores fijos y el año como factor aleatorio. No fue posible hacer un análisis similar para la variable latencia debido a que no se logró obtener un modelo de regresión de Cox que ajustara bien a los datos.

Todos los análisis se realizaron con el software estadístico R 3.4.2 (R Core Team 2017). El ajuste y validez de los modelos fueron evaluados examinando los residuos y la dispersión. La significancia de cada parámetro en el modelo fue evaluada mediante pruebas de cociente de verosimilitudes (*LR tests* en inglés). Las comparaciones *a posteriori* de Tukey fueron realizadas mediante el paquete y función *emmeans* (Lenth et al. 2019.

Con respecto al comportamiento de acicalado de los pichones, los resultados mostraron que éste fue realizado casi exclusivamente por la hembra (ver más abajo). Por lo tanto, los datos se analizaron de manera descriptiva sin usar estadística inferencial.

Resultados

Respuesta antipredatoria a nivel grupal

El modelo de predador indujo respuesta en el 70% del total de nidos donde se realizó el experimento (n = 27), por otro lado en un 30% de los nidos se observó

respuesta al modelo control. A nivel grupal hubo una menor latencia frente al modelo de predador que frente al modelo control (Figura 5.2, Tabla 5.1). No se detectó una asociación significativa entre la presencia de ayudantes en el nido y la latencia en la respuesta al predador (Figura 5.2, Tabla 5.1). La respuesta también fue más intensa frente al modelo de predador, con una interacción significativa entre el tratamiento y la presencia de ayudantes en el nido (Figura 5.2, Tabla 5.1). La presencia de ayudantes estuvo asociada a una mayor respuesta al control (comparaciones *a posteriori*: t-ratio = -4,077, *P* = 0,02), pero no hubo diferencias entre nidos con y sin ayudantes en el número de ataques hacia el modelo de predador (t-ratio = -0.755, *P* = 0,454). El tamaño de nidada no tuvo efectos significativos sobre la respuesta en ninguno de los modelos (Tabla 5.1).

Tabla 5.1: Resultados de la respuesta a nivel grupal en el experimento de presentación de modelos (n = 27 nidos). Se indican estimadores con su error estándar, estadístico y *P* para cada parámetro incluido en los modelos de: a) latencia en la respuesta en función del tratamiento (predador *vs.* control), b) latencia en la respuesta al predador en función de la presencia o no de ayudantes en el nido y c) número de ataques hacia los modelos ("control" y "sin ayudantes" tomaron los valores de referencia). El tamaño de nidada fue incluido como covariable en todos los modelos (ver detalles en Métodos).

Variable respuesta	Parámetro	Est ± EE	Z	*P*
a) Latencia	Tratamiento (predador)	4,782 ± 0,412	3,751	**<0,001**
b) Latencia (frente al predador)	Presencia de ayudantes (si)	0,677 ± 0,481	1,404	0,160
	Tamaño de nidada	0,113 ± 0,254	0,445	0,656
c) Intensidad de la respuesta (número de ataques)	Intercepto	-1,466 ± 0,735	-1,996	**0,046**
	Tratamiento (predador)	4,365 ± 0,866	5,038	**<0,001**
	Presencia de ayudantes (si)	3,509 ± 0,861	4,077	**<0,001**
	Tratamiento x presencia de ayudantes	-3,029 ± 1,071	-2,829	**0,005**

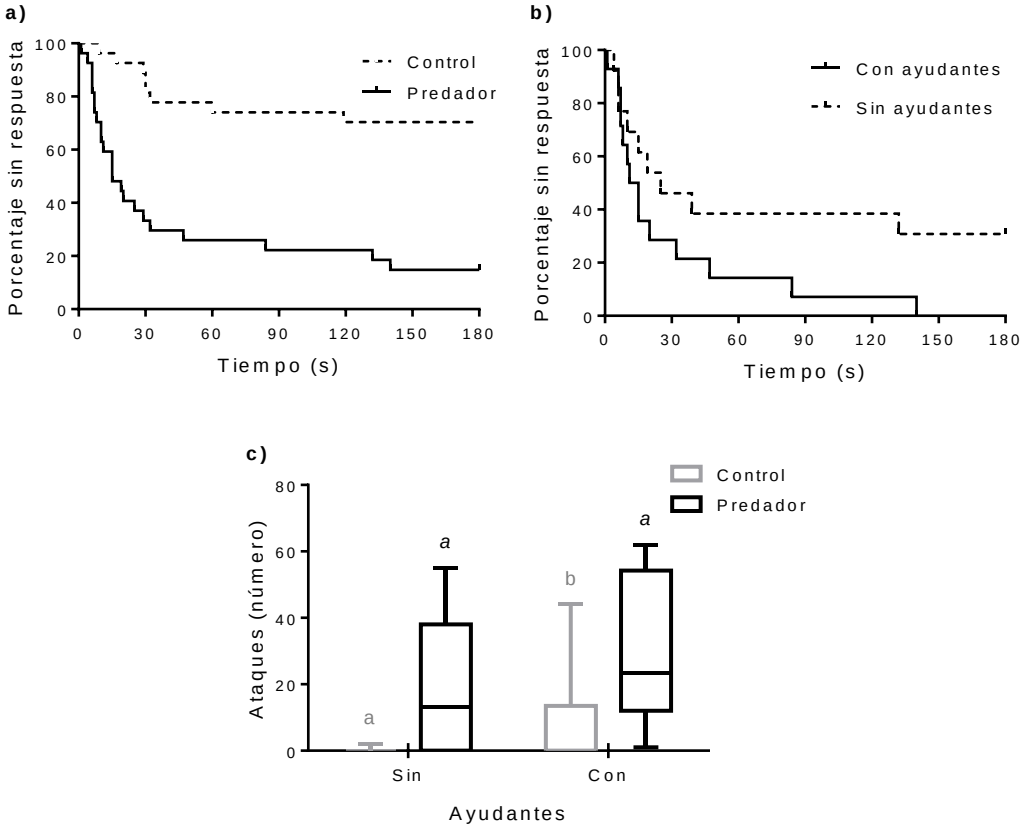

Figura 5.2: Respuesta grupal de los Músicos en los nidos experimentales. a) Curvas de Kaplan-Meyer representando el porcentaje de nidos donde los adultos no responden a lo largo del ensayo, según el modelo presentado (línea llena: predador, línea punteada: control) , b) curvas de Kaplan-Meyer representando el porcentaje de nidos donde los adultos no responden al tratamiento con el predador a lo largo del experimento según la presencia de ayudantes, c) gráfico de cajas del número total de ataques dirigidos al modelo en cada tratamiento en nidos con o sin ayudantes. Letras diferentes indican diferencias significativas en las comparaciones *a posteriori* de Tukey dentro de cada tratamiento según la presencia de ayudantes en el nido. ($P < 0,05$).

Respuesta antipredatoria a nivel individual

En los nidos con cría cooperativa, hubo diferencias en la latencia en la respuesta según el rol dentro del grupo (Figura 5.3a, Tabla 5.2). Las comparaciones *a posteriori* indican que la latencia fue menor para las hembras reproductoras que para los ayudantes (estadístico de Tukey = 3,34, P = 0,002), pero no se detectaron diferencias entre los machos y hembras reproductores (estadístico de Tukey = 1,57, P

= 0,260) ni entre los ayudantes y el macho reproductor (estadístico de Tukey = 1,95, *P* = 0,124). De manera similar, se observaron diferencias entre los miembros del grupo en la intensidad de la respuesta (Figura 5.3b, Tabla 5.2). Nuevamente, las comparaciones *a posteriori* detectaron un mayor número de ataques por parte de las hembras reproductoras en comparación con los ayudantes (estadístico de Tukey = 2,98, *P* = 0,01), pero no entre los individuos reproductores (estadístico de Tukey = 0,93, *P* = 0,36) ni entre los ayudantes y el macho reproductor (estadístico de Tukey = 2,07, *P* = 0,11). Por su parte, en los nidos con cuidado no cooperativo no se registraron diferencias significativas entre machos y hembras en la latencia en la respuesta ni en el número de ataques a nivel individual (Figuras 5.3 c, d, Tabla 5.2). El tamaño de nidada no tuvo efecto sobre la respuesta en ninguno de los modelos analizados (Tabla 5.2).

Tabla 5.2: Resultados de la respuesta a nivel individual (MR = macho reproductor, Ay = ayudante; "hembra reproductora" tomó valor de referencia) al modelo "predador" (n = 27 nidos) en nidos con y sin ayudantes. Se indican estimadores con su error estándar, estadístico y *P* para cada parámetro incluido en los modelos de latencia en la respuesta y número de ataques en función del rol dentro del grupo. El tamaño de nidada fue incluido como covariable en todos los modelos.

	Variable respuesta	**Parámetro**	**Est ± EE**	**Z**	***P***
Nidos con ayudantes (n=14)	Latencia	Rol (MR)	-0,772 ± 0,542	-1,423	0,155
		Rol (Ay)	-1,975 ± 0,139	-2,833	**0,005**
	Número de ataques	Intercepto	2,455 ± 0,911	2,695	**0,007**
		Rol (MR)	-0,710 ± 0,399	-1,779	0,075
		Rol (Ay)	-1,574 ± 0,480	-3,278	**0,003**
		Tamaño de nidada	0,078 ± 0,212	0,370	0,712
Nidos sin ayudantes (n=13)	Latencia	Rol (MR)	0,571 ± 0,443	-1,263	0,207
	Número de ataques	Intercepto	3,578 ± 2,417	1,481	0,139
		Rol (MR)	0,274 ± 0,857	0,321	0,784
		Tamaño de nidada	-0,405 ± 0,635	-0,638	0,52

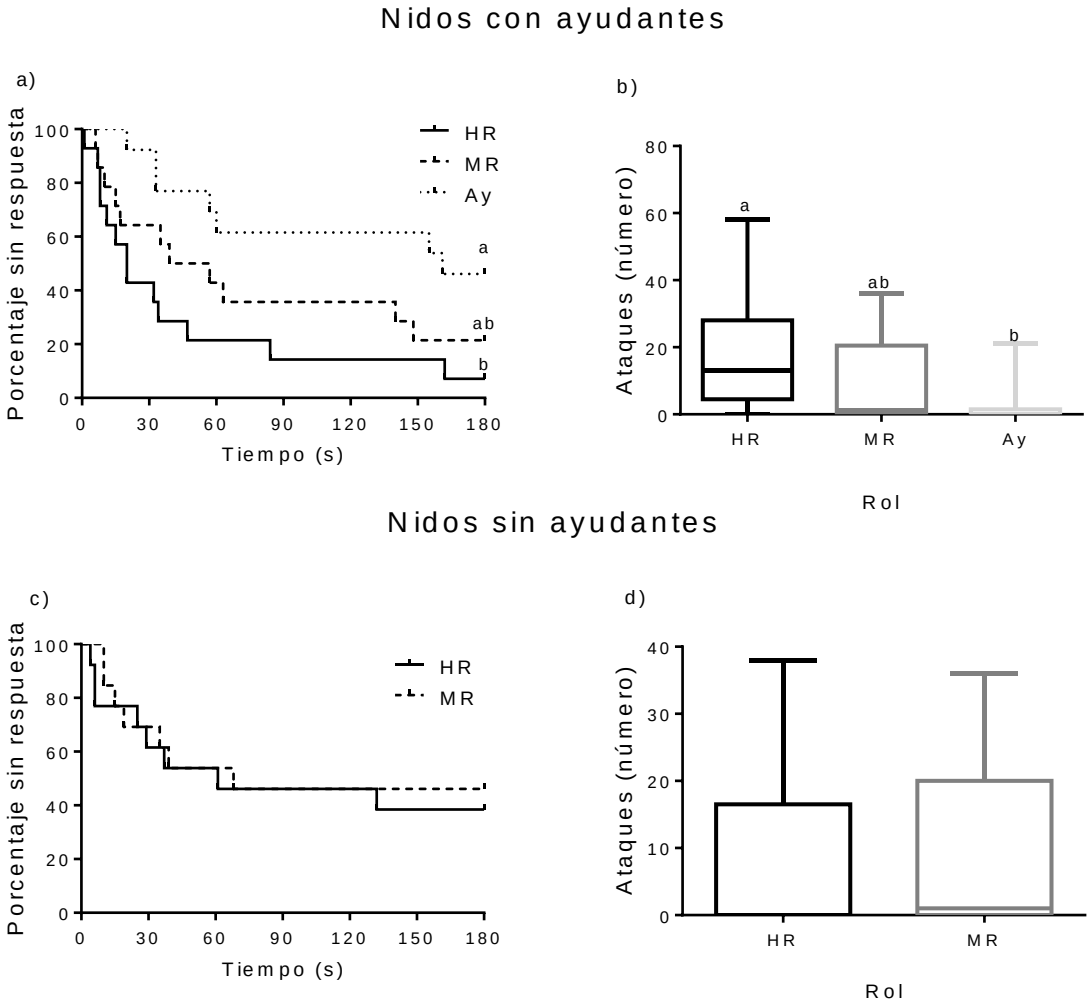

Figura 5.3: Respuesta individual frente a la presentación del modelo de predador en nidos con ayudantes (n = 14) o sin ayudantes (n = 13) según el rol dentro del grupo (HR: hembra reproductora, MR: macho reproductor y Ay: ayudante). a-c) Curvas de Kaplan-Meyer representando la latencia en la respuesta como porcentaje de nidos donde los individuos no responden en función del tiempo que duró el ensayo. b-d) Gráficos de cajas del número de ataques efectuados por cada miembro del grupo. Letras distintas indican diferencias significativas en las pruebas *a posteriori* de Tukey ($P < 0,05$).

Efecto de la cría cooperativa sobre la respuesta antipredatoria de los parentales

En los nidos con ayudantes las hembras reproductoras realizaron un mayor número de ataques hacia el modelo del predador que en nidos no asistidos, mientras que no se detectaron diferencias en el número de ataques realizado por los machos reproductores entre ambos tipos de nidos (Figura 5.4, Tabla 5.3).

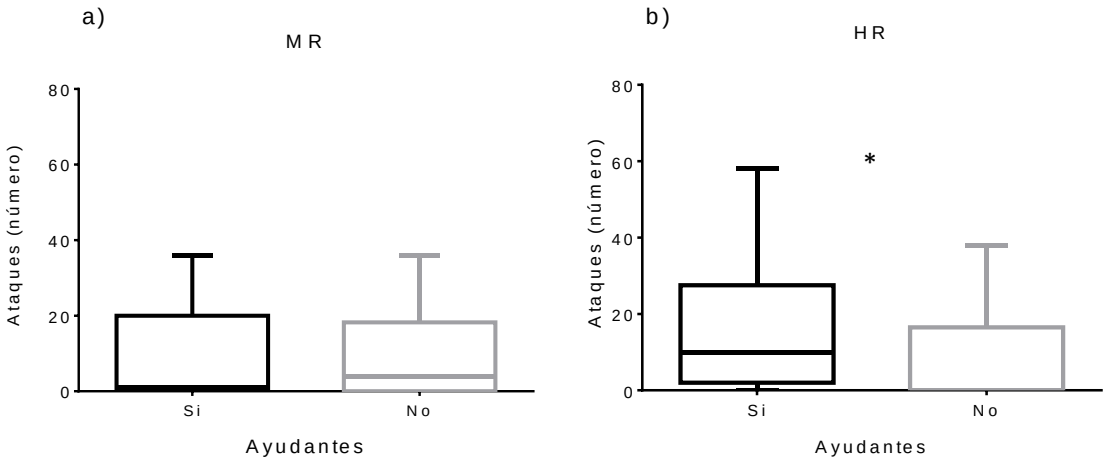

Figura 5.4: Gráfico de cajas del número de ataques hacia el modelo de predador realizados por a) los machos reproductores (MR) y b) las hembras reproductoras (HR) en nidos con y sin ayudantes. El asterisco indica diferencias significativas entre las categorías ($P < 0,05$).

Tabla 5.3: Resumen de los *GLMMs* para el número de ataques hacia el modelo de predador realizado por machos y hembras reproductores en función de la presencia o no de ayudantes en el nido. El tamaño de nidada fue incluido como covariable. Se indican los parámetros de cada modelo con sus correspondientes estimadores y significancia (en negrita los valores de $P < 0,05$) y la categoría "sin ayudantes" tomó el valor de referencia en el intercepto de ambos modelos.

Rol parental	Parámetro	Est ± EE	Z	P
Machos	Intercepto	2,178 ± 1,187	1,835	0,066
	Presencia de ayudantes (si)	0,167 ± 0,488	0,343	0,732
	Tamaño de nidada	0,008 ± 0,283	0,031	0,975
Hembras	Intercepto	1,497 ± 0,931	1,609	**<0,001**
	Presencia de ayudantes (si)	1,064 ± 0,468	2,273	**0,02**
	Tamaño de nidada	0,091 ± 0,210	0,436	0,663

Contribución al acicalado de los pichones

El comportamiento de acicalado fue realizado casi exclusivamente por la hembra reproductora, independientemente de la presencia de ayudantes en el nido (Figura 5.5), Se registró una excepción en nidos filmados con pichones de 8 días de edad, uno donde el macho reproductor estuvo acicalando el 25% del tiempo filmado. El caso donde más se registró acicalado de un ayudante fue de un 2% del tiempo filmado. En nidos con pichones de 4 días las hembras pasaron, en promedio, 9,8 ± 2,5 % y 8,7 ± 3,2 % del tiempo de filmación acicalando a los pichones en ausencia y presencia de ayudantes, respectivamente. En nidos con pichones de 8 días el patrón fue similar, con un porcentaje de tiempo acicalando del 11,2 ± 3,7 % en nidos con ayudantes y del 9,3 ± 3,5 % en los nidos no asistidos.

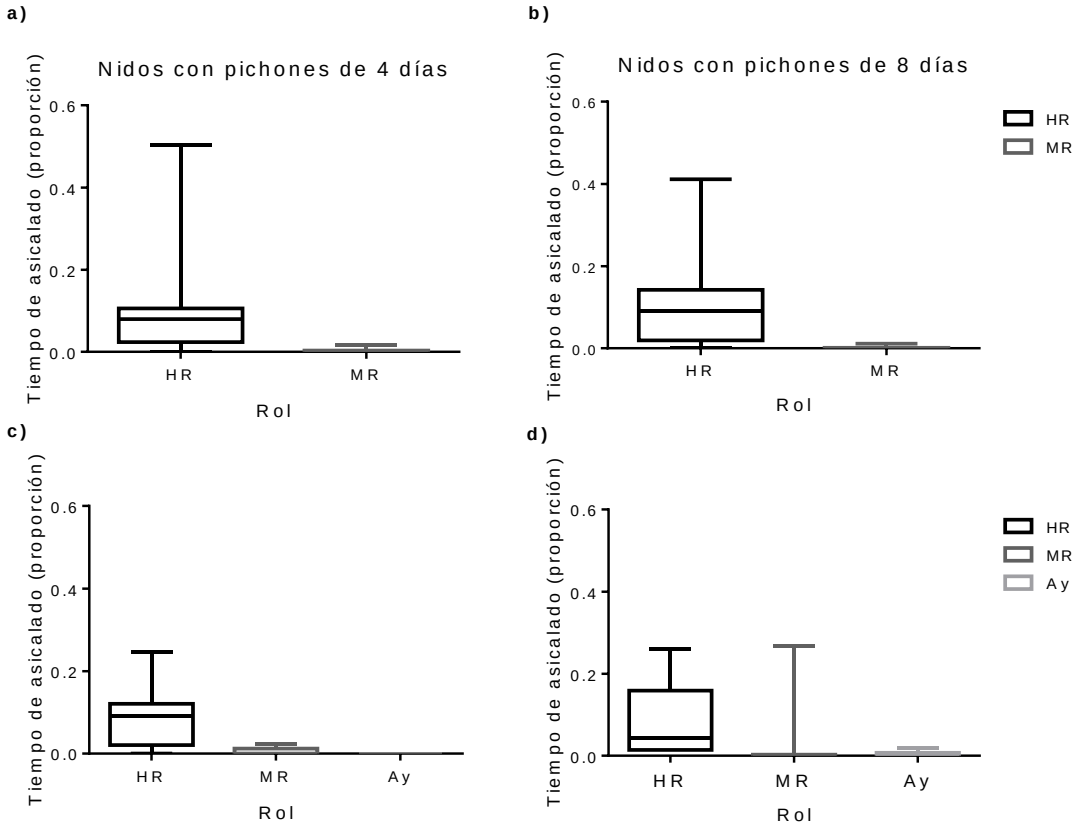

Figura 5.5: Gráficos de cajas de la proporción de tiempo que los individuos pasaron acicalando a los pichones en función de su rol dentro del grupo (HR = hembra reproductora, MR = macho reproductor, Ay = ayudante) sobre el total de tiempo de filmación. Los gráficos de la izquierda corresponden a nidadas de 4 días de edad sin ayudantes en el nido (a) y con ayudantes en el nido (c), mientras que los gráficos de la derecha corresponden a nidadas de 8 días de edad, sin ayudantes (b) y con ayudantes (d).

Discusión

En este Capítulo se evaluó la contribución individual a la defensa del nido a través de la medición de respuesta de reproductores y ayudantes frente a la manipulación experimental del riesgo de depredación. Los resultados del experimento confirmaron que los Músicos son capaces de reconocer una potencial amenaza para el nido y responder de manera diferencial, con mayor rapidez y agresividad frente al modelo de predador que frente a un especie control. A nivel grupal, se observó una respuesta más intensa en nidos con ayudantes que en los nidos no asistidos y una interacción

significativa entre la presencia de ayudantes y el tratamiento. La mayor agresividad hacia el modelo control en presencia de ayudantes sugiere que los grupos cooperativos podrían presentar un comportamiento más territorial en general, siendo más proclives a responder ante la presencia de intrusos aunque no representen una amenaza para el nido. La latencia en la respuesta al predador no estuvo asociada a la presencia de ayudantes. Esto podría atribuirse al hecho de que el modelo fue presentado a corta distancia del nido y, en la mayoría de los casos, los adultos se acercaron rápidamente a examinarlo independientemente de si se trataba de la pareja reproductiva sola o con ayudantes. Tampoco se observó una asociación significativa entre el nivel de respuesta y el número de pichones en el nido pese a que era de esperar un ajuste en el comportamiento anti-predatorio en función del valor reproductivo de la nidada (Montgomerie y Weatherhead 1988).

Los resultados contrastan con otros estudios donde sí se observó un efecto positivo de los ayudantes sobre la defensa del nido (Arnold et al. 2005, Griesser y Ekman 2005, Groenewoud et al. 2019). Una posibilidad es que exista un efecto compensatorio, donde uno o ambos individuos reproductores disminuyen su respuesta en los nidos asistidos (Hatchwell 1999, Heinsohn 2004). Sin embargo, el análisis de la respuesta a nivel individual no apoya esta idea. Por un lado, los ayudantes mostraron la menor participación en la respuesta, con una mayor latencia en aproximarse al predador y una menor frecuencia de ataques comparados con la hembra reproductora. El nivel de respuesta de los ayudantes fue menor también que el de los machos reproductores aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa, lo cual parecería deberse a una baja potencia del modelo. Por otro lado, no se encontraron evidencias de que los machos y hembras reproductores reduzcan su inversión en respuesta antipredatoria cuando son asistidos por ayudantes. Por el contrario, las hembras reproductoras en nidos con ayudantes mostraron una mayor intensidad en la respuesta que las hembras no asistidas. Este resultado fue inesperado, pero un

incremento en la contribución de los reproductores en los nidos asistidos ha sido reportado previamente en otras especies, en relación a la defensa del nido en *Acrocephalus sechellensis* (Groenewoud et al. 2019) y a la entrega de alimento en *Cyanopica cyanus* (Valencia et al. 2006). En el caso de *A. sechellensis*, se observó que frente a la simulación experimental de un mayor riesgo de depredación, machos y hembras dominantes atacaron más frecuentemente al predador cuando estuvieron en presencia de ayudantes subordinados que cuando estuvieron solos (Groenewoud et al. 2019). Los autores atribuyen esto a que los individuos podrían ser más proclives al riesgo de enfrentarse al depredador cuando cuentan con el apoyo del grupo (Groenewoud et al. 2019). Otra explicación posible para la mayor respuesta de las hembras de Músico en los nidos con ayudantes es que estas nidadas tengan un mayor valor reproductivo para las hembras reproductoras que las nidadas no asistidas. Por ejemplo, si los nidos con ayudantes tienen mayores chances de sobrevivir a la depredación (Capítulo 6), podría ser más beneficioso para la hembra incrementar su inversión parental en esa nidada que ahorrar esfuerzo para un evento reproductivo futuro (Lloyd et al. 2009).

Cabe señalar que los datos mostraron una gran variabilidad en la respuesta individual frente al predador dentro de los distintos roles. Esta variabilidad sugiere que otros factores no incluidos en el análisis afectan la respuesta hacia los modelos, oscureciendo o confundiendo la relación entre la presencia de ayudantes y la inversión parental. A futuro, incorporar información acerca de la condición física y edad de los individuos puede ayudar a entender mejor la variabilidad en la respuesta frente al riesgo de depredación y evaluar si ésta se relaciona con costos diferenciales del cuidado parental según el estatus dentro del grupo (Legge 2000, Ibañez-Álamo et al. 2015, Beaugeard et al. 2019). Si bien el experimento permitió cuantificar la respuesta frente al riesgo de depredación, los resultados muestran una “foto” del comportamiento de los reproductores y ayudantes, por lo que a futuro sería útil estudiar la contribución

de los ayudantes a la defensa del nido incorporando también las tareas de vigilancia y los comportamientos defensivos en distintas etapas del ciclo de nidificación. Esto permitiría determinar si los ayudantes desempeñan un papel más importante como centinelas que en la respuesta directa frente a los depredadores durante la etapa de pichones (Rojas Ripari, observación personal) y cuál es su contribución a la defensa de las crías después que estas salen del nido. La depredación es una de las principales causas de mortalidad en la etapa juvenil (Lloyd et al. 2009), y hay evidencias de que este puede ser un costo reproductivo sustancial para los Músicos. El seguimiento de juveniles de Músico instrumentados con radio-transmisores reveló que la depredación tanto por ofidios (*Philodrias* sp.) como por rapaces oportunistas (*Caracara plancus*) fue la principal causa de mortalidad en los primeros días fuera del nido (Rojas Ripari et al., datos no publicados). Es notable que el tamaño de los grupos sociales en el Músico suele aumentar durante la etapa juvenil por el reclutamiento de ayudantes adicionales (Fraga 1991, Ursino et al. 2011), y que los adultos ejercen una marcada vigilancia de los juveniles, respondiendo inmediatamente con llamadas de alarma y despliegues agresivos a cualquier intento de acercamiento al grupo (Rojas Ripari, observación personal). Cabe la posibilidad entonces de que la contribución de los ayudantes al cuidado de las crías sea más importante en esta etapa que mientras los pichones están en el nido.

Los resultados aquí presentados indican marcadas diferencias en la contribución al cuidado de las crías entre reproductores y ayudantes, con una baja contribución de estos últimos tanto en la respuesta anti-predatoria como en el aprovisionamiento del nido (Capítulo 4). Con respecto a los reproductores, no se detectaron diferencias entre los sexos en el nivel de respuesta al predador tanto en nidos sin ayudantes como en los nidos asistidos, aunque en estos últimos hubo una tendencia hacia un mayor número de ataques por parte de la hembra. La asimetría en la inversión es más pronunciada cuando se consideran otras actividades de cuidado

parental como el acicalado de los pichones, que fue realizado casi exclusivamente por la hembra reproductora. Este comportamiento es fundamental para reducir la incidencia de ectoparásitos como las larvas de *Philornis*, que pueden tener un impacto importante sobre el crecimiento y supervivencia de los pichones (Rabuffetti y Reboreda 2007, Segura y Reboreda 2007, Quiroga y Reboreda 2012), por lo tanto resulta llamativo que no haya una participación mayor del macho reproductor y los ayudantes en esta tarea. En especies como el Músico, donde sólo las hembras realizan el empolle de la nidada, son ellas las que están más expuestas a los ectoparásitos y patógenos presentes en el nido y, por lo tanto, las que más se benefician de la inversión en tareas de higiene. El patrón observado es consistente con otros estudios que muestran que la inversión en dichas tareas suele estar fuertemente sesgada hacia el sexo que empolla (Pacheco et al. 2008, Chazarreta et al. 2011, Guigueno y Sealy 2012, Bolopo et al. 2015). Bolopo et al. (2015) demostraron recientemente un compromiso entre la inversión en limpieza y aprovisionamiento del nido en *Corvus corone corone*. En este estudio, suplementaron con alimento a grupos sociales y encontraron que las hembras redujeron el tiempo dedicado al acicalado de los pichones y a la higiene del nido cuando tuvieron acceso a más alimento, lo cual correlacionó a su vez con una mayor tasa de entrega de alimento (Bolopo et al. 2015). Los autores proponen que los individuos suplementados estarían sujetos a un menor riesgo de transmisión de parásitos dada su mejor condición física, lo que le permitiría a las hembras destinar menos esfuerzo a la higiene en favor de otras actividades (Bolopo et al. 2015). Este tipo de compromisos energéticos entre las tareas de cuidado parental revelan un panorama complejo respecto de las interacciones dentro de los grupos sociales, donde distintos factores ecológicos pueden afectar la toma de decisiones sobre el cuidado de las crías (Groenewoud et al. 2019, Íbañez-Álamo et al. 2015).

Los resultados de este capítulo aportan información original acerca de la contribución relativa de reproductores y ayudantes a la defensa del nido y el acicalado de los pichones, dos importantes tareas de cuidado parental que han recibido poca atención en los estudios sobre cría cooperativa. Este enfoque más integrado es fundamental para responder la cuestión de cómo y cuánto ayudan los ayudantes y qué efecto tiene la cría cooperativa sobre la inversión parental. Claramente, son necesarios más trabajos experimentales que manipulen factores como la disponibilidad de alimento, el riesgo de depredación y los costos del cuidado parental para comprender mejor los patrones observados en el Músico, donde los ayudantes muestran una baja contribución relativa y no tienen un efecto claro sobre la inversión de los reproductores, pese a estar generalmente emparentados con los beneficiarios de la ayuda.

Referencias bibliográficas

Alexander R.D. (1974) The evolution of social behavior. *Annual Review of Ecology and Systematics 5(1)* 325–383.

Arendt W.J. (1985) *Philornis* ectoparasitism of Pearly-Eyed Thrashers. I. Impact on Growth and Development of Nestlings. *Auk* 102(2) 270–280.

Arnold K.E., Owens I.P.F. y Goldizen A.W. (2005) Division of labour within cooperatively breeding groups. *Behaviour 142(11-12)* 1577–1590.

Barbosa P. y Castellanos I. (2005). Ecology of predator-prey interactions. *Oxford University Press.*

Bertram B.C.R. (1980). Vigilance and group size in Ostriches. *Animal Behaviour 28(1)* 278–286.

Bolopo D., Canestrari D., Marcos J.M., Baglione V. (2015). Nest sanitation in cooperatively breeding Carrion Crows. *Auk 132(3)* 604–612.

Canestrari D., Marcos J.M., Baglione V. (2009) Cooperative breeding in carrion crows reduces the rate of brood parasitism by Great Spotted Cuckoos. *Animal Behaviour 77(5)* 1337–1344.

Caro T. (2005) Antipredator defenses in birds and mammals. *University of Chicago Press*.

Carranza J, Polo, V., Valencia, J., Mateos, C. y de la Cruz, C. (2008). How should breeders react when aided by helpers?. *Animal Behaviour 75(4)* 1535-1542.

Conway C.J. y Martin T.E. (2000). Evolution of passerine incubation behavior: Influence of food, temperature, and nest predation. *Evolution 54(2)* 670–685.

Creel S. y Christianson D. (2008). Relationships between direct predation and risk effects. *Trends in Ecology and Evolution 23(4)* 194–201

De Mársico M.C. y Reboreda J.C. (2010). Brood parasitism increases mortality of Bay-winged Cowbird nests. *Condor 112(2)* 407–417.

Dillon K.G. y Conway C.J. (2018). Nest predation risk explains variation in avian clutch size. *Behavioral Ecology 29(2)* 301–311.

Doligez B. y Clobert J. (2003). Clutch size reduction as a response to increased nest predation rate in the Collared Flycatcher. *Ecology 84(10)* 2582–2588.

Dominguez M., Reboreda J.C. y Mahler B. (2015). Impact of Shiny Cowbird and botfly parasitism on the reproductive success of the globally endangered Yellow Cardinal *Gubernatrix cristata*. *Bird Conservation International 25(3)* 294–305.

Dudaniec R.Y. y Kleindorfer S. (2006). Effects of the parasitic flies of the genus *Philornis* (Diptera : Muscidae) on birds. *Emu 106(1)* 13–20.

Eggers S., Griesser M. y Ekman J. (2005). Predator-induced plasticity in nest visitation rates in the Siberian jay (*Perisoreus infaustus*). *Behavioral Ecology 16(1)* 309–315.

Feeney W.E., Medina I., Somveille M., Heinsohn R., Hall M.L., Mulder R.A., Stein J.A., Kilner R.M., Langmore N.E. (2013), Brood parasitism and the evolution of cooperative breeding in birds. *Science 342(6165)* 1506–1508.

Ferretti V., Llambías P.E. y Martin T.E. (2005). Life-history variation of a Neotropical thrush challenges food limitation theory. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences 272(1564)* 769–773.

Fessl B. y Tebbich S. (2002). *Philornis downsi* - A recently discovered parasite on the Galápagos archipelago - A threat for Darwin's finches? *Ibis 144(3)* 445–451.

Fontaine J.J. y Martin T.E. (2006). Parent birds assess nest predation risk and adjust their reproductive strategies. *Ecology Letters 9(4)* 428–434.

Fraga R.M. (1991). The social system of a communal breeder, the Bay-winged Cowbird *Molothrus badius*. *Ethology 89(3)* 195–210.

Fraga R.M. (1984). Bay-winged Cowbirds (*Molothrus badius*) remove ectoparasites from their brood parasites, the Screaming Cowbirds (*Molothrus rufoaxillaris*). *Biotropica 16(3)* 223–226.

Ghalambor C.K. y Martin T.E. (2001). Fecundity-survival trade-offs and parental risk-taking in birds. *Science 292(5516)* 494–497.

Griesser M. y Ekman J. (2005). Nepotistic mobbing behaviour in the Siberian Jay, *Perisoreus infaustus*. *Animal Behavior 69(2)* 345–352.

Groenewoud F., Frommen J.G., Josi D., Tanaka H., Jungwirth A. y Taborsky M. (2016). Predation risk drives social complexity in cooperative breeders. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 113(15) 4104–4109.

Groenewoud F., Kingma S.A., Bebbington K., Richardson D.S., Komdeur J. (2019). Experimentally induced antipredator responses are mediated by social and environmental factors. *Behavioral Ecology 30(4*) 986–992.

Hardin J.W. y Hilbe J.M. (2012). Generalized Linear Models and Extensions, Third Edition. Stata Press

Hatchwell B.J. (1999). Investment strategies of breeders in avian cooperative breeding systems. *American Naturalist 154(2)* 205–219.

Heinsohn R.G. (2009). Parental care, load-lightening, and costs. Koenig W. y Dickinson J. "*Ecology and Evolution of Cooperative Breeding in Birds*" Cambridge University Press, pp 67–80

Ibáñez-Álamo J.D., De Neve L., Roldán M., Rodríguez J.T., Colette C.O., Soler M. (2012). Corticosterone levels in host and parasite nestlings: Is brood parasitism a hormonal stressor? *Hormones and Behavior 61(4)* 590–597.

Ibáñez-Álamo J.D., Magrath R.D., Oteyza J.C., Chalfoun A.D., Haff T.M., Schmid K.A., Thomson R.L., Martin T.E. (2015). Nest predation research: Recent findings and future perspectives. *Journal of Ornithology 156(1)* 247–262.

Jahn-Eimermacher A., Lasarzik I. y Raber J. (2011). Statistical analysis of latency outcomes in behavioral experiments. *Behavioral Brain Research 221(1)* 271–275.

Koenig W.D., Dickinson J.L., Emlen S.T. (2016). Synthesis: Cooperative breeding in the twenty-first century. Koenig WD, Dickinson JL (Eds.) "*Cooperative Breeding in Vertebrates*" pp 353–374. Cambridge, UK: Cambridge University Press.

Komdeur J. (1999). Predation risk affects trade-off between nest guarding and foraging in Seychelles warblers. *Behavioral Ecology 10(6)* 648–658.

Lloyd P., Andrew Taylor W., Du Plessis M.A., Martin T.E. (2009). Females increase reproductive investment in response to helper-mediated improvements in allo-feeding, nest survival, nestling provisioning and post-fledging survival in the Karoo Scrub-robin *Cercotrichas coryphaeus*. *Journal of Avian Biology 40(4)* 400–411.

Martin T.E. (1995) Avian life history evolution in relation to nest sites, nest predation, and food. *Ecological Monographs 65(1)* 101–127.

Martin T.E. y Briskie J.V. (2009) Predation on dependent offspring: A review of the consequences for mean expression and phenotypic plasticity in avian life history traits. *Annals of the New York Academy of Sciences 1168(1)* 201–217.

Martin T.E., Lloyd P., Bosque C., Barton, D.C., Biancucci A.L., Cheng Y.R. y Ton R. (2011). Growth rate variation among passerine species in tropical and temperate sites: An

antagonistic interaction between parental food provisioning and nest predation risk. *Evolution 65(6)* 1607–1622.

R Core Team R (2017). R: A language and environment for statistical computing (Version 3.4.2). Vienna, Austria R Found Stat Comput

Rabuffetti F.L., Reboreda J.C. (2007). Early infestation by Bot Flies (*Philornis Seguyi*) decreases chick survival and nesting success in Chalk-browed Mockingbirds (*Mimus Saturninus*). *Auk 124(3)* 898–906.

Ricklefs R.E. (1969). Natural selection and the development of mortality rates in young birds. *Nature 223(5209)* 922–925.

Segura L.N., Reboreda J.C. (2011). Botfly parasitism effects on nestling growth and mortality of Red-crested Cardinals. *Wilson Journal of Ornithology 123(1)* 107–115.

Skutch A.F. (1985). Clutch size, nesting success, and predation on nests of Neotropical birds, reviewed. *Ornithological Monographs* 575–594.

Slagsvold T (1982) Clutch size variation in passerine birds: The nest predation hypothesis. *Oecologia* 54:159–169.

Ursino, C. A., De Mársico, M. C., y Reboreda, J. C. (2019). Brood parasitic nestlings benefit from unusual host defenses against botfly larvae (*Philornis* spp.). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, *73*(11), 146.

Zanette L.Y., White A.F., Allen M.C. y Clinchy M. (2011). Perceived predation risk reduces the number of offspring songbirds produce per year. *Science 334(6061)* 1398–1401.

Capítulo 6.
Beneficios de la cría cooperativa para los pichones de Músico y Tordo Pico Corto

Introducción

Una cuestión fundamental para comprender la evolución y el mantenimiento de la cría cooperativa es determinar qué beneficios tiene este comportamiento para los receptores de la ayuda. Este tema ha sido objeto de numerosos estudios a campo, incluyendo algunos de los trabajos a más largo plazo en ecología del comportamiento de poblaciones de aves silvestres (Cockburn 1998, Koenig y Dickinson 2004).

Entre los potenciales beneficios de la ayuda en el nido, los más estudiados han sido el incremento del éxito reproductivo actual o la supervivencia y éxito futuro de los reproductores (Emlen y Wrege 1991, Innes y Johnston 1996, Legge 2000, McGowan et al. 2003, Doerr y Doerr 2007, Cockburn et al. 2008, Kingma et al. 2010). También se ha visto que la ayuda en el nido resulta beneficiosa para las crías, en términos de mejorar la condición física con la que salen del nido (Dickinson et al.1996, Hatchwell 2004, Wright 1997, Wright et al. 2010) Las consecuencias en términos de *fitness* de estos beneficios nutricionales de los ayudantes aún están lejos de ser comprendidas, debido en gran parte a las dificultades metodológicas que implica seguir el destino de los juveniles desde que salen del nido hasta la adultez (Cox et al. 2014). Sin embargo, existe cada vez más evidencia de que las condiciones en el ambiente de crianza pueden tener efectos a mediano y largo plazo sobre la supervivencia o el éxito reproductivo (Brouwer et al. 2012, Caffrey 2000, Green y Cockburn 2001, Hatchwell 2004, Heinsohn 2004, Jones et al. 2016, Mumme et al. 2015). En particular, una revisión reciente sugiere que la masa corporal al dejar el nido y el largo del ala serían

determinantes de la supervivencia en la etapa juvenil, por estar dichas variables asociadas a la capacidad de escapar del ataque de potenciales predadores (Naef-Daenzer y Grüebler 2016).

Además, la cría cooperativa puede ser beneficiosa para los reproductores y su progenie reduciendo el riesgo de predación de los nidos, aunque este efecto no está del todo claro (Koenig et al. 2016). Hay estudios que muestran que los nidos asistidos son defendidos con mayor intensidad contra potenciales depredadores y esto se ve reflejado en una mayor tasa de supervivencia (Clarke y Fitzgerald 1994, Poiani 1997, Vera 2010). En otros casos, los ayudantes no participan en la defensa del nido, pero su aporte mejora el aprovisionamiento de los pichones, lo cual resulta en una reducción de los llamados de pedido de alimento que, a su vez, hace que el nido sea menos conspicuo y susceptible a ser depredado (Raihani et al. 2010; Rubenstein y Abbot 2017). Otro mecanismo por el cual la presencia de ayudantes puede favorecer la supervivencia del nido es que grupos más grandes presenten una mayor coordinación en la entrega de alimento, lo que disminuye la frecuencia de visitas al nido y, en consecuencia, las chances de ser detectados por un potencial predador (Raihani et al. 2010, Shen et al. 2016). Sin embargo, también existen casos donde la defensa cooperativa del nido no se refleja en una mayor supervivencia del mismo (Hatchwell et al. 2013, 2016).

El sistema Músico - Tordo Pico Corto provee un interesante modelo para explorar estas cuestiones. La presencia de un pichón parásito en la nidada genera un ambiente desfavorable para los pichones del hospedador porque implica una mayor competencia por el alimento (Lichtenstein y Deaborn 2004, Ursino 2016), pero también puede conducir a un mayor riesgo de depredación de los nidos debido a sus intensas vocalizaciones de pedido de alimento (Lichtenstein et al. 2004). Si los ayudantes contribuyen a generar un ambiente nutricional más favorable o mejoran la

supervivencia del nido se abre la posibilidad de que la cría cooperativa beneficie tanto a los pichones del hospedador como a los parásitos, algo que apenas ha sido investigado (Baglione y Canestrari 2016). Por el momento, no hay información consistente respecto de un posible efecto de los Músicos sobre la condición de los pichones y la supervivencia de los nidos. En el Capítulo 3 no se encontró una asociación entre la presencia de ayudantes y la tasa de aprovisionamiento del nido, pero estudios anteriores indican una asociación positiva entre el tamaño de grupo y las tasas de entrega (Fraga 1991, Ursino et al. 2011), y sugieren un ajuste en la contribución de los ayudantes en función de un incremento de la demanda de alimento en los nidos parasitados (Ursino et al. 2011). Por otro lado, no está claro tampoco si la presencia de ayudantes puede incidir en el éxito del nido. Un estudio preliminar no encontró una asociación entre supervivencia de nido y tamaño de grupo, pero esos resultados se basan en relativamente pocos nidos de una sola temporada reproductiva (Ursino, datos no publicados).

La pregunta que aborda este capítulo es si la cría cooperativa puede tener efectos beneficiosos en términos de mejorar el crecimiento de los pichones de Músico y Tordo Pico Corto y la supervivencia de los nidos. Si se plantea la pregunta desde el punto de vista del hospedador, la hipótesis a evaluar es que el aporte de los ayudantes mitiga la competencia dentro de la nidada, por lo tanto se espera que los pichones de Músico crezcan más rápido y alcancen una mayor masa corporal en los nidos asistidos. Desde el punto de vista del Tordo Pico Corto, la hipótesis es que los pichones parásitos podrían beneficiarse de una mayor disponibilidad de alimento en los nidos asistidos si son capaces de monopolizar esos recursos adicionales. Bajo esta hipótesis se espera que los pichones de Tordo Pico Corto crezcan más rápido y alcancen una mayor masa corporal en presencia de ayudantes. Por último, bajo la hipótesis de que la cría cooperativa reduce el riesgo de depredación de los nidos, se espera que los nidos con ayudantes tengan una mayor tasa de supervivencia que los

nidos no asistidos. De corroborarse este efecto, beneficiaría por igual a los pichones de Músico y Tordo Pico Corto.

Métodos

Efecto de los ayudantes sobre el crecimiento corporal de los pichones

Para examinar si los patrones de crecimiento de los pichones tanto parásitos como del hospedador se ven afectados por la cría cooperativa se utilizaron datos de masa corporal obtenidos durante las temporadas reproductivas 2015-2016, 2016-2017, 2017-2018 y 2018-2019 como se detalla en el Capítulo 2 (Metodología general). Durante esas cuatro temporadas todos los pichones de los nidos monitoreados fueron medidos (n = 84), pero sólo se incluyeron en el análisis aquellos para los cuales se registraron más de 7 mediciones (n = 56; 66%), a fin de obtener una estimación más precisa de los parámetros de crecimiento. Se realizó un ajuste del modelo de Richards utilizando la parametrización propuesta en Tjørve y Tjørve (2010) y Svagelj et al. (2019):

$$Y_{(edad)} = A \times \left((d-1)e^{\frac{(-K\times(edad-c))}{d^{\frac{d}{1-d}}}} \right)^{\frac{1}{1-d}}$$

donde *Y* es el valor de masa corporal (en g) en función de la edad (en días), *A* es la asíntota superior o masa corporal asintótica (en g), *k* es la tasa máxima de crecimiento (en días^{-1}), *c* es el punto de inflexión o edad de máximo crecimiento y *d* es un parámetro de forma tal que $d^{1/1-d}$ es el valor de crecimiento relativo en el punto de inflexión. El modelo fue ajustado por máxima verosimilitud usando el paquete *nlme* (Pinheiro et al. 2018) en R 3.4.2 (R Core Team 2017). El modelo no lineal incluyó la identidad de los pichones y del nido como factores aleatorios. Se realizó un modelo para cada especie por separado (hospedador y parásito) y se incorporaron como factores fijos la presencia de ayudantes en el nido, la cantidad de pichones parásitos y

el tamaño total de nidada sobre todos los parámetros, excepto el parámetro de forma *d* que se asumió constante para cada especie. La cantidad de parásitos fue analizada de manera categórica tomando valores entre 0 y 2 al analizar el crecimiento de los Músicos y 1-3 analizando el crecimiento de los Tordos Pico Corto (los nidos con 3 pichones parásitos corresponden a casos donde no eclosionaron Músicos). El ajuste y validez de los modelos fueron analizados mediante la exploración de los residuos y de la presencia de heterocedasticidad.

Efecto de los ayudantes sobre la supervivencia de la nidada

Para analizar la relación entre la cría cooperativa y la supervivencia de la nidada se tuvieron en cuenta sólo los nidos que llegaron a la etapa de pichones dado que la presencia de ayudantes es muy poco frecuente antes de la eclosión (<10%). En el análisis se tuvieron en cuenta sólo los nidos exitosos o depredados (n = 85). Los nidos que fracasaron por otras causas tales como tormentas severas, *3*mortalidad de los adultos o alta carga de ectoparásitos fueron excluidos (*n* = 3). Se registraron 12 casos de nidos exitosos donde algún pichón murió. En 3 casos fueron por fuerte (2 y 3 días) asincronía, dos fueron encontrados en el suelo debajo del nido, uno por enfermedad (manchas en la piel), otro atacado por ácaros y 5 casos donde no se logró establecer los motivos. Considerando que en la mitad de los eventos las causas puedan estar desligadas del cuidado parental, no fue evaluado el efecto de la cría cooperativa sobre la reducción de nidada.

Utilizando el paquete *glmmTMB* (Brooks et al. 2017) en R 3.4.2 (R Core Team 2017) se construyó un *GLMM* con distribución Bernoulli (enlace logit) con el éxito del nido como variable respuesta dicotómica (exitoso/depredado) e incorporando como variables explicativas la presencia de ayudantes, el número de pichones parásitos y la fecha de inicio del nido. Esta última fue definida como el día juliano en el que fue puesto el primer huevo del hospedador, a partir del primer registro de puesta de cada

temporada. La temporada reproductiva fue incluida como factor aleatorio. La validez y ajuste del modelo fueron evaluados mediante el estudio de los residuos observados *versus* predichos e indicadores de dispersión.

Resultados

Efecto de los ayudantes sobre el crecimiento de los pichones

El análisis del crecimiento de los pichones de Músico no mostró un efecto significativo de la presencia de ayudantes sobre los parámetros de crecimiento (Tabla 6.1). Los tres parámetros estuvieron afectados negativamente por el parasitismo de cría (Tabla 6.1, Figura 6.2a). En promedio, los pichones de Músico criados con dos pichones de Tordo Pico Corto sufrieron una reducción del 14% en su masa corporal asintótica en comparación con las nidadas de parasitismo simple (t-ratio = 3,84; P < 0,001) y sin parasitismo (t-ratio = 2,67; P = 0,02). No se registraron diferencias en nidadas con parasitismo simple o sin pichones de Tordo (t-ratio = 0,009; P = 1). También se registró una mayor tasa de crecimiento máximo (0 vs 1: t-ratio = -1,59 P = 0,25; 1 vs 2: t-ratio = -0,01 P = 0,03; 2 vs 0: t-ratio = -0,01 P = 0,008) y menor edad en punto de inflexión en nidos con dos pichones de tordo (0 vs 1: t-ratio = -1,59 P = 0,25; 1 vs 2: t-ratio = -1,59 P = 0,25; 2 vs 0: t-ratio = -1,59 P = 0,025). El tamaño de nidada tuvo un efecto negativo significativo sobre la tasa de máximo crecimiento (Tabla 6.1). En el modelado del crecimiento de los pichones de Tordo Pico Corto, ninguna de las variables explicativas incluidas en el modelo tuvo efecto significativo sobre los parámetros de crecimiento (Tabla 6.2).

Tabla 6.1: Resumen de los modelos para evaluar el efecto de la presencia de ayudantes sobre el crecimiento de los pichones de Músico (n = 107). Para cada parámetro de la curva de crecimiento se indican los coeficientes estimados por el modelo con su correspondiente error estándar (Intercepto). A = masa asintótica (en g), K = tasa máxima de crecimiento (en días^{-1}), c = edad en el punto de inflexión (en días), d = parámetro de forma (constante = 2,09 ± 0,16). En las columnas se muestran los coeficientes y error estándar para cada variable y co-variable explicativa incluida en el modelo. Las categorías "sin ayudantes" y "0 pichones parásitos" fueron tomadas como niveles de referencia. Los términos significativos están resaltados en negrita ($P < 0.05$).

Parámetro de crecimiento	Intercepto	Presencia de ayudantes (si)	Número de parásitos		Tamaño de nidada
			1 pichón	2 pichones	
A	**35,9 ± 3,1**	-0,14 ± 1,23	-0,02±1,72	**-5,70 ± 2,15**	0,31 ± 0,67
K	**0,13 ± 0,01**	-0,003 ± 0,003	0,007±0,006	**0,018 ± 0,006**	**-0,004 ± 0,002**
c	**5,04 ± 0,41**	0,014 ± 0,16	-0,048±0,204	**-0,76 ± 0,29**	0,002 ± 0,108

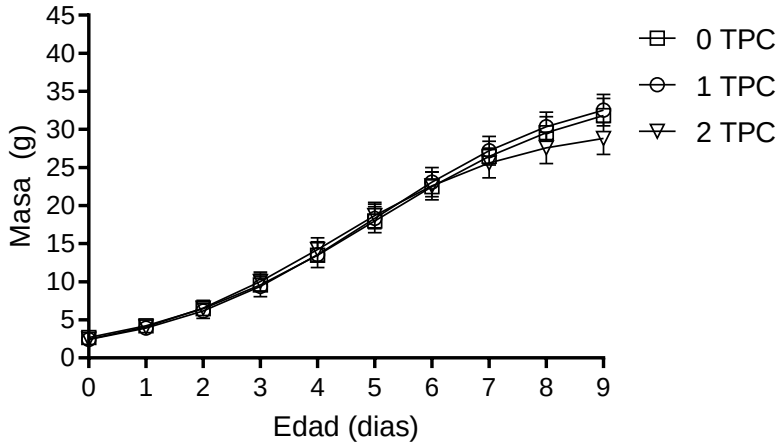

Figura 6.1: Curvas de crecimiento estimadas para los pichones de músico en nidos parasitados con 0-2 pichones de Tordo Pico Corto (TPC). Los puntos de cada curva representan la media ± desvío estándar de la masa corporal.

Tabla 6.2: Resumen de los modelos para evaluar el efecto de la presencia de ayudantes sobre el crecimiento de los pichones de Tordo Pico Corto (n = 47). Para cada parámetro de la curva de crecimiento se indican los coeficientes estimados por el modelo con su correspondiente error estándar (Intercepto). A = masa asintótica (en g), K = tasa máxima de crecimiento (en días^{-1}), c = edad en el punto de inflexión (en días), d = parámetro de forma (constante = 2,56 ± 0,24). En las columnas se muestran los coeficientes y error estándar para cada variable y covariable explicativa incluida en el modelo. Las categorías "sin ayudantes" y "1 pichones parásito" fueron tomadas como niveles de referencia. Los términos significativos están resaltados en negrita ($P < 0.05$).

Parámetro de crecimiento	Intercepto	Presencia de ayudantes (si)	Número de parásitos		Tamaño de nidada
			2 pichones	3 pichones	
A	39,9 ± 4,0	-2,22 ± 1,66	-0,02±1,72	-5,57 ± 3,51	0,14 ± 0,89
K	0,16 ± 0,01	-0,006 ± 0,005	0,003±0,006	-0,012 ± 0,009	-0,003 ± 0,003
c	5,04 ± 0,41	0,014 ± 0,16	-0,06±0,19	-0,46 ± 0,36	0,033 ± 0,091

Efecto de los ayudantes sobre la supervivencia del nido

De los 84 nidos que alcanzaron lograron tener pichones de más de 4 días y fueron incluidos en el análisis, 25 (28%) fueron depredados (Tabla 6.3). De estos, 6 tuvieron ayudantes y 19 cuidado no cooperativo. Se encontró una asociación negativa entre la probabilidad de que el nido sea depredado y la presencia de ayudantes, mientras que el número de pichones parásitos, el tamaño de nidada y la fecha de inicio del nido no estuvieron asociados significativamente al riesgo de depredación (Tabla 6.4).

Tabla 6.3: Detalle de la muestra usada para el análisis de supervivencia de nidos. Se muestra el número de nidos depredados y exitosos según tuvieron o no ayudantes, desglosados por temporada reproductiva.

Temporada reproductiva	**Nidos con ayudantes**		**Nidos sin ayudantes**		***Total***
	Depredados	**Exitosos**	**Depredados**	**Exitosos**	
2015-2016	1	8	4	8	21
2016-2017	2	9	1	7	19
2017-2018	1	11	5	7	24
2018-2019	2	5	9	8	24
Total	6	33	19	30	84

Tabla 6.4: Resumen del *GLMM* para evaluar el efecto de la presencia de ayudantes sobre la y significancia. La categoría “sin ayudantes” tomó el valor de referencia en el intercepto . Los valores supervivencia del nido. Se indica el estimador para cada término del modelo con su error estándar, estadístico significativos se resaltan en negrita ($P < 0.05$).

Parámetro del modelo	**Est ± EE**	**Z**	***P***
Intercepto	0,396 ± 1,072	0,369	0,712
Presencia de ayudantes (si)	-1,16 ± 0,55	-2,13	**0,036**
Número de pichones parásitos	-0,092 ± 0,329	-0,279	0,781
Tamaño de nidada	-0,061 ± 0,223	-0,273	0,784
Fecha de inicio del nido	-0,013± 0,016	-0,819	0,413

Discusión

Los resultados presentados en este capítulo no apoyan la idea de que la cría cooperativa tenga beneficios nutricionales para los pichones, tanto de Músico como de Tordo Pico Corto, dado que no se encontró una asociación entre la presencia de ayudantes y el crecimiento y condición física de las crías. La ausencia de un efecto de los ayudantes sobre el crecimiento es consistente con los datos obtenidos en el Capítulo 4, donde se vio que el aporte de los ayudantes al aprovisionamiento no tiene

un efecto significativo sobre la tasa de entrega total y tampoco contribuye a hacer más equitativa la distribución del alimento dentro de la nidada. Algo parecido se observó en un estudio previo controlando el tamaño y composición de las nidadas, donde la tasa de entrega y el crecimiento de los pichones no estuvieron asociados al tamaño de grupo (Ursino 2016). Una posible explicación para estos resultados negativos es que la ayuda en el nido sea flexible, y los ayudantes sólo realicen un aporte sustancial al aprovisionamiento, con un potencial efecto positivo sobre el crecimiento de los pichones, cuando la demanda de la nidada excede un cierto umbral (Reyer y Westertwerp 1985). Pese a que en este trabajo de tesis se intentó generar una situación de alta demanda armando nidadas de 4 pichones de Músico y 2 de Tordo Pico Corto, las fallas en la eclosión y pérdida de huevos ocurridas naturalmente, hicieron difícil controlar el tamaño final, que fue inferior al deseado. Sería muy útil, en el futuro, realizar estudios experimentales donde se manipule el tamaño de la nidada o los costos fisiológicos de la entrega de alimento para los reproductores (por ejemplo, colocándoles pequeñas pesas para disminuir la performance de la propia alimentación), a fin de evaluar si la contribución de los ayudantes hace una diferencia en condiciones de alta demanda de esfuerzo parental.

Por otra parte, se encontró que los pichones de Músico crecen igualmente bien en nidadas no parasitadas o con parasitismo simple de Tordo Pico Corto, pero alcanzan una masa corporal menor cuando conviven con dos pichones parásitos. Esta asociación negativa entre la masa corporal y la intensidad de parasitismo no había sido detectada previamente (De Mársico y Reboreda 2014). Es probable que la discrepancia se deba a los métodos de análisis usados en esta tesis, que permitieron obtener estimaciones más precisas de los parámetros de crecimiento. Queda por investigar a futuro si abandonar el nido con una masa corporal menor tiene consecuencias para el *fitness* de los Músicos, como sugieren estudios en otras especies (Naef-Daenzer y Grüebler 2016), o si las diferencias pueden ser

compensadas durante la etapa juvenil, quizás incluso por el aporte de los ayudantes en esa etapa.

Los datos obtenidos sugieren que la presencia de ayudantes podría tener un efecto sobre la supervivencia de los nidos frente a la depredación. En el Capítulo 5 no se encontró un aporte significativo de los ayudantes en la defensa activa frente a un potencial depredador, pero no se puede descartar que la cría cooperativa esté asociada a niveles más altos de vigilancia (Rojas Ripari, observación personal). Alternativamente, la asociación encontrada podría deberse a un efecto confundido de otras variables que influyen en el riesgo de depredación y pueden correlacionar con el tamaño de grupo. La calidad del territorio puede incidir en el riesgo de depredación si una mayor disponibilidad de recursos permite a los individuos saciar la demanda de alimento sin afectar los niveles de vigilancia. Siguiendo con esta idea, una asociación positiva entre la presencia de ayudantes y la supervivencia de los nidos podría surgir no por un efecto de los ayudantes en sí, sino como consecuencia de que los grupos reproductivos con ayudantes ocupan territorios de mejor calidad (Ridley, 2012) o las parejas en sitios subóptimos reclutan menos ayudantes (Mumme et al. 2015, Fitzpatrick y Bowman 2016). Investigar la relación entre cría cooperativa y supervivencia de nidos teniendo en cuenta la calidad del territorio y las características físicas del sitio de nidificación puede ayudar a separar el efecto de la ayuda en el nido de otras variables (e.g. Groenewoud et al. 2019).

El hecho de que la presencia de ayudantes esté relacionada con una mayor supervivencia de los nidos revela un posible beneficio de la cría cooperativa para el Tordo Pico Corto (Feeney et al. 2013, Baglione y Canestrari 2017, Wells y Barker 2017). Es interesante señalar que el Tordo Pico Corto utiliza como hospedadores secundarios a otros ictéridos con cría cooperativa (Mermoz y Fernández 2003, Di Giacomo y Reboreda 2015). Lamentablemente, para estos hospedadores hay escasa

información acerca de los posibles efectos de los ayudantes sobre los reproductores, las crías y la supervivencia de los nidos. Investigar las interacciones entre cría cooperativa y parasitismo de cría en estos otros hospedadores permitiría comprender mejor la evolución de estos sistemas (Wells y Barker 2017).

Referencias bibliográficas:

Baglione V., Canestrari D., Chiarati E., Vera R., y Marcos J. M. (2010). Lazy group members are substitute helpers in Carrion Crows. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 277(1698),* 3275-3282.

Baglione V. y Canestrari D. (2016). Carrion Crows: Family living and helping in a flexible social system. Koenig W.D. y Dickinson J.L. (Eds.) "*Cooperative Breeding in Vertebrates"* pp: 97–114. Cambridge, UK: Cambridge University Press.

Brooks M., Kristensen K., Benthem K., Magnusson A., Berg C., Nielsen A., Skaug H. J. Mächler M. y Bolker B. (2017). glmmTMB balances speed and flexibility among ackages for zero-inflated generalized linear mixed modeling. *The R Journal*, *9*(2), 378.

Brouwer L., Richardson D.S. y Komdeur J. (2012) Helpers at the nest improve late-life offspring performance: Evidence from a long-term study and a cross-foster experiment. *PLoS One, 7(4),* 16–20.

Caffrey C. (2000). Correlates of Reproductive Success in Cooperatively Breeding Western American Crows: If Helpers Help, It's Not by Much. *Condor* 102(2):333–41.

Clarke M.F. y Fitzgerald, G. F. (1994). Spatial-organization of the cooperatively reeding Bell Miner *Manorina melanophrys*. *Emu*, *94*(2), 96-105.

Cockburn A. 1998. Evolution of Helping Behavior in Cooperatively Breeding Birds. *Annual Review of Ecology and Systematics* 29(1):141–77.

Cockburn A., Sims R.A., Osmond H.L., Green D.J., Double M.J., and Raoul A. Mulder. 2008. Can We Measure the Benefits of Help in Cooperatively Breeding Birds: The Case of Superb Fairy-Wrens *Malurus Cyaneus*? *Journal of Animal Ecology* 77(3):430–38.

De Mársico M.C. y Reboreda J.C. (2008). Differential reproductive success favours strong host preference in a highly specialized brood parasite. *Proceedings. Biological Sciences: The Royal Society*, *275*(1650), 2499–2506.

De Mársico M.C. y Reboreda, J. C. (2014). High frequency but low impact of brood parasitism by the specialist Screaming Cowbird on its primary host, the Baywing. *Emu*, *114*(4), 309–316.

Di Giacomo A.G. y Reboreda J.C. (2015). Reproductive success of the specialist brood parasite Screaming Cowbird in an alternative host, the Chopi Blackbird. *Auk*, *132*(1), 16–24.

Dickinson J.L., Koenig W.D., y Pitelka F.A. (1996). Fitness consequences of helping behavior in the western bluebird. *Behavioral Ecology*, *7*(2), 168–177.

Dickinson J.L. y Hatchwell B.J. (2004). Fitness consequences of helping. Koenig W.D. Dickinson J.L. (Eds.). In *Ecology and Evolution of Cooperative Breeding in Birds* (pp. 48–66). Cambridge, UK: Cambridge University Press

Doerr E.D., y Doerr V.A.J. (2007). Positive effects of helpers on reproductive success in the brown treecreeper and the general importance of future benefits. *Journal of Animal Ecology*, 966–976.

Emlen S.T. y Wrege P.H. (1991). Breeding Biology of White-Fronted Bee-Eaters at Nakuru: The Influence of Helpers on Breeder Fitness. *The Journal of Animal Ecology*, *60*(1), 309.

Feeney W.E., Medina I., Somveille M., Heinsohn R., Hall M.L., Mulder R.A., Stein J.A., Kilner R.M., Langmore N.E. (2013), Brood parasitism and the evolution of cooperative breeding in birds. *Science 342(6165)* 1506–1508.

Fitzpatrick J.W. y Bowman R. (2016). Florida scrub-jays: Oversized territories and group defense in a fire-maintained habitat. Koenig W.D. y J.L. Dickinson (Eds.), *Cooperative Breeding in Vertebrates: Studies of Ecology, Evolution, and Behavior*, 77–96. Cambridge, UK: Cambridge University Press.

Fraga R.M. (1991). The social system of a communal creeder, the Bay-winged Cowbird *Molothrus badius*. *Ethology*, *89*(3), 195–210.

Green D. J. y Cockburn, A. (2001). Post-fledging care, philopatry and recruitment in brown thornbills. *Journal of Animal Ecology*, *70*(3), 505–514.

Groenewoud F., Kingma S.A., Bebbington K., Richardson D.S. y Komdeur J. (2019). Experimentally induced antipredator responses are mediated by social and environmental factors. *Behavioral Ecology*, *30*(4), 986–992.

Hatchwell B.J. (2004). Helpers increase long-term but not short-term productivity in cooperatively breeding long-tailed tits. *Behavioral Ecology*, *15*(1), 1–10.

Heinsohn R.G. (2004). Parental care, load-lightening, and costs. Koenig W.D. Dickinson J.L. (Eds.). *Ecology and Evolution of Cooperative Breeding in Birds*, pp. 67–80. Cambridge, UK: Cambridge University Press

Innes, K. E. y Johnston, R. E. (1996). Cooperative breeding in the white-throated magpie-jay. How do auxiliaries influence nesting success? *Animal Behaviour*, *51*(3), 519–533.

Jones T.M., Ward M.P., Benson T.J. y Brawn J. D. (2017). Variation in nestling body condition and wing development predict cause-specific mortality in fledgling Dickcissels. *Journal of Avian Biology, 48(3),* 439-447

Kingma S.A., Hall M.L., Arriero E. y Peters, A. (2010). Multiple benefits of cooperative breeding in purplecrowned fairy-wrens: A consequence of fidelity? *Journal of Animal Ecology*, *79*(4), 757–768.

Koenig W.D., Dickinson J.L.y Emlen S.T. (2016). Synthesis: Cooperative breeding in the twenty-first century. Koenig W.D. y Dickinson J.L. (Eds.), *Cooperative Breeding in Vertebrates,* pp. 353–374. Cambridge, UK: Cambridge University Press

Legge S. (2000). The effect of helpers on reproductive success the Laughing Kookaburra. *Journal of Animal Ecology*, *69*(4), 714–724.

Lenth R., Singmann H. y Love J. (2018). Emmeans: Estimated marginal means, aka least-squares means. *R Package Version*, *1*(1).

Lichtenstein G. y Dearborn D.C. (2004). Begging and short-term need in cowbird nestlings: How different are brood parasites. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, *56*(4), 352–359.

McGowan A., Hatchwell B.J. y Woodburn R.J.W. (2003). The effect of helping behaviour on the survival of juvenile and adult Long-tailed Yits *Aegithalos caudatus*. *Journal of Animal Ecology*, *72*(3), 491–499.

Mermoz, M. E., & Fernández, G. J. (2003). Breeding Success of a Specialist Brood Parasite, the Screaming Cowbird, Parasitizing an Alternative Host. *Condor*, *105*(1), 63–72.

Mumme R.L., Bowman R., Pruett M.S. Fitzpatrick J.W. (2015). Natal territory size, group size, and body mass affect lifetime fitness in the cooperatively breeding Florida Scrub-Jay*. Auk, 132(3),* 634-646.

Naef-Daenzer B. y Grüebler M.U. (2016). Post-fledging survival of altricial birds: ecological determinants and adaptation. *Journal of Field Ornithology* 87, 227–250.

Pinheiro J., Bates D., DebRoy S. y Sarkar D. (2018). R Core Team (2018). nlme: linear and nonlinear mixed effects models*. R package version 3.1-137*.

Poiani, A. (1997). Prey delivered to bell miner nestlings: Is there division of labour among nest attendants? *Emu*, *97*(1), 87–90.

R Core Team, R. (2017). R: A language and environment for statistical computing (Version 3.4. 2). *Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing*.

Raihani N.J., Nelson-Flower M.J., Moyes K., Browning L.E. y Ridley A.R. (2010). Synchronous provisioning increases brood survival in cooperatively breeding Pied Babblers. *Journal of Animal Ecology*, *79*(1), 44–52.

Reyer H.U. y Westerterp K. (1985). Parental energy expenditure: a proximate cause of helper recruitment in the Pied Kingfisher (*Ceryle rudis*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, *17*(4), 363–369.

Ridley A.R. (2012). Invading together: The benefits of coalition dispersal in a cooperative bird. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, *66*(1), 77–83.

Rubenstein, D. R., & Abbot, P. (2017). The evolution of social evolution. Bourke A.F (Ed.). "*Comparative Social Evolution"* pp. 1–18. Oxford University Press.

Stacey P.B. y Koenig W.D. Eds (1990). *Cooperative breeding in birds: long term studies of ecology and behaviour*. Cambridge University Press.

Svagelj W.S., Laich A. y Quintana F. (2019). Richards's equation and nonlinear mixed models applied to avian growth: why use them? *Journal of Avian Biology*, *50*(1), 1–8.

Tjørve E. y Tjørve K.M.C. (2010). A unified approach to the Richards-model family for use in growth analyses: Why we need only two model forms. *Journal of Theoretical Biology*, *267*(3), 417–425.

Ursino C.A., De Mársico M.C., Sued M., Farall A. y Reboreda, J. C. (2011). Brood parasitism disproportionately increases nest provisioning and helper recruitment in a cooperatively breeding bird. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, *65*(12), 2279–2286.

Ursino C.U. (2016). Efecto de dos parásitos de cría sobre el cuidado parental de una especie con cría cooperativa, el Músico (*Agelaioides badius*). Tesis de la Universidad de Buenos Aires.

Vera R. (2009). Grupos sociales cooperativos de Corneja Negra: agregaciones no territoriales, comportamiento de vigilancia y compromiso entre las necesidades de pollos y adultos en el aprovisionamiento al nido. *Etologuía: Boletín de La Sociedad Española de Etología*, *23*, 94–95.

Wells M.T. y Barker F.K. (2017). Big groups attract bad eggs: brood parasitism correlates with but does not cause cooperative breeding. *Animal Behaviour*, *133*, 47–56.

Wright J. (1997). Helping-at-the-nest in Arabian babblers: Signalling social status or sensible investment in chicks? *Animal Behaviour*, *54*(6), 1439–1448.

Wright J., McDonald P. G., Te Marvelde L., Kazem A.J.N. y Bishop C.M. (2010). Helping effort increases with relatedness in bell miners, but 'unrelated' helpers of both sexes still provide substantial care. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *277*(1680), 437–445

.

Capítulo 7.
Discusión general

El objetivo general de esta tesis fue estudiar el sistema de cría cooperativa en el Músico y examinar posibles interacciones entre la ayuda en el nido y el parasitismo de cría por el Tordo Pico Corto. El desarrollo de este trabajo no estuvo exento de dificultades, como las altas tasas de depredación de los nidos (~30% llegan a la etapa de pichones y ~20% tienen éxito) y algunos problemas logísticos durante la labor a campo. Pese a ello, fue posible obtener resultados novedosos y detallados acerca de la organización social del Músico, la contribución de los ayudantes al cuidado de las crías y posibles beneficios de la cría cooperativa para el hospedador y el parásito. En el presente capítulo se resumen las principales conclusiones y se proponen futuras vías de investigación para continuar indagando en este intrincado sistema.

Organización social

El análisis de las relaciones de parentesco dentro de los grupos sociales presentado en el Capítulo 3 mostró que los ayudantes son en su mayoría machos emparentados sólo con el macho reproductor o, en menor medida, con ambos miembros de la pareja reproductiva. Esto indica que la ayuda ocurre principalmente dentro de grupos familiares que podrían formarse por filopatría natal de los machos, o bien por el reclutamiento de ayudantes machos en nidos de parientes cercanos *a posteriori* de la dispersión. Esta organización social sugiere que la obtención de beneficios indirectos para los ayudantes juega un papel importante en el mantenimiento de la cría cooperativa en el Músico. Por otro lado, no se encontraron evidencias de que los ayudantes compartan la maternidad/paternidad de las crías con la pareja reproductiva, y sólo se detectó un caso de un ayudante que fue el padre

genético de un pichón en un nido distinto de aquel en el que ayudó. Estos resultados indican que los ayudantes no estarían obteniendo beneficios genéticos directos de la ayuda, y refuerzan la idea de que el sistema social del Músico está moldeado principalmente por la selección por parentesco. Sin embargo, es importante tener en cuenta que podrían existir otros beneficios directos (no reproductivos) que estén favoreciendo el comportamiento de ayuda en el nido. Examinar a futuro la ocurrencia de este tipo de beneficios sería de gran utilidad para explicar por qué a veces se reclutan ayudantes no emparentados con los receptores de la ayuda, y por qué la reproducción dentro de los grupos sociales está tan sesgada hacia la pareja reproductiva, tal como sugieren los datos presentados.

Cabe señalar que, si bien el predominio de la ayuda dentro de grupos familiares es consistente con la idea de que está operando la selección por parentesco, demostrar este mecanismo requiere determinar si la ayuda entre parientes surge de manera activa o es una consecuencia pasiva de una estructuración genética a fina escala en la población que favorece las interacciones entre parientes cercanos. Investigar la existencia de dicha estructuración genética fue uno de los objetivos de esta tesis, pero los resultados obtenidos no fueron concluyentes al respecto. Los análisis de autocorrelación espacial no mostraron una asociación significativa entre el grado de parentesco y la distancia geográfica para ninguno de los sexos, con lo cual no es posible afirmar o negar que se esté en presencia de una población viscosa. Los resultados negativos pueden deberse a que los rangos de distancia evaluados exceden las distancias a las que los Músicos dispersan o se desplazan entre temporadas reproductivas, o bien a que el análisis no tuvo la potencia suficiente para detectar patrones a nivel poblacional. Para resolver estas limitaciones, se podría repetir el análisis incluyendo datos de capturas y re-avistajes de individuos marcados, obtenidos como parte de otros proyectos de investigación sobre la población de estudio. Esto permitiría mejorar la precisión en las estimaciones de las distancias a las

que los individuos de ambos sexos dispersan del territorio natal o se desplazan entre temporadas reproductivas, e incrementar la potencia de la prueba para detectar una estructuración genética en caso de que esta exista.

¿Cuánto ayudan los ayudantes y qué efecto tienen sobre el esfuerzo parental?

Los resultados presentados en los Capítulos 4 y 5 aportan información original acerca de la contribución relativa de los ayudantes al cuidado parental. El enfoque utilizado, que incluyó las tareas de aprovisionamiento del nido, defensa frente a potenciales predadores e higiene de los pichones, permitió evaluar de manera más integral cómo y cuánto contribuyen los ayudantes. Los resultados muestran que el aporte de los ayudantes al aprovisionamiento fue relativamente bajo (menos del 20% de las entregas) y no hubo diferencias significativas en la tasa de entrega de alimento per cápita entre nidos con y sin ayudantes. Con respecto al aporte a la defensa del nido, el experimento de presentación de modelos también mostró una participación menor de los ayudantes en comparación con la pareja reproductiva. Sólo el 50% de los ayudantes se aproximó al modelo de predador y menos del 10% del total de ataques registrados fueron realizados por ayudantes. El sesgo en la contribución fue aún más marcado cuando se analizó el acicalado de los pichones, que fue realizado casi exclusivamente por la hembra reproductora.

El bajo aporte de los ayudantes al aprovisionamiento resulta llamativo si se tiene en cuenta que suelen estar emparentados en primer o segundo grado con las crías a las que asisten y, por lo tanto, podrían incrementar sus beneficios indirectos a través de su contribución. Una posible explicación puede ser que el aporte de los ayudantes sólo sea significativo bajo determinadas condiciones, como por ejemplo, ante una menor disponibilidad de alimento o un incremento en la demanda de la nidada más allá de un cierto umbral. Alternativamente, puede ser que la mínima ayuda en el nido esté funcionando como una señal para la pareja reproductiva, a modo de un

"pago de renta" que habilita a los ayudantes a permanecer en el territorio y, eventualmente, obtener beneficios directos tales como ganar dominancia dentro del grupo y acceder a un rol reproductivo. Más allá de cuál sea la motivación de los ayudantes, es de esperar que estos enfrenten un compromiso entre los beneficios de ayudar y los costos del cuidado parental que determine su nivel de inversión. Un próximo paso sería investigar estos posibles compromisos, por ejemplo, manipulando experimentalmente el tamaño de la nidada o los costos de forrajeo de los reproductores para evaluar cómo varía el esfuerzo de los ayudantes. Por su parte, la baja participación en la defensa del nido durante el experimento también puede estar reflejando un posible compromiso en la inversión de los ayudantes. Es posible también que exista cierta división de tareas dentro del grupo, y los ayudantes tengan una mayor participación en actividades como la vigilancia del nido, más que en la defensa activa frente a un potencial predador. Por último, estos resultados dejan abierta la pregunta de si los ayudantes no tendrán un rol más importante en el cuidado parental luego de que los pichones salen del nido.

Los resultados no mostraron una relación clara entre la presencia de ayudantes y el esfuerzo parental de los reproductores que evidencie efectos aditivos o compensatorios de la ayuda en el nido. Esto puede deberse a que la contribución relativa de los ayudantes fue tan baja que no tuvo incidencia sobre el esfuerzo de la pareja reproductiva. También es posible que el efecto de los ayudantes haya estado oscurecido, al menos en parte, por la varianza observada en los niveles de contribución individual. A futuro, sería conveniente evaluar este efecto con un mayor tamaño muestral y teniendo en cuenta otras fuentes de variación que pueden afectar los resultados, como por ejemplo, la disponibilidad de alimento en el territorio.

Beneficios de la cría cooperativa e interacciones con el parasitismo de cría

Uno de los objetivos de la tesis fue evaluar posibles beneficios de la cría cooperativa para los pichones de Músico y Tordo Pico Corto. Los resultados presentados en el Capítulo 6 no mostraron un efecto de los ayudantes sobre los parámetros de crecimiento de los pichones, lo cual es consistente con el hecho de que la tasa de entrega de alimento per cápita fue similar en nidos asistidos y con cuidado no cooperativo. En conjunto, estos resultados indican que, bajo las condiciones de este estudio, la pareja reproductiva fue capaz de satisfacer la demanda de alimento de las nidadas, independientemente de la presencia de ayudantes.

Una de las hipótesis centrales de esta tesis es que la presencia de ayudantes puede contribuir a mitigar los costos del parasitismo de cría para el hospedador. De acuerdo con esta idea, se esperaba que en los nidos asistidos la distribución del alimento entre los pichones parásitos y del hospedador fuese más equitativa, y que esto se viera reflejado en un mayor crecimiento y/o masa corporal de los pichones de Músico. Sin embargo, los resultados no mostraron una asociación consistente entre la presencia de ayudantes y la proporción de entregas recibida por los pichones de Músico *versus* los de tordo, y se vio que estos últimos lograron acaparar una mayor proporción de las entregas independientemente de la presencia de ayudantes. Por lo tanto, no hay evidencias de que los ayudantes estén limitando la competencia dentro de la nidada, al menos en las condiciones de los nidos usados para el análisis. Los resultados indican que la competencia es costosa para los pichones de Músico, quienes alcanzan una masa corporal significativamente menor cuando se crían junto a dos pichones parásitos, en comparación con nidadas con uno solo o ninguno. Sería interesante estudiar qué consecuencias tiene a corto y largo plazo para los Músicos salir del nido en peor condición, y si la presencia de ayudantes durante la etapa juvenil permite contrarrestar esos efectos negativos del parasitismo.

Un resultado novedoso e interesante de la tesis es que la supervivencia de los nidos frente a la depredación fue mayor en presencia de ayudantes. Es importante señalar que esta asociación no implica una relación causal. La mayor supervivencia podría deberse a un aumento en la defensa del nido a nivel grupal, como se encontró en el Capítulo 5, pero también podría estar relacionada con diferencias entre los nidos con y sin ayudantes en los patrones temporales de visitas al nido que pueden incidir en la detección del nido por parte de potenciales predadores. Tampoco se puede descartar que el efecto se deba a otros factores relacionados con el sitio de nidificación que correlación con el tamaño de grupo. Por ejemplo, retomando el concepto de “pago de renta”, si el comportamiento de ayuda es un precio a pagar para permanecer en territorios de mejor calidad, puede ser que los ayudantes tiendan a reclutarse donde es menos probable que ocurran eventos de predación. Esto puede estar definido por la calidad de los individuos reproductores o las características del sitio de nidificación. Separar estos efectos sería el siguiente paso para determinar si y cómo los ayudantes reducen el riesgo de depredación. Un corolario interesante de estos resultados es que la mayor supervivencia de los nidos asistidos representa un beneficio también para el Tordo Pico Corto. Seguir explorando esta interacción entre cría cooperativa y parasitismo de cría puede ayudar a entender mejor la evolución de estos sistemas y, en particular, por qué el parasitismo de Tordo Pico Corto está sesgado a hospedadores con cría cooperativa.

Síntesis

Esta tesis aporta un estudio detallado del sistema social del Músico, que brinda información novedosa acerca de la organización social que indica que la ayuda en el nido ocurre principalmente en grupos familiares. También presenta, por primera vez, datos acerca de la contribución individual al cuidado de las crías según el rol dentro del grupo social, mostrando un aporte relativamente bajo de los ayudantes y un sesgo

en la inversión parental hacia la hembra reproductora. La baja contribución de los ayudantes en los comportamientos medidos puede estar indicando que otros mecanismos además de la selección por parentesco están operando sobre el mantenimiento del sistema. La tesis representa un primer paso en el estudio de las interacciones entre la cría cooperativa y el parasitismo de cría, un tema sobre el que se ha llamado la atención recientemente y apenas ha sido investigado. Si bien no se encontraron evidencias de que la cría cooperativa reduzca los costos del parasitismo para el Músico, si se encontró una asociación positiva entre la presencia de ayudantes y el éxito de los nidos frente a la depredación, lo que podría redundar en beneficios tanto para el hospedador como para el parásito. Los resultados obtenidos abren nuevos interrogantes acerca del rol que pueden jugar los ayudantes una vez que los pichones dejan el nido y señalan futuras líneas de investigación que pueden ayudar a comprender mejor la evolución de sistemas sociales complejos, así como a promover el estudio de la cría cooperativa en especies de la región Neotropical.