



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
Facultad de Ciencias Exactas Y Naturales
Departamento de Ecología, Genética y Evolución

Comportamiento de pichones y juveniles de Tordo Renegrado
***Molothrus bonariensis* (icterinae, aves)**

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

Lic. Ignacio Crudele

Directora:

Dra. Vanina Dafne Fiorini

Consejero de estudios:

Dr. Juan Carlos Reboreda

Lugar de Trabajo:

Departamento de Ecología Genética Y Evolución –
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales – Universidad de Buenos Aires

Buenos Aires, 16 de Agosto 2023

Comportamiento de pichones y juveniles de Tordo Renegrado *Molothrus bonariensis* (icterinae, aves)

Resumen

Las aves parásitas de cría obligadas reconocen a sus conespecíficos, a pesar de ser criadas exclusivamente por heteroespecíficos. Para el grupo de los tordos americanos (género *Molothrus*), la hipótesis de la contraseña propone que los juveniles identifican una vocalización innata producida por los adultos (chatter) que inicia el aprendizaje del reconocimiento de conespecíficos. Mediante un experimento de playbacks con pichones en el nido y un experimento con juveniles en cautiverio se puso a prueba la hipótesis de la contraseña en el tordo renegrado (*Molothrus bonariensis*). Además, mediante el uso de radiotelemetría se estudió el comportamiento de los juveniles parásitos en el territorio natal y se estimó su supervivencia, que fue del 8-13 % y su edad de dispersión, que fue de 35-39 días. Los resultados mostraron que los pichones parásitos criados por la calandria grande (*Mimus saturninus*) respondieron preferencialmente (pidiendo alimento) al chatter respecto a las vocalizaciones de heteroespecíficos. Además, en el experimento con juveniles se determinó que los mismos prefirieron durante el testeo al modelo que había estado asociado al chatter durante el entrenamiento, sin importar si este era un modelo con o heteroespecífico respecto al modelo asociado a vocalizaciones de heteroespecíficos, apoyando la hipótesis de la contraseña.

Palabras claves: Tordo renegrado, reconocimiento de conespecíficos, password hipótesis, radiotelemetría, parásito de cría

Behavior of nestlings and juveniles of shiny cowbird *Molothrus bonariensis*

(Icterinae, Aves)

Abstract

Obligate brood parasitic birds recognize their conspecifics, despite being exclusively raised by heterospecifics. For the american cowbird group (genus *Molothrus*), the password hypothesis proposes that juveniles identify an innate vocalization produced by adults (chatter-call) that starts the learning of conspecific recognition. Through a playback experiment with chicks in the nest and an experiment with captive juveniles, the password hypothesis was tested in the shiny cowbird (*Molothrus bonariensis*). In addition, through the use of radiotelemetry, the behavior of the juvenile parasites in the natal territory was studied and there were estimated the survival in 8-13 %, and the dispersal age, in 35-39 days. The results showed that the parasitic chicks reared by chalk-browed mockingbird (*Mimus saturninus*) responded preferentially (begging) to chatter-call with respect to heterospecific vocalizations. In addition, in the experiment with juveniles it was determined that during the test they preferred the model that had been associated with chatter-call during training, regardless of whether this was a conspecific or heterospecific model, with respect to the model associated with heterospecific vocalizations, supporting the password hypothesis.

Keywords: Shiny Cowbird, conspecifics recognition, password hypothesis, radiotelemetry, brood parasitic birds

Agradecimientos

El mayor agradecimiento es a mi directora, Vanina Fiorini, de quien no me alcanzan las palabras para plasmar todo el aprendizaje brindado en mi desarrollo profesional y personal. Desde el primer momento sentí una admiración por su sabiduría, capacidad resolutive, motivación, fortaleza, paciencia, confianza y temple entre otras tantas cualidades. Su profesionalismo, su gran corazón y afecto es lo que me hace sentir orgulloso y afortunado de haber tenido esta posibilidad de compartir todo este camino junto a ella.



A Juan Carlos Reboreda, por sus imponentes conocimientos, consejos y participación en el proceso de escritura de los papers.

A Jordan Herman, por dejar una hermosa huella en mi.

A las amistades cultivadas durante estos años de doctorado y que hoy son grandes afectos: Melina Atencio, Maria del Rosario Jacoby, Bruno Riovitti, María de las Nieves Sabio, Belén Geoghegan, Kevin Tkach, Nicolás Lois, Sonia Landro, Bettina Mahler, Juan Manuel Rojas Ripari, Maria Elisa Lambre, Micaela Lamarque, Paula Lemos, Ayelén Murno, Sofia Baliña, Valentina Gómez, Agustina Gómez Laich, Sol Porcel y Victoria Martinez de Zorzi.

A Diego Tuero, por su afecto, y sus consejos alentadores en las primeras materias de la carrera, además de acercarme al mundo de los tordos.

A mis ayudantes de campo, Milena Soula, Mirel Nuñez y Camila Moreno.

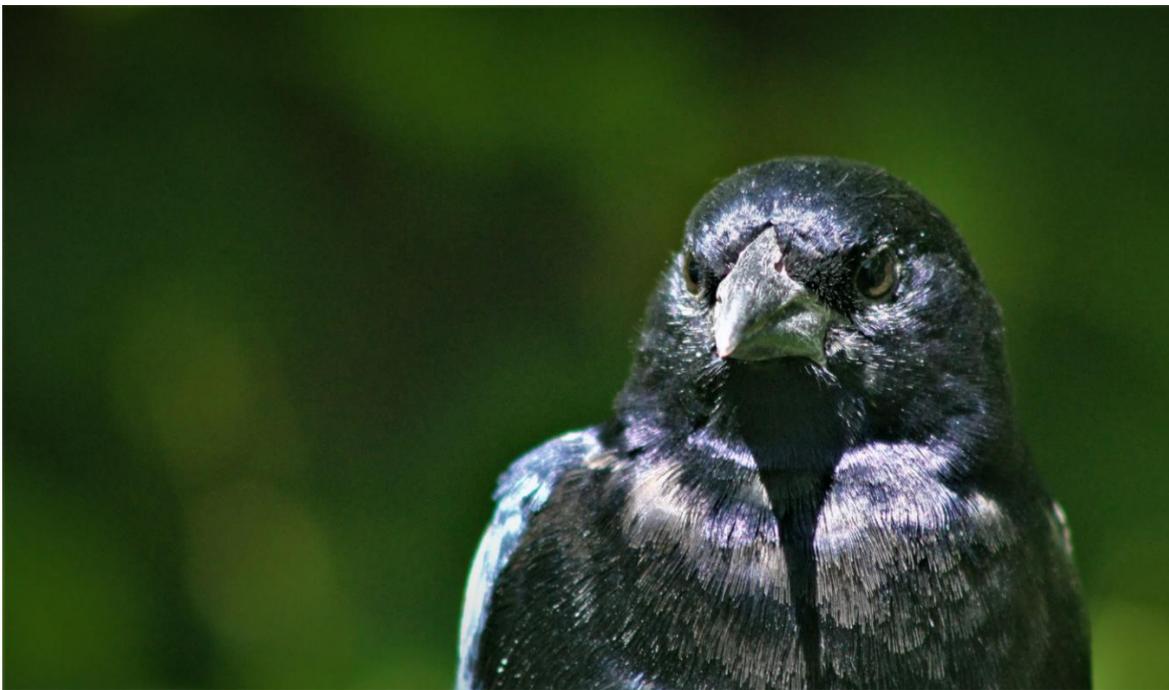
A Lucia Babino por responder a mis consultas estadísticas y a Laura Lorenzale por la asistencia veterinaria.

A mis padres, Lili & Charly y mis tíos, Anna & Tony, que siempre fomentaron mi pasión por la naturaleza y acompañaron en esta larga carrera.

A mi abuela, que seguro su aplauso hubiera sido el más fuerte.

A mi hermana, Vicky, que lo es todo.

A mis íntimos, que están en todas hoy y siempre: Lore Alfonso Ink, Fabi de Dios, Sil Moreno, Mel & Maca Casas, Juan Lo Tartaro, Meli Atencio, Vivi Mroue, Caro Mroue, Pablo Civalero, Gon Zenobi, Antonella Chavez y Barbara Bertrand.



A todos los animales que fueron parte de estos estudios y los que me acompañan todos los días en el jardín del Edén.

Publicaciones asociadas a esta tesis

Crudele, I., Reboreda, J.C. and Fiorini, V.D. (2022). Preferential begging responses of shiny cowbirds to the conspecific chatter call. *Front. Ecol. Evol.* 9, 725051. doi: 10.3389/fevo.2021.725051.

Crudele, I., Reboreda, J.C., and Fiorini, V.D. (2023). Imprinting in an interspecific brood parasitic bird. *Proc. R. Soc. B* 290, 20230230. doi:10.1098/rspb.2023.

Publicaciones en la temática

Crudele, I., Hauber, M.E., Reboreda, J.C. and Fiorini, V.D. (2023). Gradual changes in model shape affect egg-directed behaviours by parasitic shiny cowbirds *Molothrus bonariensis* in captivity. *R. Soc. Open Sci.* 10, 221477. doi:10.1098/rsos.221477

Herman, J.M., Fiorini, V.D., Crudele, I., Reboreda, J.C., Pladas, S.A., Watson, A., Bush, S.B. and Clayton, D.H. (2023). Co-parasitism in the face of predation: Effects of natural enemies on a neotropical mockingbird. Aceptada en la revista *Journal of Animal Ecology*.

INDICE

Capítulo 1: Introducción general	9
1.1. El reconocimiento de conespecíficos en animales	9
1.2. El parasitismo de cría obligado	11
1.3. El tordo renegrado como modelo de estudio	12
1.4. Objetivos generales	15
1.5. Bibliografía	15
Capítulo 2: El pedido de alimento como respuesta preferencial en los pichones de tordo renegrado al chatter conespecífico	24
2.1. Introducción	24
2.1.1. Reconocimiento de conespecíficos	24
2.1.2. Reconocimiento de conespecíficos en aves parásitas de cría	25
2.2. Métodos	27
2.2.1. Área de estudio	27
2.2.2. Experimento	29
2.2.3. Comparación de las vocalizaciones utilizadas en el experimento	33
2.2.4. Análisis estadísticos	34
2.3. Resultados	35
2.3.1. Frecuencia de pedido de alimento.	35
2.3.2. Intensidad del pedido de alimento.	37
2.3.3. Análisis de las variables acústicas.	39
2.4. Discusión	40
2.5. Bibliografía	44
Capítulo 3: Imprinting en el tordo renegrado; un ave parásita de cría interespecífica	50
3.1. Introducción	50
3.1.1. El imprinting	50
3.1.2. Imprinting en aves altriciales	51
3.1.3. Imprinting en aves parásitas de cría	51

3.2. Métodos	54
3.2.1. Experimento	54
3.2.2. Análisis estadísticos	58
3.3. Resultados	59
3.4. Discusión	61
3.5. Bibliografía	63
Capítulo 4: Comportamiento y supervivencia de los volantones de tordo renegrido criados en dos hospedadores.	69
4.1. Introducción	69
4.1.1. La etapa de volantón en las aves altriciales	69
4.1.2. La etapa de volantón en las especies parásitas de cría	69
4.2. Métodos	71
4.2.1. Área de estudio	71
4.2.2. Los pichones en el nido	72
4.2.3. Radiotelemetría	72
4.2.4. Comportamiento, supervivencia y dispersión de los volantones de tordo renegrido	74
4.2.5. Análisis estadísticos	75
4.3. Resultados	75
4.3.1. Seguimiento de los volantones de tordo renegrido instrumentados	76
4.3.2. Comportamiento de los volantones de tordo renegrido	77
4.4. Discusión	81
4.5. Bibliografía	83
Capítulo 5: Conclusiones	86
5.1. Bibliografía	87

Capítulo 1

Introducción General

1.1. El reconocimiento de conespecíficos en animales

La capacidad de los individuos para reconocer a los miembros de su misma especie (conespecíficos) y diferenciarlos de los miembros de otras especies (heteroespecíficos) es esencial para la reproducción sexual (Hauber 2002). Las señales utilizadas en el reconocimiento de conespecíficos abarcan todas las modalidades sensoriales. Por lo tanto, la variedad del tipo de señales utilizadas para la identificación de conespecíficos es muy variada e incluye señales visuales (Coultridge and Alexander 2002, Michaelidis et al. 2006, Ord and Stamps 2009, Pearson and Rohwer 2000), acústicas (de Kort and ten Cate 2001, Rollo and Higgs 2008, Teufel et al. 2007), olfativas (McLennan and Ryan 1999, Nunes et al. 2008, Shine et al. 2002), químicas, como las feromonas (Jackson and Ratnieks 2006), vibraciones (Hill 2008) y descargas eléctricas como ocurre en peces teleósteos de los grupos Mormyridae y Gymnotidae (Hopkins and Bass 1981, Black-Cleworth 1970).

El reconocimiento de conespecíficos puede ser innato o aprendido durante el desarrollo temprano (Lynch et al. 2017). En los sistemas de comunicación guiados genéticamente, las preferencias innatas por señales permiten que los individuos reconozcan a la especie como propia, sin mediar un mecanismo de aprendizaje (Ryan 1998, Ryan and Cummings 2013). En los grupos de animales que proporcionan cuidados parentales, como es el caso de los mamíferos y las aves, los individuos no reconocen a sus conespecíficos desde el nacimiento (ten Cate et al. 1993, Laland 1994, Irwin and Price 1999) sino que aprenden las características de su especie durante la asociación temprana con sus padres o hermanos (Clayton 1988, Grant and Grant 1997, Kendrick et al. 1998). Este "imprinting" o impronta (Lorenz 1937, Bateson 1966, Salzen 1998, ten Cate and Vos 1999) implica la formación de una representación interna de atributos del fenotipo, es decir, un "templado" de reconocimiento, que más adelante en la ontogenia, permite que los jóvenes reconozcan a los individuos cuyos fenotipos coinciden lo suficiente con esas imágenes obtenidas durante el periodo temprano de su desarrollo, identificándolos como conespecíficos (Lacy and Sherman 1983, Sherman and Holmes 1985, Reeve 1989).

El imprinting se ha descrito en distintos taxa de animales:

En artrópodos encontraron que las hembras de araña lobo (*Schizocosa uetzi*) que durante el estadio subadulto mantuvieron interacciones con machos de un fenotipo particular, al madurar sexualmente mostraban una preferencia de apareamiento por machos del fenotipo conocido (Hebets 2003). En insectos, se observó que las preferencias de apareamiento de las hembras de grillo (*Gryllus lineaticeps*) están afectadas por la experiencia acústica previa a estridulaciones de machos. En este caso, la exposición temprana a estridulaciones más atractivas hizo que las estridulaciones normalmente poco atractivas fueran aún menos preferidas para las hembras (Warger et al. 2001).

En vertebrados, dentro del grupo de peces óseos, también se encontró evidencia de imprinting. Los cíclidos tienen comportamientos de territorialidad y cuidado parental. En estudios realizados en cuatro especies de cíclidos africanos del género *Haplochromis sp.* se encontró que las hembras mostraban preferencias por machos con fenotipo similar al que tenía su propia madre, concluyendo que las hembras tenían un imprinting basado en el fenotipo de su madre durante las primeras semanas de vida y que este imprinting se mantenía frente a experiencias sociales posteriores (Verzijden and ten Cate 2007, Verzijden et al. 2008).

Dentro del grupo de los mamíferos, al contrario de los mencionado anteriormente, encontraron que las hembras de ratón (*Mus musculus*) discriminan entre las vocalizaciones de distintos machos, pero prefieren aquellas de machos de cepas distintas a las de sus padres (Asaba et al. 2014). Este aprendizaje se basa en la capacidad auditiva y ocurre previamente al momento del destete, que es el periodo en el cual conviven con su padre. Los autores postulan que la atracción por vocalizaciones de cepas diferentes contribuye a la evitación de la endogamia y a facilitar la heterocigosis de la descendencia (Asaba et al. 2014).

En los seres humanos se vio que ambos sexos tienden a emparejarse con personas que se parecen al progenitor del sexo opuesto (Bressan 2020). Un ejemplo es el que mostró que las hijas de mujeres que se casaban con hombres de otra etnia tendían a repetir la elección de sus madres por el fenotipo del padre (Jedlicka 1980). Otro ejemplo es la preferencia de mujeres cuyos padres poseen gran cantidad de vello en el pecho por hombres con el mismo carácter (Rantala et al. 2011). Con el color de ojos se observó algo similar, las mujeres eligieron parejas del color de ojos similar al de su padre (Little et al. 2003).

El imprinting en aves será descrito con más detalle en el capítulo 3.

Reconocer a su propia especie le permite al individuo no solo identificar a su pareja (Schlicht et al. 2015), sino que también le permite reconocer a potenciales competidores por recursos ecológicos, como territorio, sitios de alimentación y nidificación (Maher and Lott 2009). No

identificar a conespecíficos generaría grandes costos, como mayor tiempo en la búsqueda de nuevas fuentes de alimento (Barnett and Briskie 2011) y posibles riesgos de sufrir lesiones durante combates físicos (Lombardo 1986). Además, los errores en el reconocimiento de conespecíficos cuando los individuos coexisten con especies estrechamente emparentadas, conducen a un entrecruzamiento de especies que produce una descendencia híbrida de viabilidad reducida (Martin and Martin 2011).

1.2. El parasitismo de cría obligado

El parasitismo de cría obligado es una estrategia reproductiva en la que un individuo de una especie; el parásito, deposita sus huevos en el nido de un individuo de otra especie; el hospedador, quien es el encargado de la incubación de los huevos y de la alimentación de los pichones parásitos. Por lo general, el cuidado parental por parte de los hospedadores hacia los pichones parásitos continúa por un tiempo variable luego de que éstos abandonan exitosamente el nido (Davies 2000). En esta estrategia reproductiva la especie parásita depende completamente de su hospedador para completar su ciclo reproductivo, ya que las hembras parásitas no poseen la habilidad de construir nidos, de incubar huevos, y tampoco pueden alimentar a sus pichones (Ortega 1998, Davies 2000).

En las aves, el 1% de las especies poseen como estrategia reproductiva el parasitismo de cría obligado (Payne 1977a, Rothstein 1990), la cual evolucionó en forma independiente en siete oportunidades: en la familia Anatidae (solo en pato de cabeza negra *Heteronetta atricapilla*), en la familia Cuculidae, dentro de las subfamilias Cuculinae (en dos ocasiones: Tribu Phaenicophaeini y Tribu Cuculini) y Crotophaginae (Tribu: Neomorphini), en las familias Viduidae e Indicatoridae, y en la familia Icteridae, únicamente en el género *Molothrus sp.* (Soler et al. 2017).

1.3. El tordo renegrado como modelo de estudio

El tordo renegrado (*Molothrus bonariensis*), es un ave passeriforme, de la familia Icteridae (Lanyon and Omland 1999) que, al igual que el resto de los miembros del género, posee como estrategia reproductiva el parasitismo de cría obligado y sus pichones conviven con otros que estén en el nido, a diferencia de otras especies parásitas de cría que matan a los pichones del hospedador (Ortega 1998, Payne 2005).

El tordo renegrado, junto al tordo cabeza marrón (*M. ater*) son los parásitos más generalistas del grupo, es decir que poseen un gran número de hospedadores de taxa muy diversos (Ortega 1998). Se han registrado más de 200 especies hospedadoras para cada uno de ellos (Cruz et al. 1989, Friedmann and Kiff 1985) y en particular el tordo renegrado parasita a más de 260 especies pertenecientes a 26 familias (Lowther 2018).

El tordo renegrado se distribuye desde el sur de Argentina (provincia de Chubut) hasta el este de Panamá, con la excepción de la mayoría de las zonas por encima de los 2.000 m de altitud y las regiones extensamente boscosas, como la selva amazónica. A principios de 1900, expandió su área de distribución, incluyendo las Indias Occidentales, y se lo registró por primera vez en la península de Florida en 1987, donde se considera una especie residente permanente desde 1991 (Mermoz et al. 2020). Esta reciente expansión está relacionada con el aumento de las áreas con actividad ganadera (Mermoz et al. 2020, Ortega 1998). La alta flexibilidad en los tipos de habitats que el tordo renegrado ocupa, junto al amplio rango de ítems alimenticios que consume y su conducta gregaria lo hacen una buena especie colonizadora (Mermoz et al. 2020, Ortega 1998).

El tordo renegrado presenta dimorfismo sexual tanto en coloración como en tamaño. El macho tiene un plumaje negro con iridiscencias púrpura y azul-verdosas y alcanza un peso de 55 g. (Figura 1.A), mientras que el plumaje de la hembra es de color marrón ceniciento, con el vientre más claro y su peso es de 45 g. (Figura 1.B) (Mason 1987, Ortega 1998).

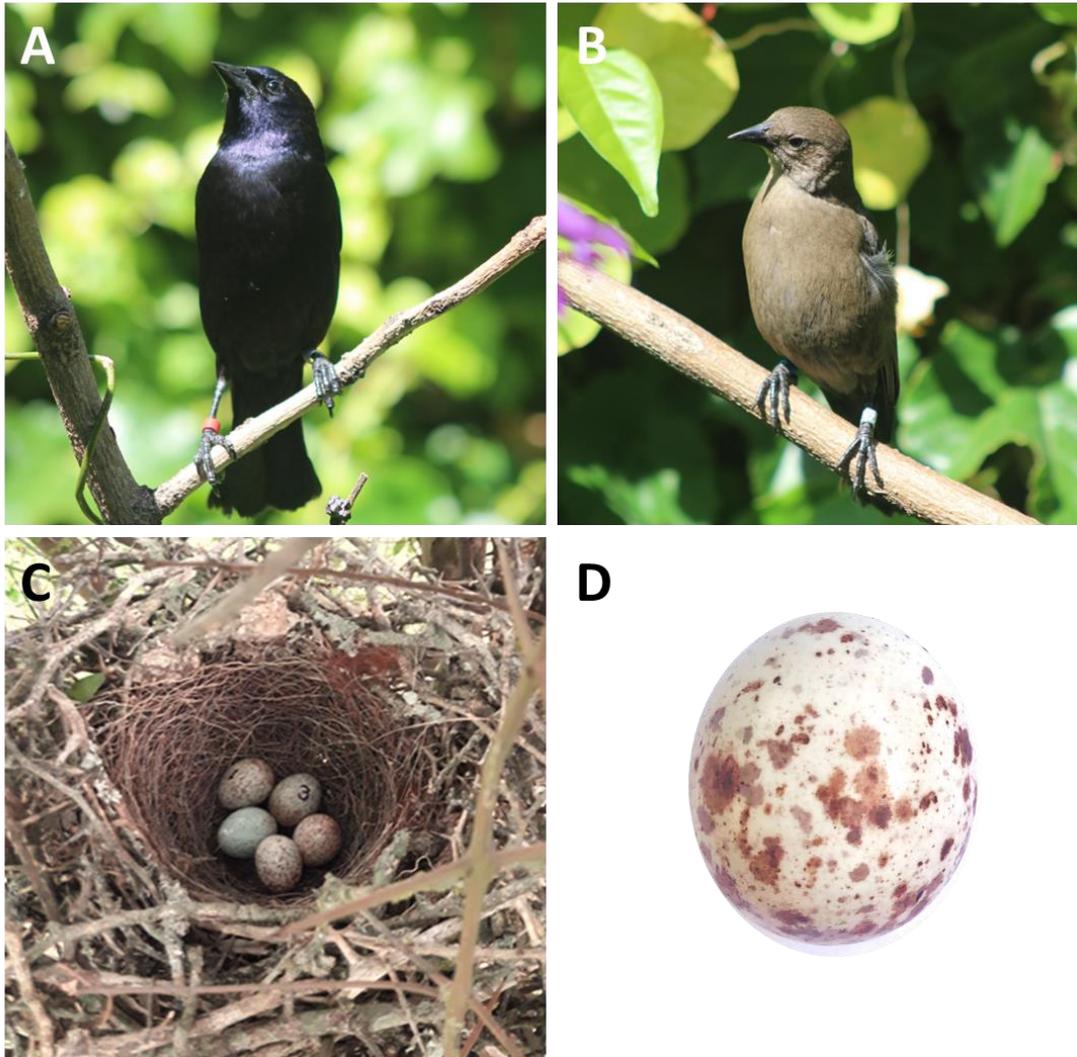


Figura 1. A. Tordo renegrido (*Molothrus bonariensis*) macho; B. Tordo renegrido hembra; C. Nido de calandria grande (*Mimus saturninus*) parasitado por tordo renegrido, los tres huevos más grandes corresponden al hospedador y los dos más redondeados y pequeños son de tordo renegrido; D. Huevo de tordo renegrido, de morfo manchado.

Fotografías: Ignacio Crudele

Las hembras de tordo renegrido realizan la búsqueda de nidos a través de la observación del comportamiento de sus hospedadores, utilizando la actividad del hospedador en la construcción del nido como pista para encontrarlos (Fiorini and Reborada 2006). Cuando las hembras de tordo visitan los nidos de sus hospedadores suelen picotear y punzar uno o más huevos del hospedador (Hudson 1874, Friedmann 1929, Fraga 1978, Lichtenstein 1998, Massoni and Reborada 1998). Esta conducta podría mejorar la eficiencia de incubación de sus huevos y sobre todo reducir la futura competencia por el alimento con los demás pichones, pero también suele estar asociado a una mayor frecuencia de abandono de los nidos por parte

de los hospedadores (Massoni and Reboresda 1998, Tuero et al. 2007). Además, una vez que la hembra pone su huevo en un nido, evita parasitarlo repetidamente (Gloag et al. 2014, Scardamaglia et al. 2017, pero ver de la Colina et al. 2016). Este comportamiento es consistente con el mecanismo de “book-keeping” propuesto por Clayton et al. (1997), que plantea que en la región del hipocampo del cerebro la hembra tiene un “inventario” de nidos a parasitar y lo actualiza periódicamente eliminando los nidos que ya parasitó. De esta manera, la hembra parásita recuerda la ubicación, el estado de cada nido y su propio acto de poner su huevo, evitando los costos que tendría re-parasitar, como ser el riesgo de punzar sus propios huevos previamente puestos y de provocar la competencia por alimento entre pichones propios (Gloag et al. 2014).

La coloración de los huevos es monomórfica a nivel individual pero polimórfica a nivel poblacional que va desde el blanco liso a diferentes intensidades de manchas marrones (Figura 1.D) (Hudson 1874, Friedmann 1929, Fraga 1978, Ortega 1998, Gloag et al. 2014). Las hembras de tordo renegrido suelen parasitar el nido de manera sincrónica (70-80 % de los casos) con la puesta del hospedador (Figura 1.C) (Fiorini and Reboresda 2006, Massoni and Reboresda 1998; Mermoz and Reboresda 1999). Los huevos parásitos suelen eclosionar antes que los huevos del hospedador debido a que los tordos poseen un periodo de incubación de 11-13 días, por lo general más corto que el de sus hospedadores (Cruz et al. 1990, Mermoz and Reboresda 1994, Massoni and Reboresda 1998), otorgándole a los pichones una ventaja en la competencia por alimento respecto a los pichones del hospedador (Payne 1977a, Mermoz and Reboresda 2003). Los huevos poseen una cáscara más gruesa de lo esperado para su volumen y que presenta una microestructura en los cristales de calcita que le otorga una gran resistencia (Spaw and Rohwer 1987; Mermoz and Ornelas 2004; López et al. 2018, Lopez et al. 2021). Usualmente los nidos son parasitados por varias hembras de tordo (parasitismo múltiple) por lo que esta alta resistencia de la cáscara protege al huevo frente a los picotazos de otras hembras parásitas, disminuyendo la probabilidad de sean punzados (Hudson 1874; Mermoz and Ornelas 2004; Gloag et al. 2012; Fiorini et al. 2014). Además, como las hembras de tordo yerguen sus patas cuando ponen su huevo, esta mayor resistencia de la cáscara disminuye la probabilidad de que se abollen por el impacto entre huevos que se produce en la puesta (López et al. 2018, Lopez et al. 2021).

Los pichones permanecen en el nido del hospedador entre 11 y 15 días (Fraga 1985, Mermoz and Reboresda 2003). Luego de abandonar el nido, permanecen junto a sus padres adoptivos durante varias semanas (Fraga 1985). Hasta la realización de esta tesis, no se contaba con información sobre el comportamiento de los volantones en el periodo que va desde que dejan

el nido hasta que se independizan ni tampoco se sabía a que edad los volantones dejaban el territorio y se unían a una bandada de conespecíficos. Tampoco se tenía información sobre la edad y el mecanismo por el cual el tordo renegrado aprende a reconocer a sus conespecíficos.

1.4. Objetivos generales

El objetivo general de la tesis doctoral es estudiar el comportamiento y los factores involucrados en el reconocimiento de conespecíficos de los pichones y juveniles del tordo renegrado, *Molothrus bonariensis*.

En el Capítulo 2 se analiza si los pichones de tordo renegrado responden, mediante pedido de alimento, de manera diferencial a la vocalización innata denominada "chatter" que realizan las hembras conespecíficas, en comparación a otras vocalizaciones y en comparación a la respuesta de los pichones hospedadores.

En el Capítulo 3 se analiza si los juveniles de tordo renegrado usan el chatter como una contraseña que activa el aprendizaje de un templado de reconocimiento conespecífico.

En el Capítulo 4 se estudia el comportamiento de los volantones de tordo renegrado criados por dos hospedadores de diferente tamaño, la ratona común (*Troglodytes aedon*) y la calandria grande (*Mimus saturninus*) mediante el instrumentado de los individuos con radiotransmisores, a través de un seguimiento desde la salida del nido hasta su desaparición del territorio natal.

En el Capítulo 5 se presentan las conclusiones generales de la tesis.

1.5. Bibliografía

Asaba, A., Okabe, S., Nagasawa, S.M., Kato, M., Koshida, N., Osakada, T., and Kikusui, T. (2014). Developmental social environment imprints female preference for male song in mice. PLoS ONE 9, e87186.

Bateson, P. (1966). The characteristics and context of imprinting. Biol. Rev. 41, 177-220.

Barnett, C.A., and Briskie, J.V. (2011). Strategic regulation of body mass and singing behavior in New Zealand robins. *Ethology* 117, 28-36.

Bressan, P. (2020). In humans, only attractive females fulfil their sexually imprinted preferences for eye colour. *Scientific Reports* 10(1), 6004.

Black-Cleworth, P. (1970). The role of electrical discharges in the non-reproductive social behaviour of *Gymnotus carapo* (Gymnotidae, Pisces). *Animal Behaviour Monographs* 3, 1-1N1.

Clayton, N.S., Reboreda, J.C. and Kacelnik, A. (1997). Seasonal changes of hippocampus volume in parasitic cowbirds. *Behav Process* 41, 237–243

Clayton, N.S. (1988). Song learning and mate choice in estrildid finches raised by 2 species. *Anim. Behav.* 36, 1589-1600.

Cruz, A., Wiley, J. W., Nakamura, T.K. and Post, W. (1989) The Shiny Cowbird *Molothrus bonariensis* in the West Indian region -biogeography and ecological implications. in: C. A. Wood, ed. *Biogeography of the West Indies*. Gainesville, Florida: Sandhill Crane Press, 519–540.

Cruz, A., Manolis, T.D. and Andrews, R.W. (1990). Reproductive interactions of the Shiny Cowbird (*Molothrus bonariensis*) and the Yellow-Hooded Blackbird (*Agelaius icterocephalus*) in Trinidad West Indies. *Ibis* 132, 436-444.

Cruz, A. and Andrews, R.W. (1997). The breeding biology of the Pied Water-Tyrant and its interactions with the Shiny Cowbird in Venezuela. *Journal of Field Ornithology* 68, 91- 97.

Couldridge, V. C. K., and Alexander, G. J. (2002). Color patterns and species recognition in four closely related species of Lake Malawi cichlid. *Behavioral Ecology*, 13, 59-64.

de la Colina, M.A., Hauber M.E., Strausberger B.M., Reboreda, J.C. and Mahler, B. (2016). Molecular tracking of individual host use in the Shiny Cowbird, a generalist brood parasite. *Ecol Evol* 6, 4684–4696

- Davies, N.B. (2000). Cuckoos, cowbirds and other cheats. Oxford University Press, Oxford.
- Fiorini, V.D., and Reboreda, J.C. (2006). Cues used by shiny cowbirds (*Molothrus bonariensis*) to locate and parasitise chalk-browed mockingbird (*Mimus saturninus*) nests. Behavioral Ecology and Sociobiology 60, 379-385.
- Fraga, R.M. (1978). The Rufous-Collared Sparrow as a host of the Shiny Cowbird. Wilson Bulletin 90, 271-284.
- Fraga, R.M. (1985). Host-parasite interactions between Chalk-browed Mockingbirds and Shiny Cowbirds. Ornithological Monographs, 829-844.
- Friedmann, H. (1929). The Cowbirds: a Study in the Biology of Social Parasitism. Springfield, IL: C.C. Thomas.
- Friedmann, H. and Kiff, L.F. (1985). The parasitic cowbirds and their hosts. Proceedings of the Western Foundation of Vertebrate Zoology 2, 225-302.
- Gloag, R., Fiorini V.D., Reboreda, J.C. and Kacelnik, A. (2014). Shiny cowbirds share foster mothers but not true mothers in multiply parasitized mockingbird nests. Behav Ecol Sociobiol 68, 681–689
- Grant, P.R. and Grant, B.R. (1997). Hybridization, sexual imprinting, and mate choice. Am. Nat. 149, 1-28.
- Hauber, M.E. (2002). First contact: a role for adult-offspring social association in the species recognition system of brood parasites. In Annales Zoologici Fennici, Finnish Zoological and Botanical Publishing Board, 291-305.
- Hebets, E.A. (2003). Subadult experience influences adult mate choice in an arthropod: exposed female wolf spiders prefer males of a familiar phenotype. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 100, 13390-13395.

Hill, P.S.M. (2008). *Vibrational communication in animals*. Cambridge, MA: Harvard University Press.

Hopkins, C.D., and Bass, A.H. (1981). Temporal coding of species recognition signals in an electric fish. *Science* 212, 85-87.

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

Irwin, D.E. and Price, T. (1999). Sexual imprinting, learning and speciation. *Heredity* 82, 347-354.

Jackson, D.E. and Ratnieks, F.L. (2006). Communication in ants. *Current Biology* 16(15), 570-574.

Jedlicka, D. (1980). A test of the psychoanalytic theory of mate selection. *J Soc Psychol* 112, 295-299.

Kendrick, K.M., Hinton, M.R., Atkins, K., Haupt, M.A. and Skinner, J.D. (1998). Mothers determine sexual preferences. *Nature* 395, 229-230.

de Kort, S.R. and ten Cate, C. (2001). Response to interspecific vocalizations is affected by degree of phylogenetic relatedness in *Streptopelia* doves. *Animal Behaviour* 61, 239-247.

Lacy, R.C. and Sherman, P.W. (1983). Kin recognition by pheno-type matching. *Am. Nat.* 121, 489-512.

Lanyon S.M. and Omland K.E. (1999). A molecular phylogeny of the blackbirds (Icteridae): five lineages revealed by cytochrome-b sequence data. *Auk* 48, 679-693.

Laland, K.N. (1994). On the evolutionary consequences of sexual imprinting. *Evolution* 48, 477-489.

Lichtenstein G. (1998). Parasitism by Shiny Cowbirds of Rufous-Bellied Thrushes. *Condor* 100, 680-687.

Little, A.C., Penton-Voak, I.S., Burt, D.M. and Perrett, D.I. (2003). Investigating an imprinting-like phenomenon in humans: partners and opposite-sex parents have similar hair and eye colour. *Evol Hum Behav* 24, 43–51

Lombardo, M.P. (1986). A possible case of adult intraspecific killing in the tree swallow. *Condor* 88,112.

López, A.V., Fiorini, V.D., Ellison, K. and Peer, B.D. (2018). Thick eggshells of brood parasitic cowbirds protect their eggs and damage host eggs during laying. *Behav Ecol* 29, 965–973.

López, A.V., Reboreda, J.C., Fiorini, V.D., Gerschenson, L.N., and Hauber, M.E. (2021). A comparative study of the structural and mechanical properties of avian eggshells among hosts of obligate brood parasitic cowbirds (genus *Molothrus*). *Biological Journal of the Linnean Society* 133(4), 1057-1076.

Lorenz, K. (1937). The companion in the bird's world. *Auk* 54, 245-273.

Lowther, P. E. (2018). Lists of victims and hosts of the parasitic cowbirds (*Molothrus*). *Field Museum*.

Lynch, K.S., Gaglio, A., Tyler, E., Coculo, J., Louder, M.I., and Hauber, M.E. (2017). A neural basis for password-based species recognition in an avian brood parasite. *Journal of Experimental Biology* 220 (13), 2345-2353.

Maher, C.R. and Lott, D.F. (1995). Definitions of territoriality used in the study of variation in vertebrate spacing systems. *Animal Behaviour* 49, 1581-1597.

Martin, P.R. and Martin, T.E. (2001). Ecological and fitness consequences of species coexistence: a removal experiment with wood warblers. *Ecology* 82, 189-206.

- Mason, P. (1987). Pair formation in cowbirds evidence found for Screaming but not Shiny Cowbirds. *Condor* 89, 349-356.
- Massoni, V. and Reboreda, J.C. (1998). Cost of brood parasitism and lack of defenses on the Yellow Winged Blackbird–Shiny Cowbird system. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 42, 273-280.
- McLennan, D. A., and Ryan, M. J. (1999). Interspecific recognition and discrimination based upon olfactory cues in northern swordtails. *Evolution* 53, 880-888.
- Mermoz, M.E. and Reboreda, J.C. (1994). Brood parasitism of Shiny Cowbird, *Molothrus bonariensis*, on the Brown and Yellow Marshbird, *Pseudoleistes virescens*. *Condor* 96, 716-721.
- Mermoz, M.E. and Reboreda, J.C. (1999). Egg-laying behaviour by Shiny Cowbirds parasitizing Brown-and-Yellow Marshbirds. *Animal Behaviour* 58, 873-882.
- Mermoz, M.E. and Reboreda, J.C. (2003). Reproductive success of Shiny Cowbird (*Molothrus bonariensis*) parasitizing the larger Brown-and-Yellow Marshbird (*Pseudoleistes virescens*) in Argentina. *Auk* 120, 1128-1139.
- Mermoz, M. and Ornelas, J.F. (2004). Phylogenetic analysis of life-history adaptations in parasitic cowbirds. *Behav Ecol* 15, 109–119
- Mermoz, M.E., Cruz, A., Chace, J.F., and Reboreda, J.C. (2020). Shiny cowbird (*Molothrus bonariensis* Gmelin, 1788). In *Invasive birds: global trends and impacts*, Wallingford UK: CABI, 97-104.
- Michaelidis, C.I., Demary, K.C. and Lewis, S.M. (2006). Male courtship signals and female signal assessment in *Photinus greeni* fireflies. *Behavioral Ecology* 17, 329-335.
- Nunes, T.M., Nascimento, I.C., Turatti, N.P., Lopes, N.P. and Zucchi, R. (2008). Nestmate recognition in a stingless bee: does the similarity of chemical cues determine guard acceptance? *Animal Behaviour* 75, 1165-1171.

Ord, T.J., and Stamps, J.A. (2009). Species identity cues in animal communication. *American Naturalist* 174, 585-593.

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

Payne, R.B. (2005) *The Cuckoos*. Oxford University Press, New York

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

Pearson, S.F., and Rohwer, S. (2000). Asymmetries in male aggression across an avian hybrid zone. *Behavioral Ecology* 11, 93-101.

Rantala, M.J. and Marcinkowska, U.M. (2011). The role of sexual imprinting and the Westermarck effect in mate choice in humans. *Behav Ecol Sociobiol* 65, 859–873.

Reeve, H.K. (1989). The evolution of conspecific acceptance thresholds. *Am. Nat.* 133, 407-435.

Rollo, A., and Higgs, D. (2008). Differential acoustic response specificity and directionality in the round goby, *Neogobius melanostomus*. *Animal Behaviour* 75, 1903-1912.

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

Ryan, M.J. (1998). Sexual selection, receiver biases, and the evolution of sex differences. *Science* 281, 1999-2003.

Ryan, M.J. and Cummings, M.E. (2013). Perceptual biases and mate choice. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 44, 437-459.

Teufel, C., Hammerschmidt, K., and Fisher, J. (2007). Lack of orienting asymmetries in Barbary macaques: implication for studies of lateralized auditory processing. *Animal Behaviour*, 73, 249-255.

Salzen, E. A. (1998). Imprinting. In *Comparative psychology* (ed. G. Greenberg and M.M. Haraway), New York: Garland, 566-575.

Scardamaglia, R.C., Fiorini, V.D., Kacelnik, A. and Reboreda, J.C. (2017). Planning host exploitation through prospecting visits by parasitic cowbirds. *Behav Ecol Sociobiol* 71, 23

Schlicht, L., Valcu, M., and Kempenaers, B. (2015). Male extraterritorial behavior predicts extrapair paternity pattern in blue tits, *Cyanistes caeruleus*. *Behavioral Ecology* 26(5), 1404-1413.

Sherman, P.W. and Holmes, W.G. (1985). Kin recognition: issues and evidence. In *Experimental behavioral ecology and sociobiology* (ed. B. Hïlldobler and M. Lindauer), 437-460.

Shine, R., Reed, R.N., Shetty, S., Lemaster, M., and Mason, E.T. (2002). Reproductive isolating mechanisms between two sympatric sibling species of sea snakes. *Evolution* 56, 1655-1662.

Soler, M., Soler, M. and Koerner. (2017). *Avian brood parasitism*. Berlin/Heidelberg, Germany: Springer, 105-123.

Spaw C.D. and Rohwer S. (1987). A comparative study of eggshell thickness in cowbirds and other passerines. *Condor* 89, 307–318

ten Cate, C., Vos, D.R. and Mann, N. (1993). Sexual imprinting and song learning: two of one kind? *Neth. J. Zool.* 43, 34-45.

ten Cate, C. and Vos, D.R. (1999). Sexual imprinting and evolutionary processes in birds: a reassessment. *Adv. Stud. Behav.* 28, 1-31.

Tuero, D.T., Fiorini, V.D., and Rebores, J.C. (2007). Effects of Shiny Cowbird *Molothrus bonariensis* parasitism on different components of House Wren *Troglodytes aedon* reproductive success. *Ibis* 149(3), 521-529.

Verzijden, M.N. and ten Cate, C. (2007). Early learning influences species assortative mating preferences in Lake Victoria cichlid fish. *Biol* 3, 134–136.

Verzijden, M.N., Korthof, R.M., and Ten Cate, C. (2008). Females learn from mothers and males learn from others. The effect of mother and siblings on the development of female mate preferences and male aggression biases in Lake Victoria cichlids, genus *Mbipia*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 62, 1359-1368.

Wagner, W.E., Smeds, M.R. and Wiegmann, D.D. (2001) *Ethology* 107, 769–776

Capítulo 2

El pedido de alimento como respuesta preferencial en los pichones de tordo renegrado al chatter conespecífico

2.1. Introducción

2.1.1. Reconocimiento de conespecíficos

El reconocimiento de conespecíficos es esencial para los animales, ya que permite que los individuos identifiquen a los miembros de su propia especie, encuentren parejas y se apareen con éxito. De esta manera, los individuos evitan los costos en su aptitud reproductiva (fitness) que provocarían los intentos mal direccionados por relacionarse social y reproductivamente con individuos de otras especies. En especies cuyos juveniles son criados por sus padres, como en los mamíferos y la mayoría de las aves, luego de una experiencia temprana con adultos conespecíficos, los individuos aprenden las características de su propia especie formando una representación de los atributos fenotípicos destacados o un templatado de reconocimiento, restringiendo sus preferencias sociales a ellos (Bateson 1966, Immelman 1975). Este mecanismo llamado imprinting (Lorenz 1937; Bateson 1966; Salzen 1998; ten Cate and Vos 1999) permite a los individuos reconocer a sus conespecíficos y es adaptativo en diferentes contextos sociales (Immelman 1975).

La evidencia en las aves canoras ha indicado un sesgo auditivo para cantos conespecíficos durante la fase de crianza (revisado por Wheatcroft and Qvarnstrom, 2015). Por ejemplo, Shizuka (2014) descubrió que los pichones del chingolo coronadorado (*Zonotrichia atricapilla*) producen más respuestas vocales a los cantos conespecíficos que a los heterospecíficos del chingolo corona blanca (*Z. leucophrys*). Además, Bliard et al. (2021) encontraron que los pichones de papamoscas de collar (*Ficedula albicollis*) discriminan cantos basándose en las llamadas de alarma conespecíficas. Ellos manipularon frases de los cantos para que comenzaran con la llamada de alarma conespecífica seguida de notas de cantos conespecíficos o heteroespecíficos y descubrieron que los pichones respondían de manera similar a ambos tratamientos debido a la inclusión de la llamada de alarma. Esta

discriminación temprana de cantos puede desarrollarse independientemente de la experiencia social temprana y depende en gran medida de un componente genético (Wheatcroft and Qvarnstrom, 2017). Por ejemplo, Wheatcroft y Qvarnstrom (2017), manipularon la experiencia social temprana del papamoscas de collar y el papamoscas cerrojillo (*F. hypoleuca*) intercambiando huevos entre nidos de las dos especies y descubrieron que los pichones discriminaban a favor del canto de su propia especie incluso cuando eran criados por los adultos de la otra especie.

2.1.2. Reconocimiento de conespecíficos en aves parásitas de cría

El reconocimiento de conespecíficos en las aves parásitas de cría impone una paradoja. Los pichones parásitos de especies altriciales son criados por heteroespecíficos y, en consecuencia, no tienen la oportunidad de usar las señales proporcionadas por los adultos que los crían para aprender un templado de reconocimiento conespecífico (Hauber and Sherman 2001, Slagsvold and Hansen 2001). Sin embargo, luego de independizarse de los adultos hospedadores que los crían, interactúan y se reproducen con aves de su propia especie, lo que indica que han resuelto el problema del reconocimiento conespecífico.

Comprender los mecanismos involucrados en la ontogenia de las preferencias sociales en los parásitos de cría ofrece un desafío importante para los etólogos. Hauber y colaboradores (2001) propusieron la ‘hipótesis de la contraseña’ que establece que el reconocimiento conespecífico en los parásitos de cría se inicia cuando un individuo joven encuentra alguna señal única específica de la especie o ‘contraseña’ (por ejemplo, una vocalización, comportamiento u otra característica) que desencadena el aprendizaje de aspectos del fenotipo del emisor de la contraseña. Esta hipótesis ha sido respaldada por estudios realizados en el tordo cabeza marrón, *Molothrus ater*, una especie de parásito de cría generalista, en la que la vocalización llamada “chatter” parece ser la contraseña para el reconocimiento de conespecíficos (Hauber et al. 2001). En esta especie, el chatter es la única vocalización que emiten las hembras y los machos la producen con poca frecuencia (Friedmann 1929, Rothstein et al. 1988). Esta vocalización está programada genéticamente, no presenta variación geográfica y los individuos la realizan aunque no estén expuestos a sus congéneres (Burnell and Rothstein 1994). Hauber et al. (2001) encontraron que los pichones de tordo cabeza marrón de seis días de edad respondieron (pidiendo alimento) con más frecuencia a grabaciones (playbacks) de chatter que a otros sonidos de aves y los juveniles de dos meses

de edad se acercaron rápidamente y con mayor frecuencia a la fuente que emitía el playback de chatter frente a otra fuente que emitía vocalizaciones de heteroespecíficos. Los juveniles y adultos silvestres de tordo cabeza marrón también se acercaron con mayor frecuencia a la fuente que emitía playbacks de chatter que a una fuente que emitía sonidos de control (Hauber et al. 2001). Además, el chatter es comunmente utilizado por las hembras del tordo cabeza marrón en respuesta a los cantos del macho (Burnell and Rothstein 1994) y tiene un papel fundamental en modelar las diferencias de comportamiento de las hembras con los machos preferidos, ya que el mantenimiento de las parejas está asociado al intercambio recíproco de vocalizaciones (Kohn 2018). Además, Kohn (2018) descubrió que las respuestas al chatter predijeron la cantidad de huevos producidos por las hembras del tordo cabeza marrón.

Estudios neurobiológicos también encontraron evidencias indirectas que apoyan la hipótesis que propone que el chatter es la contraseña para el reconocimiento de conespecíficos en los tordos de cabeza marrón. Lynch et al. (2017) encontraron que las regiones auditivas del cerebro anterior del tordo, donde se expresa el gen ZENK, produce mayores concentraciones de proteínas en respuesta inmediato-temprano al chatter en comparación a la producción de proteínas en respuesta a las vocalizaciones de la paloma huilota (*Zenaida macroura*) que se utilizó como control. Esto indicaría que cuando los tordos escuchan el canto de su misma especie, exhiben una respuesta neuronal específica en regiones del cerebro que son claves para el reconocimiento social. Además, Louder et al. (2019) encontraron que el chatter de hembras de tordo cabeza marrón mejoró el aprendizaje de la producción de cantos en los machos e indujo un perfil neurogenómico de familiaridad con los cantos en las hembras, incluso para cantos heteroespecíficos, cuando se expuso a tordos machos y hembras jóvenes que nunca habían escuchado las vocalizaciones antes, a playbacks de cantos combinados con chatter.

El tordo renegrado, *M. bonariensis*, es un parásito de cría interespecífico cercanamente emparentado con el tordo cabeza marrón (Lanyon 1992, Johnson y Lanyon 1999). Después de salir del nido, los volantones de tordo renegrado permanecen asociados a sus padres adoptivos durante aproximadamente 30 a 40 días y, en ese momento, se unen a las bandadas de forrajeo y comienzan a interactuar con sus conespecíficos (Capítulo 4). Se desconocían las señales que usan los juveniles de tordo renegrado para reconocer a sus conespecíficos, pero se estimó que, al igual que el tordo de cabeza marrón, usan el chatter de la hembra conespecifica como contraseña. Hasta el momento, ningún estudio previo había determinado la relevancia del chatter en el reconocimiento social en esta especie.

En este trabajo evaluamos experimentalmente la respuesta a diferentes tratamientos de playback de pichones de seis días de edad de tordo renegrado y de dos hospedadores frecuentes

que se incluyeron como especies control, la ratona común (*Troglodytes aedon*) y la calandria grande (*Mimus saturninus*). Estos hospedadores difieren notablemente en su comportamiento durante las visitas de alimentación de los pichones. Las ratonas realizan vocalizaciones cuando llegan al nido a lo que los pichones parecen responder de inmediato (Bortolato et al. 2019), mientras que las calandrias no llaman al llegar y sus pichones son estimulados a pedir alimento por el movimiento del nido (Crudele datos no publicados). Determinamos si los pichones de tordo renegrado criados por estos hospedadores responden, mediante pedido de alimento, de manera diferencial al chatter de hembras conespecíficas en comparación con los pichones hospedadores. Esperamos que los pichones parásitos respondan de manera similar a los pichones hospedadores cuando escuchan los playbacks del hospedador adulto, ya que podrían haber aprendido a responder a este estímulo al igual que lo hacen los pichones del hospedador con quienes comparten el nido. En el caso de los pichones hospedadores, esperamos que respondieran más a llamadas conespecíficas que al chatter. Finalmente, ninguna de las especies debería responder a las vocalizaciones de la especie no hospedadora ya que no representa un estímulo relevante para los pichones.

2.2. Métodos

2.2.1. Área de estudio

El trabajo de campo se realizó durante octubre-febrero 2018-2019 y 2019-2020 en la Reserva “El Destino”, (35°80'80” S, 57°82'30” O), ubicada dentro del “Parque Costero del Sur (MAB-UNESCO) en la Provincia de Buenos Aires, Argentina. El sitio de estudio comprende parches de bosque nativo dominados por talas, *Celtis ehrenbergiana* y coronillos, *Scutia buxifolia* que crece sobre albardones que se encuentran rodeados de pastizales inundables (Figura 1).



Figura 1. Reserva privada "El Destino" (35°08'S, 57°23'O; Partido de Magdalena, Provincia de Buenos Aires). Fotografía del sitio de estudio donde se observan los albardones de tala (*Celtis ehrenbergiana*) y coronillos (*Scutia buxifolia*) rodeados de pastizal inundable.

En este sitio, el tordo renegrado tiene como hospedadores principales a la calandria grande, *Mimus saturninus* (frecuencia de parasitismo 70-80%, Fiorini y Reboresca 2006, Gloag et al. 2012) y a la ratona común, *Troglodytes aedon* (frecuencia de parasitismo 50 %, Tuero et al. 2007). En nuestra área de estudio (aproximadamente 155 ha) hay 40-50 territorios de calandria grande y colocamos 140 cajas nido que son utilizadas frecuentemente por la ratona común, ya que utilizan cavidades para construir sus nidos (Figura 2). Desde mediados de octubre hasta finales de enero, buscamos exhaustivamente nidos en construcción de ambos hospedadores y los revisamos diariamente, desde el inicio de la puesta hasta que los pichones dejaron el nido o el nido era abandonado por la pareja o depredado.

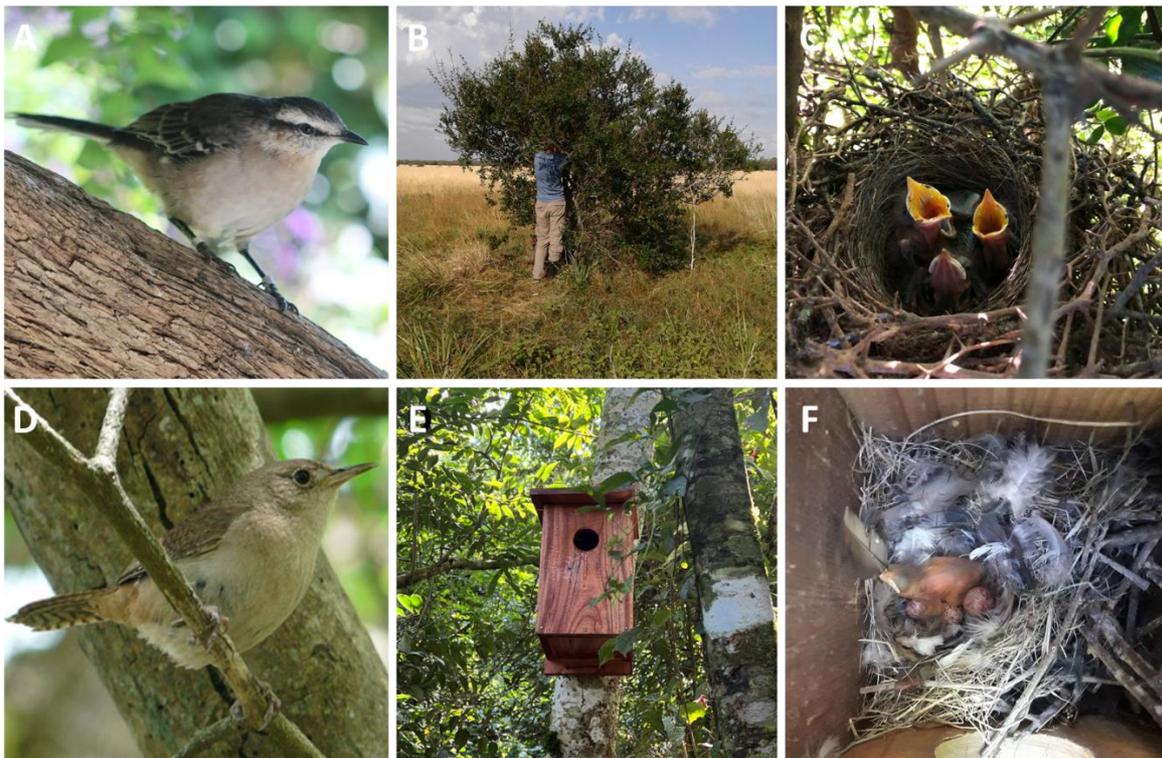


Figura 2. A. Calandria grande (*Mimus saturninus*); B. Coronillo (*Scutia buxifolia*) donde contruyen los nidos las calandrias; C. Nido de calandria grande, en forma de copa y abierto, con tres pichones de calandria de 6 días de edad. D. Ratona común (*Troglodytes aedon*); E. Caja nido colocada en el territorio, la misma es utilizada por las ratonas para construir su nido; F. Nido de ratona común dentro de la caja nido, con un pichón de tordo renegrado de

un día de edad junto a tres huevos de ratona. (fotografías: A, B,C, E y F: Ignacio Crudele;
D: Vanina D. Fiorini)

2.2.2. Experimento

Para evaluar la respuesta de los pichones a diferentes estímulos acústicos, testeamos a 68 pichones de tordo renegrido (42 criados por calandria grande y 26 criados por ratona común) y 49 pichones hospedadores (23 de ratona común y 26 de calandria grande) como especies control. Cuando los pichones cumplieron 6 días de edad, se retiraron del nido y se colocaron individualmente en un nido artificial de 10 cm (diámetro) x 5 cm (profundidad) ubicado dentro de un contenedor plástico (27.5 x 21.5 x 28 cm; alto x ancho x longitud) (Figura 3).



Figura 3: A. Fotografía del experimento. En un contenedor plástico se colocó un pichón de tordo renegrido de seis días de edad dentro de un nido artificial (derecha) y cercano a él se dispuso un reproductor de audio (Zoom Handy Recorder H4n) con el cual se le reprodujeron los playbacks. B. Secuencia fotográfica del pedido de alimento del pichón al escuchar el playback de chatter.

Para estandarizar la motivación y controlar el nivel de hambre, los pichones fueron alimentados con una pasta húmeda de alimento para aves insectívoras (CéDÉ) hasta su saciedad, luego de lo cual se los dejaba descansar 40 minutos antes de comenzar el experimento de playback (Hauber et al. 2001). Al cumplir el tiempo de descanso, nos alejamos 3 m del contenedor y luego de un silencio de 1 minuto comenzamos la sesión de playback. Realizamos la reproducción con un Zoom Handy Recorder H4n y grabamos la respuesta de cada pichón a través de una cámara de video Gopro Hero4. Para evitar molestar a los adultos del nido, el experimento se llevó a cabo a más de 30 m del nido y el contenedor y el observador quedaron ocultos por la vegetación. Después de terminar el experimento, el pichón era devuelto al nido donde continuaba con su comportamiento normal. Ninguno de los nidos fue abandonado como producto de nuestra manipulación.

Realizamos los siguientes tratamientos de playback: 1) chatter de hembras adultas de tordo renegrido, 2) vocalizaciones de las especies hospedadoras adultas, según correspondía (calandria grande o ratona común), 3) vocalizaciones de una especie no hospedadora adulta, el jilguero dorado (*Sicalis flaveola*) una especie común en la zona. Los playbacks se presentaron secuencialmente en orden aleatorio, cada reproducción duró 1 minuto y hubo un intervalo de 5 minutos entre reproducciones (Figura 4).

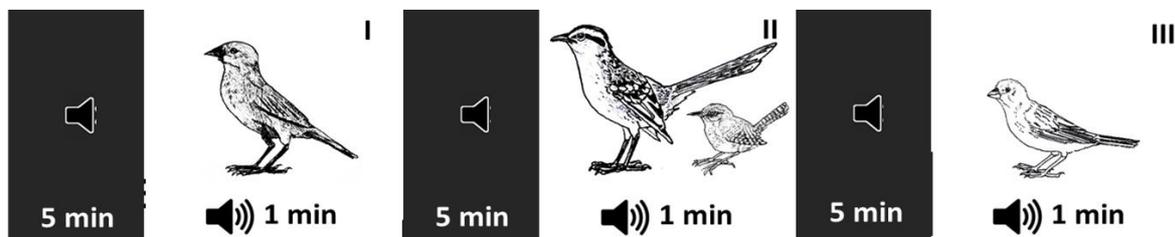


Figura 4. Esquema del tratamiento de playback: I) chatter de hembras adultas de tordo renegrido, II) vocalizaciones de las especies hospedadoras adultas, según correspondía (calandria grande o ratona común) y III) vocalizaciones de una especie no hospedadora adulta, el jilguero dorado. Los playbacks se presentaron secuencialmente en orden aleatorio, cada reproducción duró 1 minuto y hubo un intervalo de 5 minutos entre reproducciones.

Para el armado de los playbacks de chatter de hembras de tordo renegrido y las vocalizaciones de adultos de ratona común y calandria grande, usamos 7 vocalizaciones seleccionadas al azar de 6 individuos adultos de cada especie registradas en el área durante la temporada

reproductiva 2017, usando un Zoom Handy Recorder H4n. Las vocalizaciones de ratona adulta se grabaron en los nidos durante sus visitas de alimentación, cuando realizaban llamadas de contacto a sus pichones. Como las calandrias no producen este tipo de vocalización en el nido, registramos cantos de contacto de adultos (Argel de Oliveira 1989) cerca del nido. Para las reproducciones de la especie no hospedadora (jilguero dorado) utilizamos 7 vocalizaciones seleccionadas al azar de 7 individuos adultos. En este caso las grabaciones se obtuvieron de <https://www.xeno-canto.org/species/Sicalis-flaveola> y provenían de individuos que cantaban cerca de sus nidos. La amplitud de las reproducciones se estandarizó con RMS (raíz media cuadrática) dentro y entre muestras. La Figura 5 muestra los espectrogramas representativos de los playbacks utilizados en los experimentos.

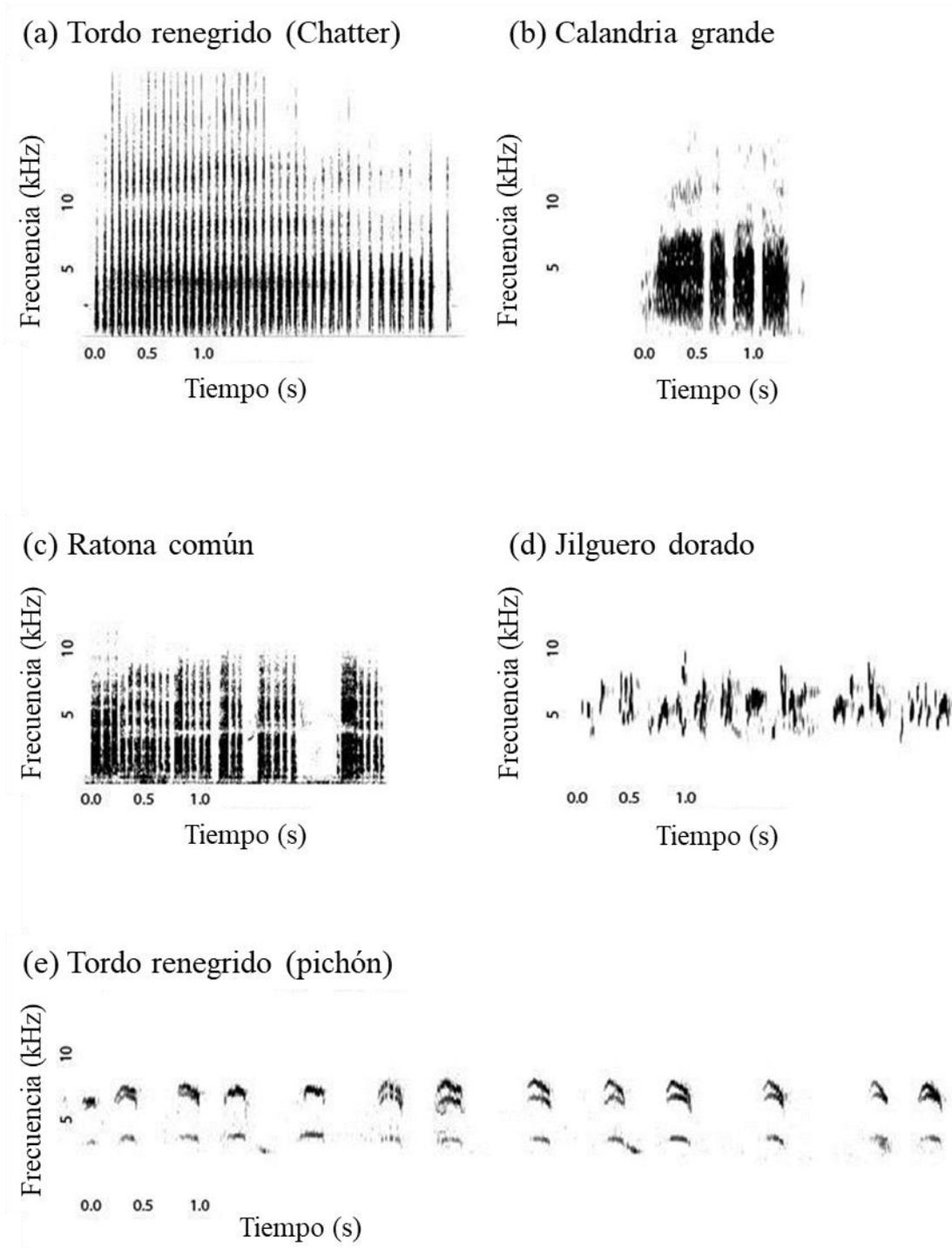


Figura 5. Espectrogramas representativos de los playbacks usados en los experimentos y del llamado de pedido de alimento del pichón de tordo renegrado. (a) chatter de hembra de tordo renegrado (*Molothrus bonariensis*); (b) vocalización de adulto de calandria grande (*Mimus saturninus*), (c) vocalización de adulto al llegar al nido de ratona común (*Troglodytes aedon*), (d) vocalización de adulto de jilguero dorado (*Sicalis flaveola*, i.e., especie no hospedadora), y (e) pedido de alimento del pichón de tordo renegrado.

El pedido de alimento es un comportamiento de respuesta inequívoco y fácilmente cuantificable que refleja la reacción de los pichones a los estímulos acústicos (Hauber et al. 2001) (Figura 3.B). No se observaron otras respuestas de comportamiento como indicador de prestar atención, como "mirar" o "moverse", durante las grabaciones de video de las visitas de alimentación de los adultos hospedadores a los pichones. Por lo tanto, analizamos las grabaciones de video para determinar las siguientes variables respuesta: 1) si el pichón respondió (pidió alimento) al playback o no. Consideramos que el pichón pidió alimento cuando abría el pico durante el tratamiento de playback y 2) intensidad del pedido de alimento (categoría de pedido de alimento para cada una de las siete vocalizaciones del tratamiento de playback). Para cuantificar la intensidad del pedido de alimento asignamos puntajes a las posturas usando la escala de intensidad de Leonard et al. (2003) donde: 0 = cabeza hacia abajo, sin apertura del pico; 1 = cabeza abajo, boquiabierto, sentado sobre los tarsos; 2 = con la cabeza erguida, boquiabierto, sentado sobre los tarsos; 3 = igual que 2, más el cuello estirado hacia arriba; 4 = igual que 3, pero el cuerpo se separa de los tarsos; y 5 = igual que 4, más batir de las alas. La intensidad del pedido de alimento se determinó para los pichones que pidieron al menos una vez de las siete vocalizaciones del tratamiento de playback.

Nuestro trabajo experimental siguió las instrucciones de ASAB/ABS para el uso de animales en investigación. El estudio se realizó con el permiso del Organismo Provincial para el Desarrollo Sostenible (O.P.D.S., Buenos Aires, Argentina; tramitado bajo la Disposición Número DI-2019-48-GDEBA-DANPOPDS) y cumplió con las leyes vigentes de Argentina.

2.2.3. Comparación de las vocalizaciones utilizadas en el experimento

Para analizar las diferencias en la estructura acústica de las vocalizaciones de chatter, hospedador y no hospedador, estudiamos los espectrogramas utilizando el programa RavenPro 1.6.1 (K. Lisa Yang Center for Conservation Bioacoustics 2019). A partir de los espectrogramas determinamos los valores medios de cinco variables (ignorando los armónicos): frecuencia máxima y mínima (Hz), ancho de banda de frecuencia (Hz), frecuencia pico (Hz) y tasa de repetición (número de sílabas/duración).

2.2.4. Analisis estadísticos

Se analizó si la frecuencia de pedido de alimento (pedido de alimento como variable respuesta con dos niveles, sí-no) se vio afectada por: i) categoría de pichón: ratona, tordo criado por ratona y tordo criado por calandria (ya que los pichones de calandria nunca respondieron a los tratamientos, no proporcionaron variabilidad de datos y los excluimos del análisis), ii) tratamiento de playback (hospedador, chatter, control), y la interacción entre "categoría de pichón" y "tratamiento de playback", y iii) fecha del experimento (para considerar posibles cambios a través de la temporada que podrían influir en las respuestas de pedido de alimento). El modelo también incluyó dos factores aleatorios: nido (ya que se probaron los tordos y los pichones hospedadores del mismo nido) y la identidad del pichón anidados dentro del nido (ya que cada pichón fue evaluado para los tres tratamientos). Para este análisis realizamos un modelo lineal generalizado mixto (GLMM) con distribución de error binomial y función de enlace logit. También determinamos si la intensidad del pedido de alimento estaba relacionada con las mismas variables predictoras utilizadas para el análisis anterior, a través de un modelo lineal generalizado mixto (GLMM) con distribución de error binomial negativo y función de enlace logarítmica.

Después de correr los modelos, encontramos que la interacción entre la categoría de pichón y el tratamiento de playback fue significativa. Por lo tanto, realizamos análisis para cada tratamiento de playback (chatter, hospedador y control) evaluando las diferencias entre las categorías de pichones y análisis para cada categoría de pichones (tordos criados por ratona, tordos criados por calandrias y ratonas) evaluando las diferencias entre los tratamientos de playbacks, a través de un modelo lineal generalizado mixto (GLMM). Para cada tratamiento, evaluamos si había diferencias entre las categorías de pichones en: 1) la proporción de pichones que pedían alimento, a través de un GLMM con una distribución de error binomial y función de enlace logarítmica, y 2) la intensidad del pedido de alimento a través de un GLMM con una distribución de error binomial negativa y función de enlace logarítmica. Para cada categoría de pichones, evaluamos si había diferencias entre tratamientos en: 1) la proporción de pichones que pedían alimento, a través de un GLMM con una distribución de error binomial y función de enlace logarítmica, y 2) la intensidad del pedido de alimento para cada categoría de pichón, con un GLMM con una distribución de error binomial negativa y una función de enlace logarítmica. Los contrastes entre las categorías de pichón y los tratamientos de reproducción se realizaron mediante pruebas de comparación múltiple Tukey.

Para analizar las diferencias acústicas entre las vocalizaciones utilizadas en los tratamientos de reproducción, realizamos un análisis de componentes principales (PCA) con las cinco variables acústicas (frecuencia máxima y mínima, ancho de banda de frecuencia, frecuencia máxima y tasa de repetición).

Usamos el software R, Versión 3.4.0 (R Development Core Team 2016) y R Studio, Versión 1.0.143 (RStudio Team 2016) y realizamos los análisis GLMM usando el paquete lme4 (Bates et al. 2015) y el glmmTMB (Brooks et al. 2017). El análisis de PCA se realizó con el Vegan Package versión 2.5-7.

2.3. Resultados

2.3.1. Frecuencia de pedido de alimento

No detectamos un efecto de la fecha del experimento (Intercepto: Estimador \pm SE = -19.6 ± 10.9 , $df = 261$, $Z = -0.18$, $P = 0.86$, fecha del experimento: Estimado \pm SE = -0.004 ± 0.33 , $Z = 0.014$, $P = 0.99$), pero detectamos un efecto de la interacción entre la categoría pichón y tratamiento de playback (Interacción: $\text{Chi}^2 = 74.3$, $P < 0.0001$, categoría de pichón: $\text{Chi}^2 = 3.37$, $P = 0.2$, tratamiento de playback: $\text{Chi}^2 = 100.8$, $P < 0.0001$). Por lo tanto, realizamos los análisis para los tratamientos de playback por separado comparando entre la categoría pichón y para las categorías de pichones comparando entre tratamientos de playbacks.

Al responder al playback de chatter, la proporción de pedido de alimento difirió entre las categorías de pichones (GLMM, Intercepto: Estimador \pm SE = -1.6 ± 0.7 , $df = 87$, $Z = -2.5$, $P = 0.01$, categoría de pichón: $\text{Chi}^2 = 14.8$, $P < 0.001$). Los pichones de tordo criados por ratona y calandria pidieron alimento en una proporción similar (estimador \pm SE = -0.7 ± 0.7 , $Z = -0.9$, $P = 0.6$) y más que los pichones de ratona (tordo criado por ratona vs ratona: estimador \pm SE = 2.3 ± 0.8 , $Z = 2.8$, $P = 0.01$ y tordo criado por calandria vs ratona: estimador \pm SE = 2.9 ± 0.8 , $Z = 3.5$, $P = 0.001$, Tabla 1). Al responder al playback del hospedador, la proporción de pedido de alimento difirió entre las categorías de pichones (GLMM, Intercepto: estimador \pm SE = -0.14 ± 0.7 , $df = 87$, $Z = 0.2$, $P = 0.8$, categoría de pichón: $\text{Chi}^2 = 16.3$, $P = 0.0003$). Los pichones de tordo criados por calandria pidieron alimento en menor proporción que los pichones de tordo criados por ratona (Estimador \pm SE = 3.1 ± 1.0 , $Z = 3.0$, $P = 0.008$) y los pichones de ratona (Estimador \pm SE = -3.3 ± 1.2 , $Z = -2.8$, $P = 0.01$) pero no hubo diferencias

entre tordos criados por ratona y pichones de ratona (Estimador \pm SE = -0.3 ± 0.9 , Z = -0.3 , P = 0.9).

Los pichones de tordo criados por calandrias respondieron con más frecuencia al chatter conoespecífico (76 %) que a las vocalizaciones de las calandrias (7 %, GLMM, Intercepción: Estimador \pm SE = 11.3 ± 1.9 , df = 80, Z = 6.1, P < 0.0001, playback hospedador: Estimador \pm SE = -23.8 ± 2.9 , Z = -8.2 , P < 0.0001), mientras que los pichones de tordo criados por ratona respondieron de manera similar al chatter conoespecífico y a las vocalizaciones de ratona (65% vs. 50 %, Intercepción: estimador \pm SE = 1.4 ± 0.9 , df = 48, Z = 1.4, P = 0.2, playback de hospedador: estimador \pm SE = -1.3 ± 0.9 , Z = -1.5 , P = 0.1). Los pichones de ratona respondieron con más frecuencia al playback de ratona que a al chatter de tordo (48 % frente a 17 %, GLMM, Intercepción: estimador \pm SE = -3.2 ± 2.0 , df = 42, Z = 1.6, P = 0.1, playback hospedador: Estimador \pm SE = 4.3 ± 2.2 , Z = 1.9, P = 0.05), mientras que los pichones de calandria no pidieron alimento durante los tratamientos. Ninguna de las tres especies respondió al playback de vocalizaciones de jiguero dorado (Tabla 1).

Playback tratamiento	Tordo renegrido criado por calandria	Tordo renegrido criado por ratona	Calandria	Ratona
Chatter	32/42 (76%)	17/26 (65%)	0/26 (0%)	4/23 (17%)
Calandria	3/42 (7%)	_____	0/26 (0%)	_____
Ratona	_____	13/26 (50%)	_____	11/23 (48%)
Jilguero	0/42 (0%)	0/26 (0%)	0/26 (0%)	0/23 (0%)

Tabla 1. Número de pichones de cada categoría de pichones que pidieron alimento sobre el número total de pichones para los diferentes tratamientos de playback. El porcentaje de respuestas se muestra entre paréntesis.

2.3.2. Intensidad del pedido de alimento.

No detectamos un efecto de la fecha del experimento (Intercepto: Estimador \pm SE = -1.1 ± 0.5 , $df = 563$, $Z = -2.1$, $P = 0.04$, fecha del experimento: Estimador \pm SE = 0.003 ± 0.002 , $Z = 1.8$, $P = 0.08$), pero detectamos un efecto de la interacción entre la categoría pichón y tratamiento (Interacción: $\text{Chi}^2 = 48.4$, $P < 0.0001$, categoría de pichón: $\text{Chi}^2 = 8.1$, $P < 0.02$, tratamiento: $\text{Chi}^2 = 0.1$, $P < 0.7$). Por lo tanto, realizamos los análisis para los tratamientos de playback por separado comparando entre categorías de pichón y para las categorías pichón comparando entre tratamientos de playback.

Al responder al playback de chatter, la intensidad del pedido de alimento difirió entre las categorías de pichones (GLMM, Intercepto: Estimador \pm SE = -0.5 ± 0.3 , $df = 385$, $Z = -1.7$, $P = 0.1$, categoría de pichón: $\text{Chi}^2 = 14.7$, $P = 0.0006$). Los pichones de tordo criados por calandrias pidieron alimento con mayor intensidad que los tordos criados por ratonas (Estimador \pm SE = -0.8 ± 0.2 , $Z = -3.0$, $P = 0.006$, Figura 6) y más que los pichones de ratona (Estimador \pm SE = 1.3 ± 0.3 , $Z = 3.8$, $P = 0.0001$), pero no hubo diferencias entre tordos criados por ratonas y pichones de ratonas (Estimador \pm SE = 0.5 ± 0.6 , $Z = 1.5$, $P = 0.3$, Figura 6). Al escuchar la reproducción del hospedador, la intensidad del pedido de alimento difirió entre las categorías de pichones (GLMM, Intercepto: Estimador \pm SE = 0.5 ± 0.2 , $df = 176$, $Z = -2.8$, $P < 0.005$, categoría de pichón: $\text{Chi}^2 = 7.9$, $p < 0.01$). Los pichones de tordo criados por calandrias pidieron alimento con mayor intensidad que los pichones de tordo criados por ratona (Estimador \pm SE = 1.4 ± 0.6 , $Z = 2.4$, $P = 0.04$, Figura 6) y los pichones de ratona (Estimador \pm SE = -1.6 ± 0.6 , $Z = -2.8$, $P < 0.01$). Los tordos criados por ratona pidieron alimento con una intensidad similar que los pichones de ratona (Estimador \pm SE = -0.2 ± 0.2 , $Z = -0.9$, $P = 0.6$, Figura 6).

Los pichones de tordo criados por calandrias pidieron alimento más intensamente cuando escucharon el chatter conoespecífico que cuando escucharon una llamada de calandria (Intercepto: Estimador \pm SE = 0.8 ± 0.1 , $df = 232$, $Z = 5.9$, $P < 0.0001$, playback del hospedador: Estimador \pm SE = -2.2 ± 0.5 , $Z = -4.4$, $P < 0.0001$), mientras que los pichones de tordo criados por ratona mostraron una intensidad similar de pedido de alimento cuando escucharon el chatter conoespecífico y la vocalización de ratona (Intercepto: Estimador \pm SE = 0.1 ± 0.2 , $df = 212$, $Z = 0.7$, $P = 0.5$, playback del hospedador: estimador \pm SE = 0.2 ± 0.1 , $Z = -1.4$, $P = 0.2$). Finalmente, los pichones de ratona pidieron alimento más intensamente cuando respondieron al playback de ratona que al chatter de tordo (Intercepto: Estimador \pm

SE = -0.5 ± 0.4 , df = 114, Z = -1.1, P = 0.3, playback del hospedador: Estimador \pm SE = 0.5 ± 0.2 , Z = 2.4, P = 0.01) (Figura 6).

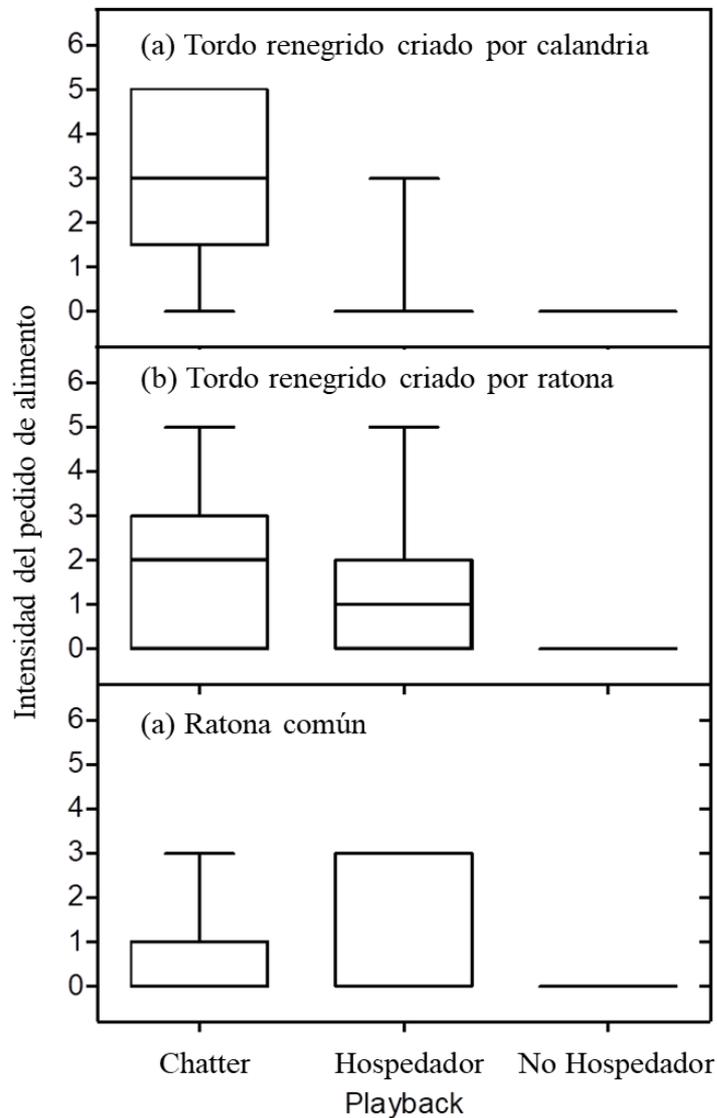


Figura 6. Intensidad de la respuesta de pedido de alimento de las tres categorías de pichones para diferentes tratamientos de playbacks (chatter, playbacks de hospedador y no hospedador): (a) tordos criados por calandrias, (b) tordos criados por ratonas y (c) ratonas. Los diagramas de caja representan gráficamente una serie de datos numéricos a través de sus cuartiles: el primer cuartil, la base de la caja; corresponde al 25% de los valores que son menores o iguales a este valor, la línea del medio de la caja corresponde a la mediana o segundo cuartil, que divide en dos partes iguales la distribución, de forma que el 50% de los valores son menores o iguales a este valor y por último el techo de la caja corresponde al tercer cuartil donde el 75% de los valores son menores o iguales a este valor.

2.3.3. Análisis de las variables acústicas

El PCA biplot de las variables acústicas mostró diferencias entre el chatter de tordo y las vocalizaciones de calandria, ratona y jilguero. PC1 y PC2 explicaron el 64.52% y el 17.24% de la variación total de los datos, respectivamente. Considerando cargas superiores a 0.5, la frecuencia máxima, la frecuencia mínima, la frecuencia pico y el ancho de banda fueron las variables que más contribuyeron a la diferenciación de grupos a lo largo de PC1. El chatter de tordo y las vocalizaciones de ratona fueron relativamente similares y mostraron un ancho de banda más alto que los demás. Las vocalizaciones de jilguero difirieron de las otras vocalizaciones en la frecuencia máxima, mínima y pico (Figura 7). La tasa de repetición fue la variable que más contribuyó a la diferenciación a lo largo de PC2, y el chatter de tordo mostró una mayor tasa de repetición que la vocalización de calandria (Figura 7).

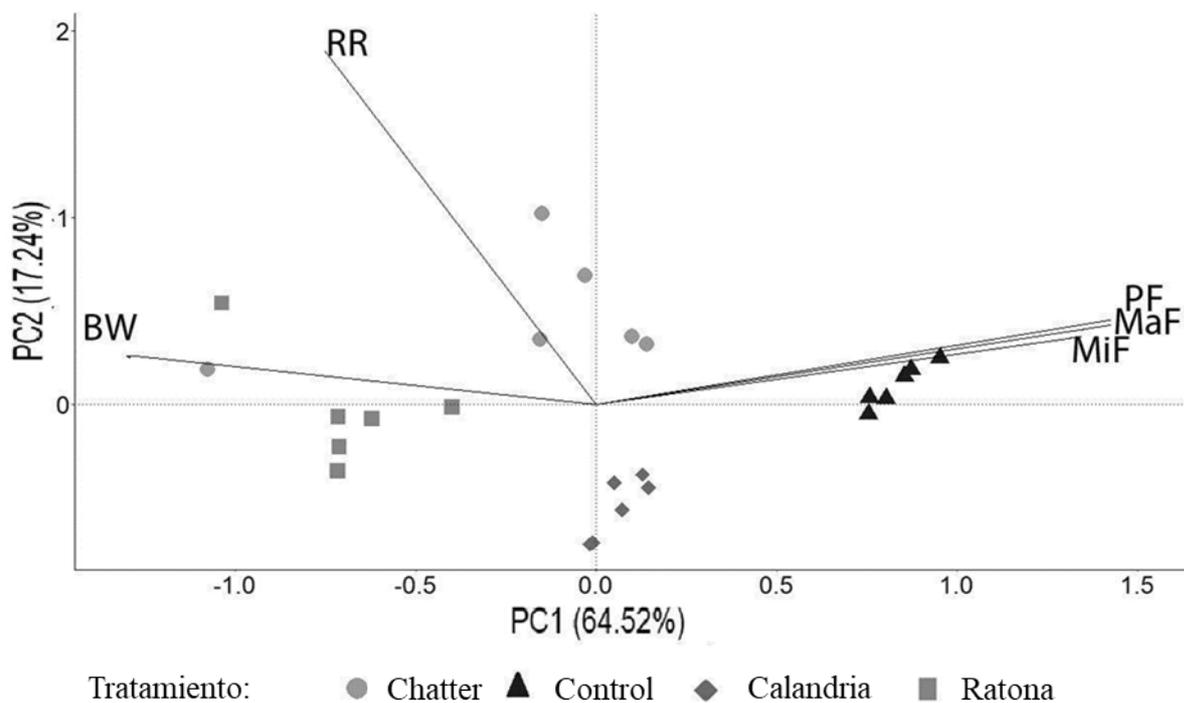


Figura 7. Análisis de componentes principales de biplot de las variables acústicas utilizadas en los tratamientos de playback (chatter de tordo renegrido y vocalizaciones de adultos de ratona, calandria y jilguero dorado "control"). Los componentes principales primero y segundo se trazaron en un plano x-y y representaron el 64.52 % y el 17.24 %, respectivamente, de la varianza total. BW: ancho de banda, RR: tasa de repetición; MiF: frecuencia mínima, MaF: frecuencia máxima y PF: frecuencia pico.

2.4. Discusión

Nuestros resultados mostraron que los pichones de tordo renegrido tienen respuestas de pedido de alimento preferencial hacia el chatter de las hembras conespecíficas en comparación con los pichones de los hospedadores. Al escuchar las vocalizaciones conespecíficas, los pichones parásitos pidieron alimento en mayor proporción (65-76%) que los pichones hospedadores (0-17%). Aunque nuestro experimento no proporciona evidencia directa para la hipótesis de reconocimiento de contraseña, ya que esto requeriría probar a los tordos a una edad en la que es más probable que se asocien con tordos adultos (es decir, después de la salida del nido) proporciona evidencia que muestra que el chatter activa la respuesta en los pichones de tordo renegrido provocando un pedido de alimento preferencial. Si esta preferencia temprana por vocalizaciones conespecíficas continúa después de que los tordos salen del nido, podría favorecer la asociación con individuos de su propia especie en el momento en que se independizan de sus padres adoptivos, permitiéndoles desarrollar un templado de reconocimiento conespecífico (Dooling and Searcy 1982, Whaling et al 1997, Hauber et al 2001).

Nosotros esperábamos que los pichones de tordo al escuchar la vocalización de su hospedador, pidieran alimento de manera similar a los pichones del hospedador, ya que podrían haber aprendido a reconocer las vocalizaciones del hospedador adulto durante el periodo de cría (Tuero et al. 2016). En el caso de los tordos criados por ratona, pidieron con una frecuencia e intensidad alta y similar a la de los pichones de ratona, lo que respalda la predicción de un control positivo. Por otro lado, los pichones de ratona mostraron una menor frecuencia e intensidad de pedido de alimento cuando escuchaban el chatter de hembra de tordo que la vocalización de su propia especie, lo que indicaría que su respuesta es específica de la especie. Los pichones de tordo criados por calandrias también se comportaron de manera similar a los pichones del hospedador, mostrando ambos una baja frecuencia e intensidad del pedido de alimento a las vocalizaciones de calandria adulta. Estos resultados fueron inicialmente sorprendentes porque esperábamos una respuesta más fuerte para los pichones de ambas especies al tratamiento de vocalizaciones de calandria. Sin embargo, observamos a través de 60 horas de grabaciones de video realizadas en 20 nidos, que las calandrias adultas se acercaban silenciosamente al nido cuando alimentaban a los pichones (Crudele, datos no publicados) y los pichones parecían estimulados por las vibraciones de las ramas o del nido cuando los adultos se posaban sobre ellos en lugar de por vocalizaciones de los padres.

Además, durante las primeras sesiones experimentales notamos que los pichones de calandria no pedían alimento cuando escuchaban las reproducciones. Probamos si respondían a una vibración del nido o a un cambio de luz pasando la mano sobre ellos, simulando la llegada del adulto al nido, y todos los pichones pidieron durante este estímulo (N= 11 pichones). La falta de pedido de alimento de los tordos al escuchar la reproducción de calandria difiere de los resultados encontrados por Rivers y colaboradores (2007, 2009), en un estudio realizado en los tordos de cabeza marrón que parasitan a un hospedador grande taxonómicamente similar, el cuitlacoche rojizo, *Toxostoma rufum*. Estos autores encontraron que los pichones parásitos pedían alimento fácilmente ante una amplia gama de estímulos en presencia de adultos e incluso cuando los adultos estaban ausentes (Rivers et al. 2007, 2009). Esta diferencia entre la respuesta de especies de tordos estrechamente relacionados podría tener relevancia en cómo las especies de tordos responden a los estímulos y, por lo tanto, al reconocimiento conespecífico.

Con respecto a la reproducción de la especie control no hospedadora (control negativo), no provocó respuestas de pedido de alimento ni en los pichones de tordo renegrido, ni en los pichones hospedadores, lo que indica que los pichones no responden a los sonidos de una especie que no es relevante para ellos.

Con respecto al mecanismo que podría explicar la respuesta de los pichones de tordo al chatter conespecífico, una posibilidad es que los pichones de tordo tengan una predisposición auditiva por esta vocalización. Esta preferencia perceptual o sesgo sensorial innato podría desarrollarse en animales jóvenes sin necesidad de una experiencia previa con el estímulo (Bolhuis 1991) y conduciría a una preferencia por cantos conespecíficos (Bliard et al. 2021). Alternativamente, la respuesta al chatter podría basarse en un proceso de reconocimiento conocido como emparejamiento de fenotipo autorreferencial (Sherman 1991; Hauber y Sherman 2001). En este caso, los jóvenes utilizan algunas características fenotípicas propias (en este caso, su vocalización) como templado para discriminar a los individuos que encontrarán en el futuro. Hauber y colaboradores (2001) afirmaron que esta explicación sería razonable en los tordos de cabeza marrón debido a la similitud entre las formas de onda y las frecuencias máximas de las llamadas de pedido de alimento de los volantones y los chatter de los adultos.

Hay otras hipótesis alternativas, además de la existencia de una selectividad perceptual para este tipo de vocalizaciones de contacto, que podrían explicar la respuesta a los chatters de los pichones de tordo. Una posibilidad es que estas vocalizaciones de contacto sean como las llamadas de pedido de alimento de las especies hospedadoras más importantes (Hauber et al

2001) y los tordos respondan rápidamente para ser alimentados. Una segunda hipótesis es que las vocalizaciones de contacto se asemejen a vocalizaciones que emiten los hospedadores al acercarse al nido, como es el caso de las ratonas. Sin embargo, en este caso, sería de esperar que también los pichones de ratona respondan con una frecuencia e intensidad similar a la respuesta que producen las vocalizaciones de las ratonas adultas. Sin embargo, este no fue el caso, lo que indica que estas vocalizaciones no son tan similares. Una tercera hipótesis podría ser que si el parasitismo múltiple es común, las respuestas de pedido de alimento más fuertes del tordo hacia el chatter se deban a la gran similitud entre el chatter y la vocalización de pedido de alimento del tordo (coincidencia de fenotipos). En este caso, la mayor tasa de pedido de alimento hacia el playback de chatter podría deberse a la competencia entre hermanos conespecíficos, y no al reconocimiento de especies. Esta idea puede encontrar apoyo ya que la intensidad del pedido de alimento es menor en tordos criados por ratona, donde el número de pichones de tordo por nido parasitado es uno (Tuero et al. 2007) que en nidos de calandrias donde el número de pichones parásitos es 1.6 (rango 1 - 4, Fiorini datos no publicados). Sin embargo, en los nidos de este hospedador de gran tamaño, donde los pichones de tordo son más pequeños que los pichones del hospedador, la competencia por el alimento, en lugar de la coincidencia de fenotipos, parece modular los pedidos de alimento que los pichones emiten no solo para el chatter sino también para las vocalizaciones del hospedador (Tuero et al. 2016). Nuestro experimento mostró que los pichones de tordo renegrido criados en nidos de calandria respondieron con más frecuencia e intensidad al chatter conespecífico que a las llamadas del hospedador y los pichones de tordo criados por ambos hospedadores no respondieron a las llamadas de la especie no hospedadora durante la etapa de pichones en el nido. Esto indicaría que la preferencia por el chatter conespecífico es innata o se desarrolla en una etapa muy temprana después de la eclosión. Aunque en ese momento el pichón parásito no tiene contacto directo con sus congéneres adultos, podría escuchar el chatter de las hembras de tordo que están cerca del nido y eventualmente verlas, lo que le permitiría al pichón comenzar a aprender las características de sus congéneres antes de salir del nido. Al respecto, Soler y Soler (1999) encontraron que adultos de críalo (*Clamator glandarius*) visitaban nidos parasitados y tenían contacto con pichones y sugirieron que este comportamiento podría promover el imprinting en críalos jóvenes.

En el siguiente capítulo de la tesis presentaré los resultados de un experimento en el que se evaluó si el chatter, además de producir una respuesta preferencial en los pichones, es la señal utilizada por los juveniles para desarrollar el templado con conespecíficos. Los resultados

apoyan la hipótesis que propone que una señal auditiva -el chatter- media el aprendizaje posterior de características morfológicas adicionales (Louder et al. 2019).

Aunque la evidencia mostró que los pichones de tordo de 6 días de edad responden al chatter conespecífico (Hauber et al. 2001, este estudio), los estudios realizados hasta el momento no han analizado si esta señal acústica produce una estimulación neural en los pichones. Los estudios que analizaron la expresión de genes en el cerebro anterior auditivo se realizaron en adultos y juveniles de tordo cabeza marrón (Lynch et al. 2017, Louder et al. 2019a). Sería interesante determinar si en los pichones también se produce una respuesta neurogenómica al chatter y si la exposición a la contraseña influye en la neuroplasticidad. Esto nos permitiría discernir entre dos hipótesis alternativas. La primera, como sugieren nuestros resultados, es que los tordos son sensibles a la contraseña desde que nacen. En este caso, es posible que tengan un amplio período sensible al imprinting (Immelmann 1975) que comenzaría durante la fase de cría pero se consolidaría después de que el tordo se independencia del hospedador, cuando los juveniles interactúan con otros tordos en bandadas conespecíficas (Hann y Fleischer 1995). La segunda es que los tordos tienen un imprinting tardío y son sensibles a la señal conespecífica solo después de la salida del nido, cuando aumenta la probabilidad de interactuar con conespecíficos (Bateson 1979, O'Loughlen and Rothstein 1993, 2002).

En conclusión, nuestros resultados indican que los pichones de tordo renegrado responden diferencialmente al chatter conespecífico y son consistentes con la hipótesis de la contraseña, agregando nueva evidencia a la idea de que los parásitos tienen una predisposición a las señales auditivas conespecíficas que iniciarían el reconocimiento de especies.

Ética

El estudio se realizó con el permiso del Organismo Provincial para el Desarrollo Sostenible (O.P.D.S., Buenos Aires, Argentina; tramitado bajo la Disposición Número DI-2019-48-GDEBA-DANPOPDS) y cumplió con las leyes vigentes de Argentina.

Este capítulo fue publicado el 13 de Enero del 2022 en la revista *Frontiers in Ecology and Evolution*: Crudele I, Reboreda JC and Fiorini VD (2022) Preferential Begging Responses of Shiny Cowbirds to the Conspecific Chatter Call". *Front. Ecol. Evol.* 9:725051. doi: 10.3389/fevo.2021.725051

2.5. Bibliografia

Argel de Oliveira M.M. (1989). Eco-Etologia do sabiá-do-campo *Mimus saturninus* (Lichtenstein, 1823) Passeriformes, Mimidae [dissertation]. Universidade Estadual de Campinas, Brasil, 71,72.

Bates, D., Mächler, M., Bolker, B. and Walker, S. (2015). Fitting linear mixed-effects models using lme4. *Journal of Statistical Software* 67, 1-48.

Bateson, P.P.G. (1966). The characteristics and context of imprinting. *Biological Reviews* 41, 177-220.

Bateson, P.P.G. (1979). How do sensitive periods arise and what are they for? *Animal Behaviour* 27, 470-486.

Bliard, L., Qvarnström, A., Wheatcroft, D. (2021). The role of introductory alarm calls for song discrimination in *Ficedula* flycatchers, *Animal Behaviour* 177, 241-251.

Bolhuis, J.J. (1991). Mechanisms of avian imprinting: A review. *Biological Reviews* 66, 303-345.

Bortolato, T., Ros, G., Reboreda, J.C. and Fiorini, V.D. (2019). Size matters: shiny cowbirds secure more food than host nestmates thanks to their larger size, not signal exaggeration. *Animal Behaviour* 157, 201-207.

Brooks, M.E., Kristensen, K., van Benthem, K.J., Magnusson, A., Berg, C.W., Nielsen, A., Skaug, H.J., Maechler, M. and Bolker, B.M. (2017). “glmmTMB Balances Speed and Flexibility Among Packages for Zero-inflated Generalized Linear Mixed Modeling. *The R Journal* 9, 378-400.

Burnell, K. and Rothstein, S. I. (1994). Variation in the structure of female brown-headed cowbird vocalizations and its relation to vocal function and development. *Condor* 96, 703-715.

Dooling, R.J. and Searcy, M.H. (1982). Early perceptual selectivity in the swamp sparrow. *Developmental Psychobiology* 13, 499-506.

Fiorini, V.D. and Reboreda, J.C. (2006). Cues used by shiny cowbirds (*Molothrus bonariensis*) to locate and parasitise chalk-browed mockingbird (*Mimus saturninus*) nests. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 60, 379-385.

Freeberg, T.M., King, A.P., and West, M.J. (1995). Social malleability in cowbirds (*Molothrus ater artemisiae*): species and mate recognition in the first 2 years of life. *Journal of Comparative Psychology* 109, 357-367.

Freed-Brown, G., and White, D.J. (2009). Acoustic mate copying: female cowbirds attend to other females' vocalizations to modify their song preferences. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 276, 3319-3325.

Friedmann, H. (1929). *The cowbirds. A study in the biology of social parasitism.* C. C. Thomas, Springfield, IL.

Gloag, R., Tuero, D.T., Fiorini, V.D., Reboreda, J.C. and Kacelnik, A. (2012). The economics of nestmate-killing in avian brood parasites: a provisions trade-off. *Behavioral Ecology* 23, 132-140.

Han, D.C. and Fleisher, R.C. (1995). DNA fingerprint similarity between female and juvenile brown-headed cowbirds trapped together. *Animal Behaviour* 49, 1577-1580.

Hauber, M.E. and Sherman, P.W. (2001). Self-referent phenotype matching: theoretical considerations and empirical evidence. *Trends in Neuroscience* 24, 609-616.

Hauber, M.E., Russo, S.A. and Sherman, P.W. (2001). A password for species recognition in a brood-parasitic bird. *Proceedings of the Royal Society of London B* 268, 1041-1048.

Immelmann, K. (1975). Ecological significance of imprinting and early learning. *Annual Review of Ecology and Systematics* 6,15-37.

Johnson, K.P. and Lanyon, S.M. (1999). Molecular systematics of the grackles and allies, and the effect of additional sequence (CYT B and ND2). *Auk* 116, 759-768.

K. Lisa Yang Center for Conservation Bioacoustics (2019). Raven Pro: Interactive Sound Analysis Software (Version 1.6.1) [Computer software]. Ithaca, NY: The Cornell Lab of Ornithology.

Kohn, G.M. (2018). Female vocalizations predict reproductive output in brown-headed cowbirds (*Molothrus ater*). *PLoS ONE* 13(12): e0202067.

Lanyon, S.M., (1992). Interspecific brood parasitism in blackbirds (Icterinae): a phylogenetic perspective. *Science* 255, 77-79.

Lickliter, R. and Lewkowicz, D.J. (1995). Intersensory experience and early perceptual development: attenuated prenatal sensory stimulation affects postnatal auditory and visual responsiveness in bobwhite quail chicks (*Colinus virginianus*). *Developmental Psychology* 31, 609-618.

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

Lorenz, K. (1937). The companion in the bird's world. *Auk* 54, 245-273.

Louder, M.I.M., Balakrishnan, C.N., Louder, A.A.N., Driver, R.J., London, S.E. and Mark, E. (2019). An acoustic password enhances auditory learning in juvenile brood parasitic cowbirds, *Current Biology* 29, 1-7.

Louder, M.I.M., Lawson, S., Lynch, K.S., Balakrishnan, C.N. and Hauber, M.E. (2019). Neural mechanisms of auditory species recognition in birds. *Biological Reviews* 94, 1619-1635.

Lowther, P.E. (2018). Lists of victims and hosts of the parasitic cowbirds (*Molothrus*). <https://www.fieldmuseum.org/sites/default/files/cowbird-hosts-05sep2018.pdf>.

Lynch, K.S., Gaglio, A., Tyler, E., Coculo, J., Louder, M.I.M. and Hauber, M.E. (2017). A neural basis for password-based species recognition in an avian brood parasite. *Journal of Experimental Biology* 220, 2345-2353.

Mulard, H., Vignal, C., Pelletier, L., Blanc, A. and Mathevon, N. (2010). From preferential response to parental calls to sex-specific response to conspecific calls in juvenile zebra finches. *Animal Behaviour* 80, 189-195.

O’Loughlen, A.L. and Rothstein, S.I. (1993). An extreme example of delayed vocal development: song learning in a population of wild brown-headed cowbirds. *Animal Behaviour* 46, 293-304.

O’Loughlen, A.L. and Rothstein, S.I. (2002). Ecological effects on song learning: delayed development is widespread in wild populations of brown-headed cowbirds. *Animal Behaviour* 63, 475-486.

R Development Core Team (2013) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org>. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

RStudio Team (2020). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, PBC, Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.

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

Rivers, J.W. (2009) Parent-absent begging in the Brown-headed Cowbird (*Molothrus ater*): the role of short-term need and nestmate size. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 63, 707-717.

Rothstein, S.I., Yokel, D.A. and Fleischer, R.C. (1988). The agonistic and sexual functions of vocalizations of male brown-headed cowbirds, *Molothrus ater*. *Animal Behaviour* 36, 73-86.

Salzen, E.A. (1998). Imprinting. In *Comparative psychology* (ed. G. Greenberg and M.M.Haraway) New York: Garland, 566-575.

Sherman, P.W. (1991). Multiple mating and kin recognition by self-inspection. *Ethology and Sociobiology* 12, 377-386.

Shizuka, D. (2014). Early song discrimination by nestling sparrows in the wild. *Animal Behaviour* 92, 19-24.

Slagsvold, T. and B. T. Hansen (2001). Sexual imprinting and the origin of obligate brood parasitism in birds. *American Naturalist* 158, 354-367.

Soler, M. and Soler, J.J. (1999). Innate versus learned recognition of conspecifics in great spotted cuckoos *Clamator glandarius*. *Animal Cognition* 2, 97-102.

tenCate, C. and Vos, D.R. (1999). Sexual imprinting and evolutionary processes in birds: a reassessment. *Advances in the Study of Behavior* 28, 1-31.

Tuero, D.T., Fiorini, V.D. and Reboreda, J.C. (2007). Effects of shiny cowbird *Molothrus bonariensis* parasitism on different components of house wren *Troglodytes aedon* reproductive success. *Ibis* 149, 521–529.

Tuero, D.T., Gloag, R., and Reboreda, J.C. (2016). Nest environment modulates begging behavior of a generalist brood parasite. *Behavioral Ecology* 27, 204-210.

Whaling, C.S., Solis, M.M., Doupe, A.J., Soha, J.A. and Marler, P. (1997). Acoustic and neural bases for innate recognition of song. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94, 12694-12698.

Wheatcroft, D. and Qvarnström, A. (2015) A blueprint for vocal learning: auditory predispositions from brains to genomes. *Biology Letters* 11, 20150155.

Wheatcroft, D. and Qvarnström, A. (2017) Genetic divergence of early song discrimination between two young songbird species. *Nature Ecology and Evolution* 1, 0192.

Wright, T.F., Brittan-Powell, E.F., Dooling, R.J. and Mundinger, P.C. (2004) Sex-linked inheritance of hearing and song in the Belgian Waterslager canary. *Proceedings of the Royal Society B*, 271S409–S412.

Capítulo 3

Imprinting en el tordo renegrado, un ave parásita de cría interespecífica

3.1. Introducción

3.1.1 *El imprinting*

El imprinting es un proceso por el cual los animales, después de una experiencia temprana con individuos o una clase específica de objetos, aprenden sus características y restringen sus preferencias sociales a ellos (Bateson 1966, Immelmann 1975). Este tipo de aprendizaje se ha descrito en insectos (Kozak et al 2011), arañas (Hebets 2003), peces (Verzijden et al. 2008) y mamíferos (Asaba et al. 2014), incluidos los humanos (Bressan 2020), pero se ha estudiado principalmente en aves (Hess 1964, Bolhuis 1991).

En condiciones naturales, el imprinting permite a los individuos reconocer y preferir a sus conespecíficos y es adaptativo en diferentes contextos sociales (Immelmann 1975). En las aves, el imprinting temprano en la vida permite que los pichones desarrollen un apego social con sus padres (imprinting filial) (Spalding 1873, Lorenz 1935). El imprinting también permite a los individuos limitar las preferencias que se expresan más adelante en la vida para formar parejas sexuales o de apareamiento (imprinting sexual; Bolhuis 1991, Bateson 1979). Además del aprendizaje a través de la experiencia con el estímulo, el reconocimiento o apego social puede involucrar predisposiciones visuales y auditivas (Bolhuis 1996). Estas predisposiciones se consideran una preferencia perceptual desarrollada en animales jóvenes sin necesidad de una experiencia previa con el estímulo (Bolhuis 1996).

Muchos trabajos han encontrado que pichones de aves precociales como la gallina doméstica (*Gallus gallus*), los patos (*Anas spp.*), los gansos (*Anser spp.*) y las codornices (*Coturnix coturnix*) se improntan con objetos de diferentes colores, tamaños y formas, así como con modelos disecados de diferentes especies de aves (Bateson 1966, Lorenz 1937) (para revisión ver Bolhuis 1991). Además, Martinho y Kacelnik (2016) demostraron que los patitos pueden improntarse en una relación lógica entre estímulos (mismo o diferente color o forma).

3.1.2. *Imprinting en aves altriciales*

La evidencia de imprinting en las especies de aves altriciales es más limitada que en las precociales. Los estudios de reconocimiento sexual en diamante mandarín (*Taeniopygia guttata*) encontraron que los machos criados en cautiverio preferían individuos con el plumaje y el morfo del pico de la madre (Vos 1994, Vos 1995). Además, Slagvold et al. (2002) estudiaron el imprinting sexual en la naturaleza a través de experimentos cruzados en los que pichones de carbonero común (*Parus major*) o herrerillo común (*Cyanistes caeruleus*) eran criados por conespecíficos o heteroespecíficos. Descubrieron que los carboneros criados por heteroespecíficos tenían un imprinting incorrecto y no se emparejaban con sus congéneres, mientras que no se observó tal efecto en los herrerillos. Sus resultados mostraron que las especies de aves pueden diferir en el efecto que tiene el aprendizaje temprano en el reconocimiento conespecífico.

El imprinting puede basarse no solo en señales visuales sino también en señales acústicas. Clayton et al. (1988) demostraron que el entorno social acústico temprano de los pichones de diamante mandarín influye en la producción de cantos de los machos y el aprendizaje de reconocimiento de las hembras. Además, Riebel y colaboradores (2002) también encontraron que los diamantes mandarines machos y hembras preferían el canto del padre al que estaban expuestos tempranamente, en lugar de uno desconocido. Además, cuando las hembras de las dos subespecies de diamante mandarín fueron criadas en nidos de la otra subespecie, presentaron más demostraciones sexuales durante la reproducción de cantos de la especie adoptiva que durante la reproducción de cantos de su especie (Clayton 1990). Sin embargo, aunque los diamantes mandarines machos y hembras prefieren las vocalizaciones familiares (Riebel 2002, Miller 1979), los juveniles que no estuvieron expuestos a los cantos conespecíficos de los adultos, prefieren los cantos de los diamantes mandarines a los cantos control (Braaten 1999, Lauay et al. 2004). Estos resultados indican que otros factores además del imprinting podrían estar involucrados en el reconocimiento conespecífico.

3.1.3. *El imprinting en aves parasitas de cría*

Los parásitos de cría interespecíficos ponen sus huevos en nidos de otras especies, y son ellas

quienes brindan todo el cuidado parental. Los juveniles parásitos se enfrentan a un interesante problema al tener que aprender las señales conespecíficas mientras son criados por heteroespecíficos. Durante el periodo en el que están en el nido y apenas volantonean, no suelen estar en contacto con conespecíficos o lo están en baja frecuencia. Sin embargo, luego logran encontrar y reconocer a sus conespecíficos con quienes más adelante se aparean y reproducen con éxito. Las aves normalmente aprenden a reconocer a sus congéneres a través de la experiencia temprana y, en la mayoría de los casos, aprenden las características de sus padres (utilizando por ejemplo estímulos visuales o auditivos). Pero los parásitos de cría interespecíficos y algunas otras especies "no parentales", como los megápodos (*Megapodiidae*) no cuentan con este tipo de información (Göth and Hauber 2004).

Existen pocos trabajos que hayan estudiado el proceso de imprinting en especies de aves parásitas de cría. Payne y colaboradores (2000) investigaron el imprinting por el hospedador (preferencia del parásito por la especie hospedadora que lo crió) en la viuda senegalesa (*Vidua chalybeata*). Descubrieron que las hembras criadas por su hospedador (amaranta senegalesa *Lagonosticta senegala*) preferían parasitar los nidos de amaranta senegalesa, mientras que las criadas por la isabelita de japon, *Lonchura striata*, preferían parasitar los nidos de isabelita. En los viduidos parásitos de cría, el imprinting podría conducir a la especiación simpátrica (Sorenson et al. 2003), ya que en estas especies los machos imitan el canto del hospedador (Payne and Payne 1994), mientras que las hembras usan estos cantos para elegir tanto a sus parejas como a los nidos que parasitan (Payne et al. 2000).

Los parásitos de cría obligados no tienen la oportunidad de desarrollar el reconocimiento de sus conespecíficos utilizando las señales proporcionadas por los adultos que los crían, por lo que el desafío es comprender cómo aprenden a reconocer a sus conespecíficos e improntarse con ellos. King y West (1977) encontraron que las hembras de tordo cabeza marrón (*Molothrus ater*) criadas en aislamiento auditivo y visual de tordos adultos mostraban una respuesta copulatoria cuando escuchaban el canto de los tordos machos durante la temporada de reproducción. Propusieron que esta respuesta es un mecanismo que asegura la identificación de especies e induce un comportamiento sexualmente apropiado. Sin embargo, este mecanismo no explica cómo los tordos juveniles llegan por primera vez a reconocer a sus congéneres (King and West 1977), ya que en el momento de la independencia de sus padres adoptivos, los tordos juveniles ya se unen a conespecíficos adultos en bandadas de forrajeo. Hauber y colaboradores (2001) propusieron que el reconocimiento conespecífico se inicia cuando las crías encuentran alguna señal única específica de la especie o 'contraseña' (por ejemplo, una vocalización, comportamiento u otra característica) que desencadena el

aprendizaje de aspectos adicionales del fenotipo del productor de la contraseña. Propusieron que para los tordos de cabeza marrón, la contraseña es el chatter, una vocalización innata específica de la especie. Descubrieron que los pichones de tordo pedían alimento más frecuentemente al escuchar los playbacks de chatter que al escuchar otros sonidos de aves y los pichones criados en cautiverio se acercaban a los playbacks de chatter más rápido que a las vocalizaciones de heteroespecíficos (Hauber et al. 2001). Además, los juveniles y adultos de tordo cabeza marrón silvestres se acercaron a los playbacks de chatter con más frecuencia que a los playbacks de sonidos control (Hauber et al. 2001). Además, estudios neurobiológicos encontraron evidencia indirecta que respalda la hipótesis de la contraseña. Lynch y colaboradores (2017) demostraron que en los tordos cabeza marrón, la región del prosencéfalo auditivo expresa mayores densidades del producto proteico del gen inmediato-temprano ZENK en respuesta al chatter que a sonidos control de la paloma de luto (*Zenaida macroura*), lo que indica que cuando los tordos escuchan el canto conoespecífico, exhiben una respuesta neuronal específica en regiones del cerebro que son clave para el reconocimiento social. Además, Louder y colaboradores (2019) encontraron que el chatter mejoró el aprendizaje de la producción de cantos en los machos e indujo un perfil neurogenómico de familiaridad de cantos en las hembras, incluso para cantos heteroespecíficos, cuando machos y hembras de tordos jóvenes acústicamente novatos fueron expuestos a cantos combinadas con chatters.

El aprendizaje intermodal se refiere a la integración adaptativa y sinérgica de percepciones complejas de múltiples modalidades sensoriales, de modo que el aprendizaje que ocurre dentro de cualquier modalidad sensorial individual puede mejorarse con información de una o más modalidades (Zhang et al. 2022). De acuerdo con la hipótesis de la contraseña, el chatter puede desencadenar un proceso de aprendizaje intermodal a través del cual los juveniles que escuchan la vocalización aprenden a reconocer las características visuales del emisor de la vocalización. En el chingolo corona blanca (*Zonotrichia leucophrys ariantha*), una especie no parásita, se encontró que las vocalizaciones específicas de la especie sirven como una señal para el reconocimiento de conoespecíficos y actúan como un factor relevante en el aprendizaje del canto (Whaling et al. 1997). Diferentes trabajos (Whaling et al. 1997, Soha and Marler 2000) que estudiaron el efecto del silbido introductorio del chingolo corona blanca en el aprendizaje del canto encontraron que este silbido introductorio sirve como llamada de atención que en los pájaros jóvenes parece estimular la atención y la memorización de las frases que escuchan a continuación (Soha and Marler 2000). Los parásitos de cría interespecíficos son un modelo ideal para probar el aprendizaje intermodal porque en estas especies los efectos de confusión de la exposición al cuidado de los padres están ausentes de

forma natural. Por lo tanto, servirían como una de las pruebas más limpias de aprendizaje intermodal para mostrar si las señales acústicas facilitan directamente el aprendizaje intermodal de señales visuales.

De manera similar a lo que se encontró en el tordo cabeza marrón, los pichones de tordo renegrido (*M. bonariensis*) criados por uno de sus hospedadores (la calandria grande, *Mimus saturninus*), pidieron alimento más intensamente en respuesta a los playbacks de chatter conespecíficos que a las vocalizaciones del hospedador, lo que indica que tienen una respuesta perceptual especie-específica (Capítulo 2, Crudele et al. 2022). Después de salir del nido, los volantones de tordo renegrido permanecen asociados con sus padres adoptivos durante aproximadamente 30 a 40 días y, en ese momento, se unen a las bandadas de forrajeo de sus conespecíficos y comienzan a alimentarse junto a ellos (Capítulo 4).

Hasta ahora, los estudios en tordos cabeza marrón indican que los pichones y los juveniles reconocen el chatter y esta vocalización produce una respuesta neuronal específica asociada con el reconocimiento social. Sin embargo, no hay evidencia que demuestre que después de que los tordos son expuestos al chatter, muestren una preferencia visual por el fenotipo asociado con el emisor del chatter. En este trabajo, mostramos experimentalmente que el chatter desencadena el aprendizaje de aspectos morfológicos percibidos visualmente del emisor, lo que impulsa futuras preferencias sociales por conespecíficos (es decir, imprinting sexual).

3.2. Métodos

3.2.1 Experimento

Para llevar a cabo el experimento, se recolectaron pichones de tordos renegrido durante las épocas reproductivas de 2019, 2020 y 2021 en "Reserva El Destino", cerca de la ciudad de Magdalena (35° 80'80" S, 57° 82'30" O). Los mismos fueron extraídos de nidos de calandria grande (*Mimus saturninus*) (N=9 pichones) y ratona común (*Troglodytes aedon*) (N=18 pichones) a los 10 ± 0.2 días de edad (por lo general dejan el nido cuando tienen 12-13 días de edad). Los pichones se mantuvieron durante 4-5 días aislados visualmente en

recipientes de 12 cm de diámetro y 18 cm de altura, se alimentaron con una pasta húmeda de comida para aves insectívoras (CéDé) y Nestum 5 Cereales, una vez por hora hasta que estaban saciados. Cuando cumplieron 13-14 días y pudieron mantenerse de pie en las perchas, los trasladamos a jaulas de 120 cm x 40 cm x 40 cm donde continuaron aislados visualmente (Figura 1). Cuando los individuos tenían 30 días de edad, les ofrecimos semillas de mijo y agua ad libitum las cuales comenzaron a consumir aproximadamente a los 40 días de edad.



Figura 1. Secuencia fotografía de un volantón de tordo renegrado de 15 días de edad, siendo alimentado a mano con una pasta húmeda en su jaula individual.

Entrenamos a dos grupos de juveniles de tordo renegrado en cautiverio. En un tratamiento (directo), durante el entrenamiento, los individuos (N=14) escucharon el canto y observaron el modelo de la misma especie (chatter del tordo asociado con el modelo de tordo y canto de un heteroespecífico asociado con el modelo de un heteroespecífico) (Figura 2.A). En el otro tratamiento (cruzado) los individuos (N=13) escucharon el canto de una especie pero observaron el modelo de la otra (chatter del tordo asociado con el modelo de un heteroespecífico y canto de un heteroespecífico asociado con el modelo de un tordo) (Figura 2.B, Tabla 1).

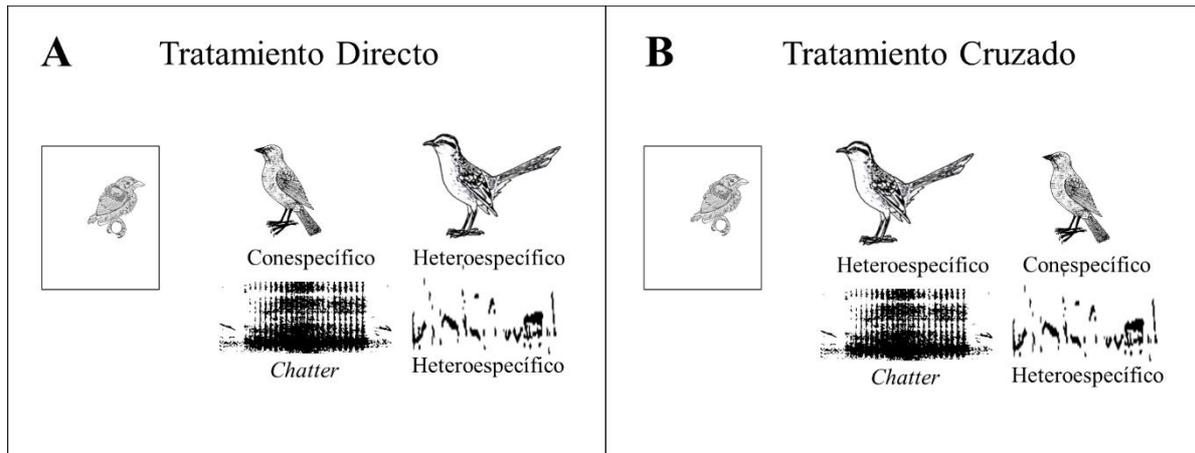


Figura 2. Para testear si los juveniles de tordo renegrado utilizan el chatter como clave que desencadena el aprendizaje de algunos aspectos morfológicos del emisor, entrenamos a dos grupos de tordos en cautiverio. En el tratamiento "directo", durante el entrenamiento, los tordos (N = 14) escucharon el chatter y observaron el modelo taxidermizado de la misma especie, mientras que en el tratamiento "cruzado", durante el entrenamiento, los tordos (N = 13) escucharon el chatter pero observaron el modelo taxidermizado de la otra especie. En la figura están representados el juvenil de tordo renegrado dentro del rectángulo (jaula individual), el modelo conespecífico sobre el sonograma del chatter y uno de los modelos heteroespecíficos (la calandria) sobre el sonograma de una de sus vocalizaciones. Cada juvenil de tordo se entrenó con un solo modelo heteroespecífico y sus vocalizaciones correspondientes. Para mayor claridad, no se muestran los otros modelos heteroespecíficos ni los sonogramas de sus vocalizaciones utilizados en el experimento.

Los modelos conespecíficos fueron tres hembras de tordo renegrado, mientras que los modelos heteroespecíficos fueron un zorzal colorado (*Turdus rufiventris*), un hornero (*Furnarius rufus*) y una calandria grande (*Mimus saturninus*). Estas especies heteroespecíficas fueron elegidas porque son especies comunes en el área de estudio y pudimos obtener modelos taxidermizados del Museo de Ciencias Naturales 'Bernardino Rivadavia'. El número de juveniles de tordo renegrado que se entrenaron con cada modelo heteroespecífico, para los tratamientos directo y cruzado respectivamente, fueron: 8 y 6 para el modelo de zorzal colorado, 4 y 5 para el modelo de hornero y 2 y 2 para el modelo de calandria grande. Tuvimos la precaución de no utilizar el modelo de heteroespecífico de calandria para pichones de tordo recolectados de nidos de calandria para evitar un posible sesgo de exposición temprana a este hospedador.

Los playbacks utilizados durante el entrenamiento se construyeron a partir de vocalizaciones

estandarizadas con RMS (raíz media cuadrática) de la amplitud, dentro y entre muestras. Esta estandarización permite escalar diferentes archivos de sonido a aproximadamente el mismo volumen. Para construir los playbacks de cada especie (tordo y heteroespecíficos), utilizamos vocalizaciones de seis individuos de cada especie que se ordenaron aleatoriamente para generar seis secuencias diferentes de un minuto, con una vocalización cada 30 segundos. Las vocalizaciones se obtuvieron de nuestras propias grabaciones y del sitio web de xeno-canto (<https://www.xeno-canto.org>). El entrenamiento comenzó cuando los tordos tenían 16.9 ± 0.4 días de edad (rango 13-19 d). Recibieron aproximadamente 15 bloques de dos sesiones (una sesión por día en días consecutivos) con un intervalo de 2 días entre bloques. Cada sesión tuvo una duración de 1 hora y durante este tiempo los individuos escucharon la reproducción y pudieron observar un modelo taxidermizado ubicado al lado de la jaula a la misma altura que las perchas. En el tratamiento directo, los individuos escucharon el canto y observaron el modelo de la misma especie (en una sesión el chatter del tordo asociado con el modelo de tordo, y en la otra sesión del bloque, el canto de un heteroespecífico asociado con el modelo de un heteroespecífico) mientras que en el tratamiento cruzado los tordos escucharon el canto de una especie pero observaron el modelo de la otra especie (en una sesión el chatter del tordo asociado con el modelo de un heteroespecífico y en la otra sesión del bloque el canto de un heteroespecífico asociado con el modelo de un tordo). En cada tratamiento, el entrenamiento se repitió hasta que los juveniles tenían 94.5 ± 3.6 días (rango 76 - 119 días) resultando en 15.3 ± 0.5 sesiones de bloques (rango 12 - 18 bloques). El momento de la sesión final de entrenamiento se determinó en base a nuestras observaciones de tordos renegridos y la bibliografía de tordos cabeza marrón que indican que en la naturaleza, los juveniles a esta edad ya se observan en bandadas con adultos (Louder et al. 2015) (Capítulo 4).

Los individuos fueron testeados cuando tenían 95 ± 2.3 días de edad (rango 75 -124 días). Tres días antes del testeo, cada individuo fue trasladado a una arena experimental para su aclimatación. La arena era una sala aislada acústicamente y visualmente de 3 x 3 x 3 m, con tres perchas ubicadas a 1 m de altura. Dos perchas estaban en lados opuestos de la habitación, a 50 cm de dos pequeñas plataformas de 10 x 10 cm donde ubicamos los modelos durante la prueba. La tercera percha (neutra) se colocó en el medio de la habitación (Figura 3). Durante la mañana del día de la prueba, colocamos el tordo y el modelo heteroespecífico en lados opuestos del aviario, ocultos por cortinas corredizas. Cuando el ave estaba posada en la percha neutra, movimos las cortinas lentamente para permitirle ver ambos modelos simultáneamente y en ese momento se daba por iniciado la sesión de testeo. No se emitieron reproducciones

durante la sesión de testeo. Filmamos la sesión durante 15-30 minutos. Usamos dos variables para determinar la preferencia de los individuos por uno de los modelos: 1) la identidad del modelo al que las aves se acercaron primero, y 2) la proporción de tiempo que el ave estuvo en la percha más cerca de cada modelo. Los tamaños de muestra fueron 14 individuos (10 hembras y 4 machos) para el tratamiento “directo” y 13 individuos (6 hembras y 7 machos) para el tratamiento “cruzado”).



Figura 3. Fotografía de la arena experimental donde se evaluó la preferencia de los tordos juveniles por los modelos. El juvenil de tordo renegrado está situado en la percha central (neutra). En los lados opuestos de la habitación se encuentran los modelos taxidermizados, en este caso el heteroespecífico (zorzal colorado) en el extremo izquierdo y el modelo conespecífico (hembra de tordo renegrado) en el extremo derecho

3.2.2. Análisis estadístico

Comparamos el número de juveniles que se acercaron primero al modelo asociado con el chatter en cada tratamiento a través del test Exacto de Fisher. Para determinar si la proporción de tiempo que los juveniles pasaron con el modelo asociado con el chatter (variable respuesta) difería entre los tratamientos (variable predictora), realizamos un GLM con distribución de error beta y función de enlace logarítmico (Ferrari and Cribari-Neto 2004). Para determinar si en cada tratamiento la proporción de tiempo que los juveniles pasaban con el modelo asociado con el chatter difería de 0.5, evaluamos el P del intercepto cuando incluía uno u otro nivel del tratamiento. Transformamos la variable de respuesta (y) siguiendo (Smithson and Verkuilen

2006) como $y \pm x ((n - 1) + 0.5) / n$, donde n es el número de observaciones. Usamos el software R, Versión 3.4.0 (R Development Core Team. 2013), y el R Studio, Versión 1.0.143 (RStudio Team RStudio. 2020). El análisis de los datos se realizó utilizando el paquete betareg (paquete betareg v3.1-4 (1) (Cribari-Neto and Zeileis 2010).

3.3. Resultados

En ambos tratamientos, durante la prueba de preferencia, los individuos se acercaron primero al modelo que se asoció durante el entrenamiento al chatter (Tabla 1). En el tratamiento "directo", 12 de 14 individuos se acercaron primero al modelo de tordo, mientras que en el tratamiento "cruzado", 12 de 13 individuos se acercaron primero al modelo heteroespecífico (Prueba exacta de Fisher, $P < 0.0001$). No hubo diferencias entre tratamientos en la proporción de tiempo que las aves pasaron cerca del modelo asociado durante el entrenamiento con el chatter (Figura 3, GLM con distribución de error beta y función de enlace logarítmico, Intercepto: Estimación \pm SE= 1.20 ± 0.32 , $Z = 3.77$, $P = 0.0002$, tratamiento "cruzado": Estimador \pm SE = 0.06 ± 0.42 , $Z = 0.15$, $P = 0.88$). En ambos tratamientos, las aves pasaron más tiempo cerca del modelo asociado durante el entrenamiento con el chatter que cerca del modelo asociado con la vocalización heteroespecífica (Figura 3, tratamiento "directo": $X = 0.77$, IC 95% = $0.54 - 0.80$, $P = 0.0002$, tratamiento "cruzado": $X = 0.78$, IC95% = $0.53 - 0.81$, $P = 0.0001$). Estos resultados muestran que los tordos renegridos prefirieron el modelo que estaba asociado con el chatter, independientemente de que fuera un conoespecífico o heteroespecífico.

Tratamiento	Playback	Modelo asociado con el playback	Preferencia por el modelo de tordo renegrido
Directo	Chatter	Tordo renegrido	12/14
	Heteroespecífico	Heteroespecífico	
Cruzado	Chatter	Heteroespecífico	1/13
	Heteroespecífico	Tordo renegrido	

Tabla 1: Diseño experimental y resultados de la prueba de preferencia. En ambos tratamientos, los juveniles recibieron 15 entrenamientos de dos sesiones (una sesión por día en días consecutivos) con un intervalo de 2 días entre bloques. En el tratamiento "directo", 14 tordos recibieron, en una sesión, playbacks de chatters de tordo renegrido asociado con un modelo taxidermizado de tordo, y en la otra sesión del bloque, playbacks de vocalizaciones heteroespecíficas asociada con el modelo taxidermizado de un heteroespecífico (zorzal colorado, *Turdus rufiventris*; hornero, *Furnarius rufus*, o calandria grande, *Mimus saturninus*). En el tratamiento "cruzado", 13 tordos recibieron, en una sesión, los playbacks de chatter de tordo asociado con un modelo taxidermizado de heteroespecífico, y en la otra sesión del bloque, el playback de vocalizaciones heteroespecíficas asociado al modelo taxidermizado de un tordo renegrido. El entrenamiento se realizó desde que los juveniles tenían 17 días hasta que llegaban a los 94 días. La columna de la derecha indica el número de individuos que se acercaron por primera vez al modelo asociado al playback en la prueba de preferencia realizada cuando los juveniles tenían 95 días.

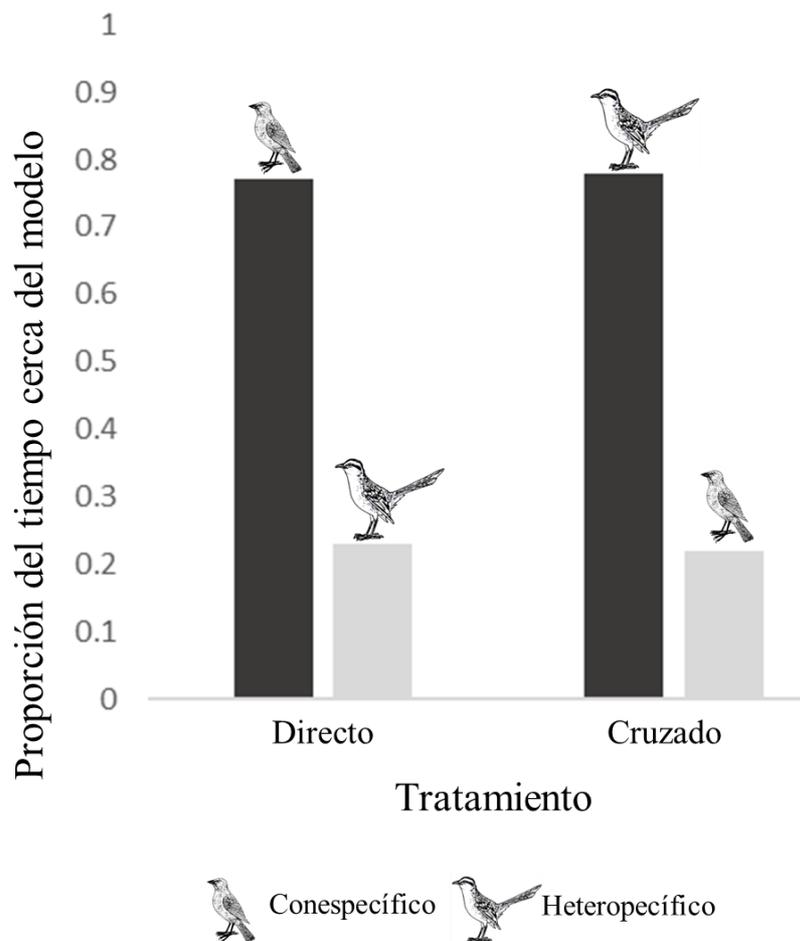


Figura 4. Proporción de tiempo que los tordos juveniles del tratamiento directo y cruzado estuvieron cerca de los modelos conespecíficos y heteroespecíficos durante la prueba de preferencia. Las barras negras corresponden a modelos asociados con chatter y las barras grises corresponden a modelos asociados con las vocalizaciones heteroespecíficas.

3.4. Discusión

En la prueba de preferencia, los juveniles de tordo renegrado prefirieron el modelo asociado al chatter durante el entrenamiento, acercándose primero a este modelo y pasando más tiempo cerca de él que al modelo asociado al playback heteroespecífico, independientemente de si el modelo asociado con el chatter era conespecífico o heteroespecífico. Este resultado indica que los tordos renegrados usan el chatter como contraseña para desarrollar una preferencia social por el fenotipo del individuo que produce esta vocalización y es la primera evidencia directa que respalda la hipótesis de la contraseña como mecanismo para explicar cómo un parásito de cría interespecífico puede aprender las características fenotípicas de sus conespecíficos.

Los individuos pueden improntarse durante un lapso de tiempo llamado período sensible (Bolhuis 1996, Lorenz 1937). Para los parásitos de cría, no hay información clara sobre cuándo comienza este período ni sobre su duración. A diferencia de otras especies de aves que se improntan durante los primeros días de vida (Lorenz 1935), el período sensible en los parásitos de cría debería retrasarse hasta que los individuos puedan recibir la información correcta (Soler y Soler 1999). Por lo tanto, el período sensible debería comenzar después de que los parásitos abandonan los nidos del hospedador y continúan hasta que se unan a bandadas conespecíficas. Durante este tiempo, los juveniles parásitos podrían interactuar con adultos conespecíficos que producen el chatter (King and West 1977, Hauber 2002) y aprender sus características fenotípicas. En dos ocasiones, observamos hembras de tordo renegrado posadas cerca y solicitando el acicalamiento de juveniles conespecíficos de 20-30 días de edad (Capítulo 4). Los adultos de otras especies parásitas de cría también interactúan con los pichones parásitos en el territorio del hospedador (revisado en Soler y Soler 1999, Hauber 2002). Estas primeras interacciones durante un período potencialmente sensible promoverían el inicio del reconocimiento conespecífico (Soler y Soler 1999). Otra posibilidad sería que los tordos sean sensibles a la contraseña desde el momento en que nacen, pero desarrollen una

templado de reconocimiento conespecífico después de que se independicen de los hospedadores (Hauber et al. 2001, Dooling et al. 1980, Whaling et al. 1997). Esta posibilidad está respaldada por estudios que muestran que los pichones de tordo pidieron alimento más intensamente en respuesta a playbacks de chatter conespecífico que a vocalizaciones del hospedador (Hauber et al. 2001, Capítulo 2, Crudele et al. 2022).

Louder y colaboradores (2019) encontraron que la exposición al chatter de juveniles de tordo cabeza marrón mejora el aprendizaje de sus cantos. Cuando los machos juveniles criados en cautiverio fueron expuestos a reproducciones de cantos de canarios (*Serinus canaria*) seguidos de chatter, reprodujeron mejor los cantos heteroespecíficos que cuando escuchaban vocalizaciones de canario seguido de vocalizaciones de tórtolas (*Zenaida macroura*). Además, los machos expuestos al chatter expresaron más genes relacionados con el aprendizaje auditivo y la neuroplasticidad, mientras que las hembras expuestas al chatter expresaron genes relacionados con la memoria a largo plazo (Louder et al. 2019). Estos resultados indicarían que el chatter puede iniciar el aprendizaje social, aumentando la adquisición de cantos en los machos y el aprendizaje de reconocimiento en ambos sexos.

Los resultados de este trabajo muestran cómo el sistema de contraseña auditiva a través de una señal específica de la especie puede conducir al aprendizaje intermodal de señales visuales que permiten el reconocimiento conespecífico en tordos parásitos de cría. Esto resuelve un rompecabezas importante para comprender como se produce el aprendizaje que lleva al reconocimiento conespecífico en parásitos de cría interespecíficos obligados, pero existe la posibilidad de que este mecanismo sea una característica general de los passeriformes. Sistemas similares de tipo 'contraseña' guían el aprendizaje de canciones conespecíficas en otros passeriformes no parásitos. Es conocido que el silbido introductorio del chingolo corona blanca sirve para este propósito (por ejemplo, Whaling et al. 1997, Soha and Marler 2000). Sin embargo, ningún trabajo previo ha probado si tales señales acústicas que "activan" el aprendizaje también pueden actuar para iniciar el aprendizaje intermodal en otras aves cantoras. En general, los investigadores asumen que la exposición a los padres durante el período de cuidado parental conduce al aprendizaje de señales visuales conespecíficas. Sin embargo, después de los resultados de este estudio, sería posible pensar que la modalidad cruzada acústico-visual sea una propiedad general del aprendizaje de reconocimiento de especies en passeriformes.

En resumen, estudios previos en tordos cabeza marrón han proporcionado evidencia indirecta que respalda la "hipótesis de la contraseña", pero hasta ahora no había evidencia directa que

mostrara que escuchar el chatter desencadenara el aprendizaje de las características visuales asociadas con el emisor. En nuestro estudio, demostramos experimentalmente que el encuentro de un juvenil parásito con un individuo que produce el chatter da como resultado el desarrollo de una preferencia por las características fenotípicas del individuo que produce esta vocalización. Por lo tanto, nuestros resultados brindan una explicación de cómo los parásitos de cría, que no tienen la oportunidad de desarrollar el reconocimiento de sus conespecíficos utilizando las señales proporcionadas por los adultos que los crían, pueden aprender a reconocerlos.

Ética.

El estudio se realizó con el permiso del Organismo Provincial para el Desarrollo Sostenible (O.P.D.S., Buenos Aires, Argentina; tramitado bajo la Disposición Número DI-2019-48-GDEBA-DANPOPDS), cumplió con las leyes vigentes de Argentina y ha sido aprobado por un comité de revisión de ética local (CICUAL-protocolo experimental número 148b).

Este capítulo fue publicado el 24 de Mayo del 2023 en la revista Proceedings of the Royal Society B: Crudele I, Reboreda JC, Fiorini VD. (2023). Imprinting in an interspecific brood parasitic bird. Proc. R. Soc. B 290: 20230230. doi: 10.1098/rspb.2023.0230

3.5. Bibliografía

Asaba, A., Okabe, S., Nagasawa, S.M., Kato, M., Koshida, N., Osakada, T. and Kikusui, T. (2014). Developmental social environment imprints female preference for male song in mice. PloS ONE 9, e87186.

Bateson, P.P.G. (1966). The characteristics and context of imprinting. Biol. Rev. 41, 177-217.

Bateson, P.P.G. (1979). How do sensitive periods arise and what are they for? Anim. Behav. 27, 470-486.

Bolhuis, J.J. (1991). Mechanisms of avian imprinting: a review. Biol. Rev. 66, 303-345.

Bolhuis, J.J. (1996). Development of perceptual mechanisms in birds: predispositions and imprinting. In: C. F. Moss, S. J. Shettleworth, Eds., *Neuroethological studies of cognitive and perceptual processes*. West- view Press, Oxford, 158–184

Braaten, R.F. and Reynolds, K. (1999). Auditory preferences for conspecific song in isolation-reared zebra finches. *Anim. Behav.* 58, 105-111. 7.

Bressan, P. (2020). In humans, only attractive females fulfil their sexually imprinted preferences for eye colour. *Sci. Rep.* 10, 1-10.

Clayton, N.S. (1988). Song discrimination learning in zebra finches. *Anim. Behav.* 36, 1016-1024.

Clayton, N.S. (1990). Subspecies recognition and song learning in zebra finches. *Anim. Behav.* 40, 1009–1017.

Cribari-Neto, F. and Zeileis, A. (2010). Beta regression in R. *J Stat Softw.* 34(2).

Crudele, I., Reboreda, J.C. and Fiorini, V.D. (2022). Preferential begging responses of shiny cowbirds to the conspecific chatter call. *Front. Ecol. Evol.* 9, 725051.

Dooling, R. and Searcy, M. (1980). Early perceptual selectivity in the swamp sparrow. *Dev. Psychobiol.* 13, 499-506.

Ferrari, S.L.P. and Cribari-Neto, F. (2004). Beta Regression for Modelling Rates and Proportions. *J. App. Stat.* 31, 799-815.29.

Göth, A. and Hauber, M.E. (2004). Ecological approaches to species recognition in birds through studies of model and non-model species. *Ann. Zool. Fennici* 41, 823-842.

Hauber, M.E., Russo, S.A. and Sherman, P.W. (2001). A password for species recognition in a brood-parasitic bird. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 268, 1041-1048.

Hauber, M.E. (2002). First contact: a role for adult-offspring social association in the species recognition system of brood parasites. *Ann. Zool. Fenn.* 39, 291-305.

Hebets, E.A. (2003). Subadult experience influences adult mate choice in an arthropod: exposed female wolf spiders prefer males of a familiar phenotype. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100, 13390-13395.

Hess, E.H. (1964). Imprinting in birds. *Science* 146, 1128-1139.

Immelmann, K. (1975). Ecological significance of imprinting and early learning. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 6, 15-37.

King, A.P. and West, M.J. (1977). Species identification in the North American cowbird: appropriate responses to abnormal song. *Science* 195, 1002–1004.

Kozak, G.M., Head, M.L. and Boughman, J.W. (2011). Sexual imprinting on ecologically divergent traits leads to sexual isolation in sticklebacks. *Proc. R. Soc. B: Biol. Sci.* 278, 2604–2610.

Lauay, C., Gerlach, N.M., Adkins-Regan, E. and DeVoogd, T.J. (2004). Female zebra finches require early social song exposure to prefer high quality song as adults. *Anim. Behav.* 68, 1249-1255.

Lorenz, K. (1935). Der Kumpan in der Umwelt des Vogels. *J. Ornithol.* 83, 137–213.

Lorenz, K. (1937). The companion in the bird's world. *Auk* 54, 245-273.

Louder, M.I.M., Ward, M.P., Schelsky, W.M., Hauber, M.E. and Hoover, J.P.. (2015). Out on their own: a test of adult-assisted dispersal in fledgling brood parasites reveals solitary departures from hosts. *Anim. Behav.* 110, 29–37.

Louder, M.I., Balakrishnan, C.N., Louder, A.A., Driver, R.J., London, S.E. and Hauber, M.E. (2019). An acoustic password enhances auditory learning in juvenile brood parasitic cowbirds. *Curr. Biol.* 29, 4045-4051.

Lowther, P.E. (2018). Lists of victims and hosts of the parasitic cowbirds (*Molothrus*). Field Museum. <https://www.fieldmuseum.org/sites/default/files/cowbird-hosts-05sep2018.pdf>.

Lynch, K.S., Gaglio, A., Tyler, E., Coculo, J., Louder, M.I. and Hauber, M.E. (2017). A neural basis for password-based species recognition in an avian brood parasite. *J. Exp. Biol.* 220, 2345–2353.

Martinho III, A. and Kacelnik, A. (2016). Ducklings imprint on the relational concept of “same or different”. *Science* 353, 286-288.

Miller, D.B. (1979). Long-term recognition of father’s song by female zebra finches. *Nature* 280, 389–391.

Payne, R.B. and Payne, L.L. (1994). Song mimicry and species associations of west African indigobirds *Vidua* with Quail-finch *Ortygospiza atricollis*, Goldbreast *Amandava subflava* and Brown Twinspot *Clytospiza monteiri*. *Ibis* 136, 291-304.

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

R Development Core Team. (2013). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org>. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Riebel, K., Smallegange, I.M., Terpstra, N.J. and Bolhuis, J.J. (2002). Sexual equality in zebra finch song preference: evidence for a dissociation between song recognition and production learning. *Proc. R. Soc. Lond. Series B: Biol. Sci.* 269, 729-733.

RStudio Team RStudio. (2020). Integrated Development for R. RStudio, PBC, Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.

Slagvold, T., Hansen, B.T., Johannessen, L.E. and Lifjeld, J.T. (2002). Mate choice and imprinting in birds studied by cross-fostering in the wild. *Proc. R. Soc. Lond. B: Biol. Sci.* 269, 1449-1455.

Smithson, M. and Verkuilen, J. (2006). A Better Lemon Squeezer? Maximum-Likelihood Regression with Beta-Distributed Dependent Variables." *Psychol. Methods* 11, 54-71.

Soler M, Soler JJ. 1999, Innate versus learned recognition of conspecifics in great spotted cuckoos *Clamator glandarius*. *Anim. Cogn.* 2, 97–102.

Soha, J.A. and Marler, P. (2000). A species-specific acoustic cue for selective song learning in the white-crowned sparrow. *An. Behav.* 60, 297–306.

Sorenson, M.D., Sefc, K.M. and Payne, R.B. (2003). Speciation by host switch in brood parasitic indigobirds. *Nature* 424: 928-931.

Spalding, D. (1873). *Instinct, with original observations on young animals.* Macmillan's Mag 27, 282-293.

Verzijden, M.N., Korthof, R.E. and Ten Cate, C. (2008). Females learn from mothers and males learn from others. The effect of mother and siblings on the development of female mate preferences and male aggression biases in Lake Victoria cichlids, genus *Mbipia*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 62, 1359-1368.

Vos, D.R. (1994). Sex recognition in zebra finch male results from early experience. *Behaviour* 128, 1-14.

Vos, D.R. (1995). The role of sexual imprinting for sex recognition in zebra finches: A difference between males and females. *Anim. Behav.* 50, 645-653.

Whaling, C.S., Solis, M.M., Doupe, A.J., Soha, J.A. and Marler, P. (1997). Acoustic and neural bases for innate recognition of song. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 94, 12694-12698.

Zhang, J., Wermter, S., Sun, F., Zhang, C., Engel, A.K., Röder, B., Fu, X. and Xue, G. (2022)
Editorial: Cross-modal learning: adaptivity, prediction and interaction. *Front. Neurobot.* 16,
889911.

Capítulo 4

Comportamiento y supervivencia de los volantones de tordo renegrado criados en dos hospedadores.

4.1. Introducción

4.1.1. *La etapa de volantón en las aves altriciales*

Luego de que los pichones de las aves altriciales salen del nido, entran en el período de volantón, donde permanecen en el territorio, siendo alimentados por sus padres, hasta que se independizan, dispersan o migran (Cox et al. 2014). Para la mayoría de los pájaros canores, las primeras semanas del período posterior a la salida del nido son críticas para su desarrollo y supervivencia (Cox et al. 2014, Kyzucan et al. 2019). Los pichones no están alertas a los depredadores y continúan pidiendo alimento aunque estos se encuentren cerca (Sullivan 1989). Además, todavía no tienen la capacidad de realizar vuelos largos, lo que facilita su captura (Sullivan 1989). Un segundo factor de relevancia es el aumento de la mortalidad cuando los padres dejan de alimentarlos. Durante estas primeras semanas, los pichones pueden perder peso al no obtener alimento por sí mismos, lo que los puede llevar a la muerte por inanición (Sullivan 1989). En consecuencia, este lapso de tiempo es crucial para el reclutamiento y la productividad de la población (Anders et al. 1997). Sin embargo, debido a la dificultad de seguir y observar volantones (Kershner et al. 2004, Thompson and Ridley 2013), el número de estudios realizados durante este período es escaso en relación con los realizados durante la etapa en que los pichones están en el nido (Cox et al. 2014).

4.1.2. *La etapa de volantón en las especies parásitas de cría*

En las especies parásitas de cría obligadas, las hembras ponen sus huevos en nidos de otras especies y su progenie es criada por individuos heteroespecíficos hasta la independencia. Para este grupo de aves, existe una dificultad adicional para su estudio que radica en que como no

todos los nidos de los hospedadores están parasitados, es necesario monitorear un mayor número de nidos para obtener un tamaño muestral suficiente (Davies 2000, Grim et al. 2011). También hay poca información del comportamiento, la supervivencia y la edad de independencia de los juveniles y menos aún estudios comparativos sobre su desempeño cuando se crían solos o en nidadas mixtas. Uno de estos trabajos fue realizado por Kysucan y colaboradores (2019) quienes estudiaron, mediante radiotelemetría, a volantes del parásito cuco común (*Cuculus canorus*) criados solos y en nidadas mixtas con pichones de su hospedador, el colirrojo común (*Phoenicurus phoenicurus*). Descubrieron que la distancia a la que se movían los volantes y el número de vuelos aumentaba con la edad de los individuos y que el 38% de los volantes de cuco sobrevivieron hasta la independencia. En otro trabajo realizado con volantes de críalo europeo (*Clamator glandarius*) criados por la urraca común (*Pica pica*), Soler y colaboradores (1994) encontraron que los volantes se mantienen escondidos en las copas de los árboles los primeros días después de dejar el nido cuando tienen poca movilidad y luego forman bandadas con otros volantes conespecíficos. La supervivencia de los volantes fue del 63% y su independencia era alrededor de los 48 días de edad, momento en el cual migran, sin interacción con los adultos conespecíficos que migran antes (Soler et al. 1994). Woodward (1983) caracterizó el comportamiento de los volantes de tordo cabeza marrón (*Molothrus ater*), desde que abandonan el nido hasta su independencia, en 9 hospedadores diferentes. Los volantes mostraron un comportamiento flexible, por ejemplo, en las tasas de alimentación, que fue mayor en los hospedadores más pequeños y menor en los hospedadores más grandes. Los volantes aumentaron gradualmente su movilidad y capacidad de alimentación, alcanzando la independencia alimentaria entre los 25 y 39 días de edad. De Mársico y colaboradores (2012) estudiaron la supervivencia de volantes de tordo pico corto (*Molothrus rufoaxillaris*) y de tordo renegrado (*Molothrus bonariensis*) cuando eran criados por el músico (*Agelaioides badius*), el principal hospedador del tordo pico corto. Una semana después de abandonar el nido, los tordos pico corto sobrevivieron con la misma frecuencia (100%) que los volantes del hospedador de los que son miméticos en plumaje y llamados de pedido de alimento, mientras que la mortalidad de volantes de tordos renegrados fue muy alta (87%) (De Mársico et al. 2012).

La evidencia de algunas especies parásitas de cría muestra que los juveniles comienzan a interactuar con sus conespecíficos antes de abandonar el territorio del hospedador (Soler et al. 1999, Hauber et al. 2001). Pero hay poca información sobre la frecuencia de estos contactos y si los volantes permanecen solos o se unen a sus conespecíficos inmediatamente después de la independencia. En ese sentido, Soler y colaboradores (1999) estudiaron el

comportamiento de los volantones de críalo europeo y encontraron que los volantones criados en diferentes nidos se asociaban con otros volantones de la misma especie cuando habían tenido la posibilidad de aprender a reconocer conespecíficos, debido a la presencia de pichones de la misma especie en el nido o a la presencia de críalos adultos en el área con los que mantenían contacto y se comunicaban vocalmente. Woodward (1983) encontró que las interacciones entre juveniles de tordo cabeza marrón y adultos conespecíficos eran escasas, solo en una ocasión registraron un volantón, que se acercó a un adulto conespecífico, el cual lo ignoró. Louder y colaboradores (2015) instrumentaron con radiotransmisores a volantones de tordo cabeza marrón y encontraron que estos realizan excursiones antes de que finalmente se independicen, durante las cuales abandonan el territorio del hospedador al atardecer y pasan la noche alejados del mismo, pero regresan al territorio natal a la mañana siguiente y continúan solicitando alimento a sus padres hospedadores.

En el tordo renegrado, no se contaba con información del comportamiento de los volantones, la supervivencia, la edad a la cual se independizan del hospedador y si se incorporan inmediatamente a bandadas conespecíficas o se quedan solos durante algún tiempo. Nuestro objetivo fue caracterizar el comportamiento de los volantones de tordo renegrado criados por dos hospedadores que difieren notablemente en su tamaño corporal, la ratona común (*Troglodytes aedon*) y la calandria grande (*Mimus saturninus*). Este trabajo fue hecho mediante el seguimiento con radiotransmisores de individuos desde algunos días antes de que abandonaran el nido hasta que se dejó de detectarlos en territorio natal.

4.2. Métodos

4.2.1. Área de estudio

El trabajo de campo se realizó durante octubre-febrero 2017-2018, 2018-2019 y 2019-2020 en la Reserva Privada El Destino, en la Provincia de Buenos Aires, Argentina. El sitio de estudio comprende parches de bosque nativo dominados por el tala, *Celtis ehrenbergiana* y el coronillo, *Scutia buxifolia* que crecen en albardones rodeados de pastizal salino inundable. En este sitio, el tordo renegrado utiliza como hospedadores principales a la calandria grande, *Mimus saturninus* (frecuencia de parasitismo 70-80%, Fiorini y Reboresca 2006, Gloag et al. 2012) y la ratona común, *Troglodytes aedon* (frecuencia de parasitismo 50%, Tuero et al.

2007). La calandria es un hospedador de gran tamaño que pesa 70–75 g (Fraga 1985). Esta especie construye nidos con forma de copa abierta en arbustos o árboles con follaje denso. En cambio, la ratona común es un pequeño hospedador de 12 g (Brewer 2001) que construye nidos en cavidades naturales o artificiales, como cajas nido. En nuestra área de estudio (aproximadamente 155 ha) hay 40-50 territorios de calandria grande y colocamos 140 cajas nido que son utilizadas frecuentemente por ratonas.

4.2.2. Los pichones en el nido

Desde mediados de octubre hasta fines de enero, buscamos exhaustivamente nidos en construcción de ambos hospedadores. Cada nido fue ubicado geográficamente mediante GPS y se le asignó una fecha de inicio correspondiente a la puesta del primer huevo del hospedador. Los nidos fueron revisados diariamente hasta que produjeron volantones, o fueron abandonados o depredados. Dentro de cada nido, los huevos del hospedador y del parásito se marcaron con tinta resistente al agua según su orden de aparición. Una vez que los huevos eclosionaban, los pichones parásitos eran marcados en el tarso con tinta indeleble. Diariamente eran pesados (con una pesola ± 0.1 g) y se les medía el tarso (con un calibre digital ± 0.1 mm). La manipulación de los pichones finalizaba cuando llegan a los 9-11 días de edad, momento en el cual están totalmente emplumados y la manipulación puede promover una salida prematura del nido. El día en el que se realizó la última medición, se anilló a los pichones de tordo renegrado con una combinación única de tres anillos de colores y un anillo de metal y se los instrumentó con un radiotransmisor, lo que facilitó la ubicación y observación de los volantones dentro y fuera de su territorio natal.

4.2.3. Radiotelemetría

Cuando los pichones de tordo renegrado tenían 10.32 ± 0.19 días de edad (rango 9-11 días de edad) y alcanzaban un peso de 40 g, se les colocaba un radiotransmisor con un arnés en forma de ocho (Rappole and Tipton 1991) para localizarlos y confirmar su presencia o ausencia en el territorio (Figura 1).

Durante las temporadas 2017-2018 y 2018-2019, los pichones fueron equipados con un radiotransmisor (Modelo: PicoPip Ag376 Biotrack, Wareham, Reino Unido) con un peso de

0.56 g (que corresponde a <3 % del peso de los pichones) (Barron et al. 2010) y una duración de la batería de 75 días. En la temporada 2019-2020 se utilizaron radiotransmisores codificados (Modelo: NTQB2-2 Lotek-Biotrack) de 0.32 g, y la batería del radiotransmisor duró 60 días, emitiendo pulsos de radio con código individual en una sola frecuencia (150.360 MHz) cada 2 s. Después de la última visita al nido para medir a los pichones, se visitó el territorio diariamente hasta que el volantón abandonó el nido, lo que nos permitió confirmar la edad de salida del nido. A partir de ese día, el volantón fue localizado en el territorio mediante un receptor móvil (Telonick TR-4 150/154 MHz) y una antena tipo Yagi de tres elementos.

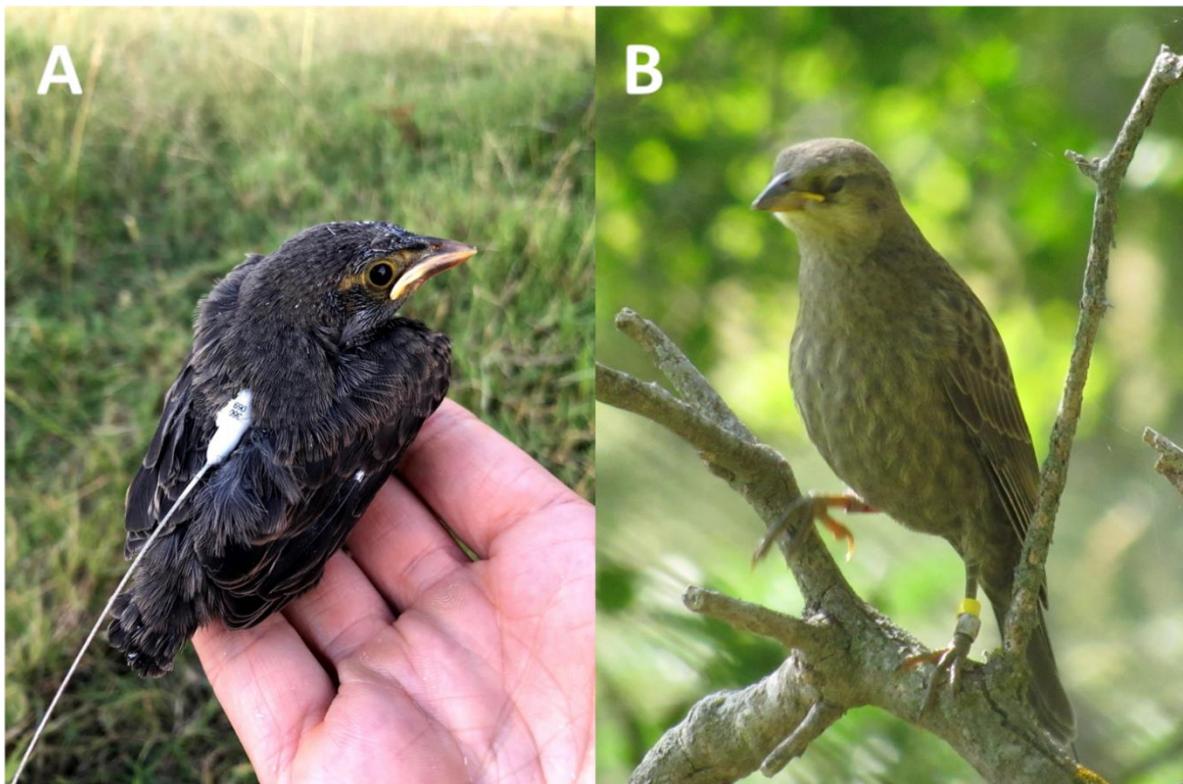


Figura 1. A) Un volantón de tordo renegrido de 10 días de edad instrumentado con un radio transmisor, antes de que abandone el nido. B) Un juvenil de tordo renegrido de 32 días de edad instrumentado con un radio transmisor y relocalizado en el territorio natal usando un receptor móvil.

Durante la temporada 2019-2020, registramos la presencia de los volantones instrumentados en el territorio utilizando un receptor de datos de proximidad codificado digitalmente

(DataSika, Biotrack, Wareham, UK) conectado a una antena omnidireccional (Biotrack, Wareham, UK) y conectado a una batería de auto de 12V, alimentada por un panel solar. Cuatro registradores de datos se colocaron a 500 m uno del otro, formando un cuadrado de 500 m x 500 m en el área de estudio, que cubría el área donde se ubicaban los nidos con volantones instrumentados. El receptor registra automáticamente y continuamente cada 15 segundos, la señal de los radiotransmisores, y registra el código de identidad del radiotransmisor, fecha, hora y fuerza de la señal (unidades arbitrarias entre 0 y 255).

4.2.4. *Comportamiento, supervivencia y dispersión de los volantones de tordo renegrido*

Para describir el comportamiento de los volantones de tordo renegrido a diferentes edades en los dos hospedadores y estimar su supervivencia y edad de dispersión, los relocalizamos mediante el radiotransmisor y realizamos observaciones focales, cada 2-3 días, durante la mañana (de 9 a.m. a las 12 p.m.), hasta el día en que no pudieron ser reubicados en el territorio natal, ya sea por depredación o por su posible dispersión. Las observaciones las realizamos a simple vista o con binoculares 8 x 42, escondidos bajo una tela de camuflaje, ocultos en la vegetación. Cada observación focal duró entre 15 y 90 minutos y durante este período registramos el comportamiento de los volantones a través de una grabación continua de audio. Posteriormente, las grabaciones se desgrabaron y el comportamiento se clasificó en los siguientes estados: 1) Reposo escondido: cuando el volantón se encuentra posado en una rama sin realizar ningún comportamiento de pedido de alimento, ni vocalizaciones, cubierto por el follaje de los árboles, 2) Reposo expuesto: cuando el volantón está posado en una rama sin estar cubierto por el follaje, y por lo general en la parte más distal de las ramas de los árboles, 3) Pedido de alimento escondido: cuando el volantón solicita alimento vocalizando, cubierto por el follaje, y 4) Pedido de alimento expuesto: cuando el volantón solicita alimento vocalizando, sin estar cubierto por el follaje. Durante las observaciones también registramos si los volantones interactuaron con adultos conoespecíficos y para estimar la edad en que mostraron una alta movilidad y estarían en condiciones potenciales de dispersar, registramos si realizaban vuelos de más de 10 m.

4.2.5. Análisis estadísticos

Para cada volantón instrumentado se calculó la proporción de tiempo de cada estado (definido como la suma del tiempo haciendo el estado dividido el tiempo total de observación) con el objetivo de evaluar el efecto del hospedador y la edad de los volantones sobre esta variable. Corrimos un modelo de regresión Beta para cada proporción de estado utilizando valores transformados según Ferrari y Cribari-Neto (2004) debido a que este modelo no admite valores 0 y 1. En estos modelos usamos la edad de los volantones y la especie hospedadora como variables predictoras de efectos fijos y la identidad de los volantones como variable predictora de efecto aleatorio.

En el caso del estado “Pedido de alimento expuesto” la interacción entre las variables edad y hospedador fue significativa, por lo que no fue posible evaluar la diferencia entre los efectos principales.

Solo en el caso del estado “Pedido de alimento escondido”, tuvimos que transformar los datos de la variable de proporción a una dicotómica (estado/no estado) debido a que la variable tomaba valor cero en muchas ocasiones. Así que en este caso ejecutamos una regresión logística. El efecto de la edad solo pudo analizarse en los volantones criados por ratonas. Para los volantones criados por calandrias, no fue posible correr ningún modelo estadístico que incluyera la edad como variable predictora debido a la cantidad de ceros en los datos mencionados.

4.3. Resultados

Instrumentamos un total de 37 volantones de tordo renegrado durante las tres temporadas reproductivas, 14 de los tordos instrumentados fueron criados por ratonas y 23 tordos criados por calandrias (Tabla 1). Los tordos criados por ratonas dejaron el nido a los 13.45 ± 0.37 (rango: 11-15) días de edad y los criados por calandrias a los 13.07 ± 0.22 (rango: 12-15) días de edad. No hubo diferencias significativas (ANOVA: $F_{1,22} = 0.88$, $P = 0.36$) en la edad de salida de nido 13.24 ± 0.20 entre los dos hospedadores.

Hospedador	Individuos instrumentados			Total
	Temporada 2017/2018	Temporada 2018/2019	Temporada 2019/2020	
Ratona	4	4	6	14
Calandria	12	9	2	23
2 hospedadores	16	13	8	37

Tabla 1. Número de volantones de tordo renegrido instrumentados criados por dos hospedadores, durante 3 temporadas reproductivas consecutivas.

4.3.1. Seguimiento de los volantones de tordo renegrido instrumentados

De los 37 volantones instrumentados, 13 fueron depredados antes de que logaran dejar el nido exitosamente (Tabla 2). En 5 casos encontramos los radiotransmisores cerca del árbol del nido y en los otros 8 casos los individuos nunca fueron registrados fuera del nido y dejamos de registrar la señal antes del día 13. De los 24 individuos que salieron del nido encontramos en 3 casos, el radiotransmisor con restos del volantón (dos volantones de 12 días y uno de 16 días). Del resto de los volantones (21 individuos) logramos comprobar fehacientemente que solo dos abandonaron el territorio con éxito (ver abajo) y los otros 19 dejaron de ser registrados en el territorio a diferentes edades (Figura 2), pero no los vimos muertos, ni encontramos el radiotransmisor, ni registramos su señal fuera del territorio.

Hospedador	Individuos instrumentados			
	Depredados en el nido	Depredados en el territorio	Que dejaron de ser registrados	Registrados fuera del territorio
Ratona	3	1	9	1
Calandria	10	2	10	1
2 hospedadores	13	3	19	2

Tabla 2. Número de volantones de tordo renegrado criados por dos hospedadores que fueron depredados, que dejaron de registrarse y que fueron registrados fuera del territorio, confirmando sus dispersión.

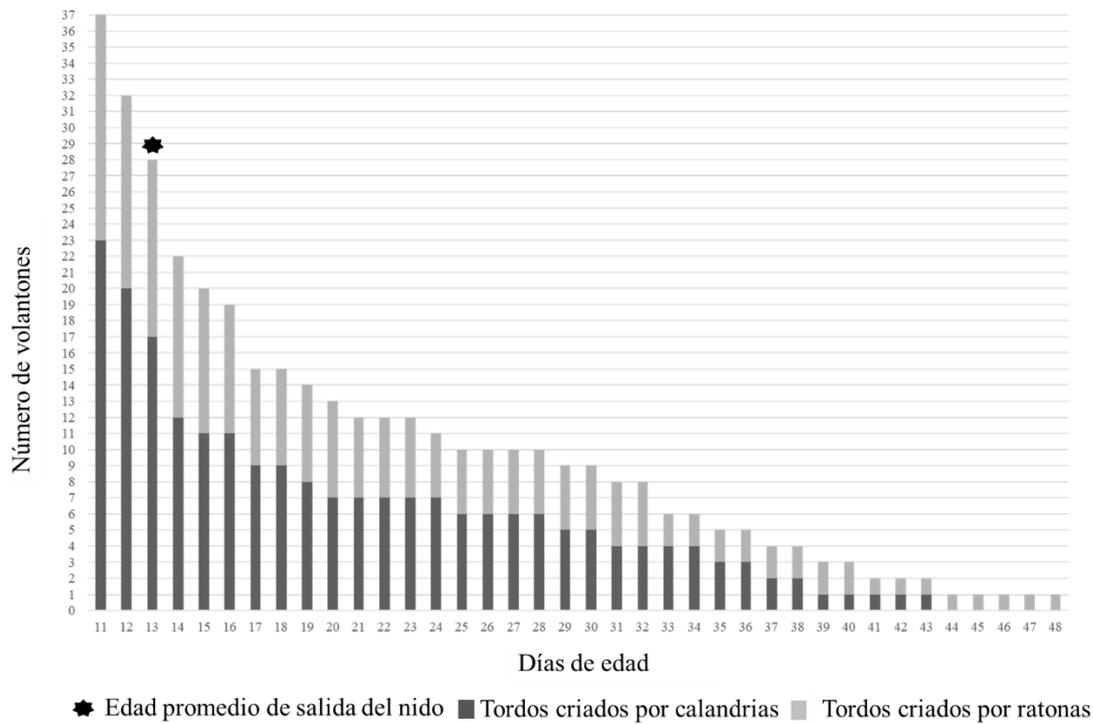


Figura 2. Número de volantones de tordo renegrado instrumentados localizados en el territorio del hospedador a lo largo de la edad.

4.3.2. Comportamiento de los volantones de tordo renegrado

De los 24 individuos que abandonaron el nido con éxito, pudimos realizar observaciones focales de 9 volantones criados por ratonas y 11 volantones criados por calandrias. Para los cuatro individuos restantes, la señal dejó de detectarse poco después de que salieran del nido y antes de que realizáramos la primera observación.

Los volantones de tordo renegrado criados por ratonas pasaron menos tiempo en "reposo escondido" que los criados por calandrias (intercepto: estimación \pm SE= 3.84 ± 0.61 , $Z=6.27$, $P < 0.0001$; hospedador ratona: estimación \pm SE= -0.86 ± 0.3 , $Z= -2.86$, $P= 0.004$). El tiempo que los volantones pasan en "reposo escondido" disminuyó significativamente con la edad

por igual en ambos hospedadores (Edad: Estimador \pm SE= -0.13 ± 0.02 , $Z= -5.4$, $P < 0.0001$) (Figura 3 A). Para los tordos criados por calandrias, la proporción de tiempo en "reposo expuesto" aumentó significativamente con la edad (Intercepto: Estimador \pm SE= -4.54 ± 0.65 , $Z= -6.99$, $P < 0.0001$; Edad: Estimador \pm SE= 0.12 ± 0.03 , $Z= 4.81$, $P < 0.0001$), y solo después de los 25 días de edad se observaron en la copa de los árboles. Sin embargo, para tordos criados por ratonas, la proporción de tiempo que el tordo pasó en "reposo expuesto" no aumentó con la edad (Edad: Estimador \pm SE= 0.03 ± 0.03 , $P= 0.24$) (Fig. 3. B).

La proporción de tiempo que el tordo realizó "pedido de alimento expuesto" aumentó significativamente con la edad, tanto en tordos criados por calandrias (Intercepto: Estimador \pm SE= -4.17 ± 0.59 , $Z= -7.03$, $P < 0.0001$; Edad: Estimador \pm SE= 0.05 ± 0.02 , $Z= 2.44$, $P < 0.015$) como en los criados por ratona (Edad: Estimador \pm SE= 0.16 ± 0.03 , $P < 0.001$) (Fig. 3. C). En los tordos criados por ratonas, la probabilidad de realizar el estado de "pedido de alimento escondido" fue significativamente mayor que en los tordos criados por calandrias (Intercepto: estimador \pm SE= -2.9 ± 0.72 , $Z= -3.98$, $P=0.0007$; hospedador ratona: Estimador \pm SE= 4.46 ± 0.88 , $Z= 5.08$, $P < 0.001$) y las Odds (probabilidad de ocurrencias/probabilidad de no ocurrencias) de "pedido de alimento escondido" en volantones de tordo criados por ratonas fue 86.4 veces las Odds de calandrias (Figura 3. D)

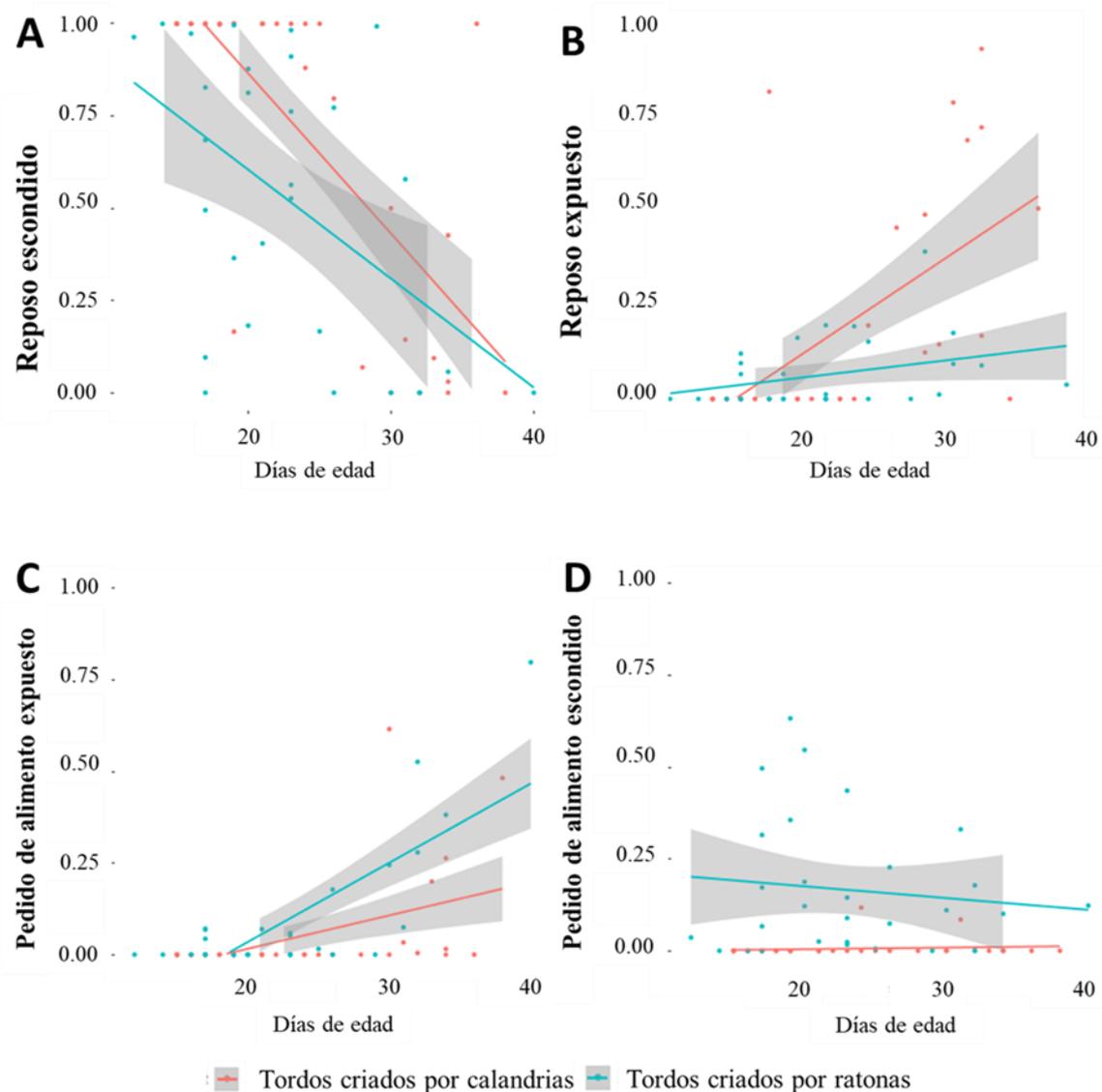


Figura 3. Proporción de tiempo que los volantes de tordo renegrido criados por calandrias y ratonas realizaron diferentes estados: A. Reposo escondido, B. Reposo expuesto, C. Pedido de alimento expuesto y D. Pedido de alimento escondido. Las líneas representan regresiones y las áreas sombreadas indican los errores estándar. Los puntos representan los valores de los volantes que realizaron los estados en las distintas edades.

En dos ocasiones registramos una interacción de una hembra adulta de tordo renegrido con volantes instrumentado, que estaban descansando en las copas de los árboles, a unos 3 m de altura. Ambos volantes fueron criados por ratonas, el primero tenía 31 días de edad e interactuó durante 240 segundos, y el segundo, tenía 23 días de edad e interactuó durante 60 segundos. En ambos casos, la hembra adulta hizo un pedido de acicalamiento al volántón, el cual permaneció inmóvil durante toda la visita de la hembra (Figura 4).



Figure 4. Secuencia fotográfica de una interacción conespecífica: Un volantón de tordo renegrado instrumentado de 31 días de edad (izquierda) criado por ratonas interactuó durante 240 segundos con una hembra de tordo renegrado adulta (derecha) que realizó un pedido de acicalamiento al volantón, el cual permaneció inmóvil durante toda la visita de la hembra.

Observamos que los volantones adquirieron alta movilidad y realizaron vuelos de más de 10 m después de los 32 días de edad ($n = 8$ volantones).

A través de la información registrada por los receptores fijos confirmamos la edad de dos volantones que se dispersaron exitosamente de sus territorios natales. Un juvenil de 39 días criado por calandrias ya no fue registrado en su territorio natal durante el día, pero volvió al territorio donde permaneció durante la noche. Al día siguiente se alejó del territorio durante la madrugada, y durante la mañana fue relocalizado con el receptor móvil, a 2 km de distancia, incorporado a una bandada de conespecíficos. Luego de ser visto con la bandada, el individuo no fue registrado nuevamente por el receptor fijo ubicado en el territorio, pudiéndose inferir una posible dispersión.

Otro juvenil criado por ratonas que dejó de ser visto en el territorio a los 35 días de edad y no fue detectado por el receptor fijo más cercano, fue relocalizado a los 45 días de edad por otro receptor fijo que se encontraba a 2 km del territorio natal, confirmando su exitosa dispersión. En base a las observaciones de estos dos individuos que habían sido registrados en los territorios natales y luego localizados fuera de ellos, podemos concluir que el rango potencial de edad de dispersión es entre los 35 - 39 días de edad. Con esta información y el número de volantones que se registraron en los territorios en cada edad (Figura 2), podemos estimar que el rango de supervivencia de volantones de tordo renegrados a la edad de dispersión osciló

entre 13.5% (5 de 37 individuos alcanzaron los 35 días de edad) al 8.1% (3 de 37 individuos alcanzaron los 39 días de edad).

4.4. Discusión

A través de nuestros resultados pudimos descubrir que los volantones de tordo renegrado criados por calandrias y ratonas mostraron similitudes en algunos comportamientos y diferencias en otros durante la etapa de volantón. En ambos casos pasaron mucho tiempo en reposo escondido y, a medida que crecieron, disminuyó la proporción de tiempo que realizaban esta conducta y aumentó el comportamiento de pedido de alimento expuesto. Los volantones criados por ambos hospedadores realizaron vuelos de más de diez metros de distancia cerca de la edad de dispersión. De manera similar, en los tordos cabeza marrón, la movilidad y el pedido de alimento expuesto aumentaron con la edad de los volantones (Woodward 1983, Kyzucan et al. 2019). Los volantones de tordo renegrado criados por ratonas mostraron una mayor proporción de tiempo pidiendo alimento escondidos, en comparación con los criados por calandrias. Esta diferencia podría deberse al hecho de que el tamaño de las presas ofrecidas por los adultos de ratonas es menor en volumen que las proporcionadas por las calandrias y esto puede provocar una mayor necesidad de ser alimentados y, en consecuencia, un mayor pedido de alimento por los volantones criados por este hospedador pequeño (Tuero et al. 2012).

Nuestro estudio proporcionó información sobre la ontogenia del tordo renegrado, mostrando que el rango de edad en el que los volantones abandonaron el nido varía entre los 11 y 15 días de edad, con una media de 13.2 días de edad. Estos valores fueron mayores que los encontrados en los volantones de tordo cabeza marrón, que abandonaron los nidos de sus hospedadores cuando tenían entre 8 y 13 días de edad, con una media de 10.9 días (Woodward 1983).

Pudimos determinar el rango de edad para la independencia de los juveniles de tordo renegrado de sus hospedadores (35-39 días de edad). Este rango difirió un poco de lo observado por Woodward (1983) en el tordo cabeza marrón (25-39 días de edad). Woodward consideró que la independencia ocurre cuando los volantones de tordo cabeza marrón dejan de ser alimentados, que es cuando observó que los volantones siguen a los adultos quienes los ignoran o incluso los rechazan agresivamente, lo que obliga a los volantones a dispersar. La

diferencia en la edad mínima de dispersión encontrada entre nuestros resultados y los de Woodward, puede deberse a que para el tordo cabeza marrón el autor no confirmó si los volantones que se independizaron eran registrados fuera del territorio natal, por lo que en lugar de dispersar podrían haber sido predados antes de la edad de independencia. Nosotros nos pusimos en un escenario muy conservador donde definimos las edades de independencia en base a observaciones comprobadas de volantones registrados fuera del territorio.

De manera similar a los juveniles de tordo cabeza marrón y de cuco común, registramos interacciones entre hembras parásitas adultas y volantones (Woodward 1983, Louder et al. 2015, Soler 1999) antes de la dispersión de los juveniles. Estas interacciones parecen ser necesarias para que los juveniles inicien un proceso de aprendizaje de las características de sus conespecíficos (Soler 1999, Hauber et al. 2001). Por ejemplo, los volantones de crialo no se agregan sin la presencia de adultos conespecíficos, lo que indica que el reconocimiento no es innato (Soler and Soler 1999). Hauber y colaboradores (2001) propusieron que una vocalización innata emitido por adultos conespecíficos; el chatter, actúa para los volantones de tordo cabeza marrón como contraseña para reconocer las características fenotípicas del individuo que lo produce (hipótesis de la contraseña). De hecho, durante las interacciones con las hembras adultas, los volantones del tordo renegrido tienen la oportunidad de escuchar el chatter y desarrollar una preferencia social por ellos (Capítulo 3, Crudele et al. 2023). Por lo tanto, la presencia de hembras adultas en el territorio del hospedador aumenta la probabilidad de escuchar vocalizaciones e identificar el fenotipo de conespecificos para los juveniles parásitos.

Louder y colaboradores (2015) observaron que juveniles de tordo cabeza marrón realizaban excursiones fuera del territorio al atardecer, y pernoctaban fuera del mismo. Proponen que estas salidas ocurren en un momento en que los juveniles no se están alimentando y que abandonar el territorio minimizaría la posibilidad de impronta sexual con el fenotipo de sus padres hospedadores. Por el contrario, nosotros observamos que un juvenil de tordo renegrido que no había sido detectado en su territorio natal durante el día, volvió y permaneció allí durante la noche previa a dispersar definitivamente. Estas excursiones durante el día, podrían favorecer el encuentro de bandadas de conespecíficos con las que el juvenil de tordo renegrido podría interactuar, lo que podría favorecer el encuentro de la zona de alimentación, además de favorecer otros aspectos sociales con sus conespecíficos.

En conclusión, a pesar de la alta mortalidad conocida que ocurre en este período crítico en las aves, los resultados de nuestro estudio nos permitieron conocer más sobre la ontogenia del tordo renegrido, como sus rangos de edad de salida del nido y dispersión, basados en

observaciones confirmadas. También fue posible observar sus comportamientos cuando fueron criados para dos hospedadores de diferente tamaño, encontrando una plasticidad conductual según el hospedador.

4.5. Bibliografía

Anders, A.D., Dearborn, D.C., Faaborg, J., and Iii, F.R.T. (1997). Juvenile Survival in a Population of Neotropical Migrant Birds: Supervivencia de Juveniles en una Población de Aves Migratorias Neotropicales. *Conservation biology* 11(3), 698-707.

Barron, D.G., Brawn, J.D. and Weatherhead, P.J. (2010). Meta-analysis of transmitter effects on avian behaviour and ecology. *Methods Ecol. Evol.* 1, 180–187.

Brewer, D. (2001). *Wrens, Dippers and Thrashers*. New Haven, CT: Yale University Press.

Cox, W.A., Thompson III, F.R., Cox, A.S., and Faaborg, J. (2014). Post-fledging survival in passerine birds and the value of post-fledging studies to conservation. *The Journal of Wildlife Management* 78(2), 183-193.

Crudele, I., Reboreda, J.C., and Fiorini, V.D. (2023). Imprinting in an interspecific brood parasitic bird. *Proc. R. Soc. B* 290, 20230230.

Davies, N.B. (2000). *Cuckoos, Cowbirds and Other Cheats*. London: T and AD Poyser.

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

Ferrari, S.L., Cysneiros, A.H., and Cribari-Neto, F. (2004). An improved test for heteroskedasticity using adjusted modified profile likelihood inference. *Journal of statistical planning and inference* 124(2), 423-437.

Fiorini, V.D., and Reboreda, J.C. (2006). Cues used by shiny cowbirds (*Molothrus bonariensis*) to locate and parasitise chalk-browed mockingbird (*Mimus saturninus*) nests. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 60, 379–385.

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

Gloag, R., Tuero, D.T., Fiorini, V.D., Reboreda, J.C., and Kacelnik, A. (2012). The economics of nestmate-killing in avian brood parasites: a provisions trade-off. *Behav. Ecol.* 23, 132–140.

Grim, T., Samaš, P., Moskát, C., Kleven, O., Honza, M., Moksnes, A., and Stokke, B. G. (2011). Constraints on host choice: why do parasitic birds rarely exploit some common potential hosts?. *Journal of Animal Ecology* 80(3), 508-518.

Hauber, M.E., Russo, S.A., and Sherman, P.W. (2001). A password for species recognition in a brood-parasitic bird. *Proc. R. Soc. Lond. B* 268, 1041–1048.

Kershner, E.L., Walk, J.W. and Warner, R.E. (2004). Postfledging movements and survival of juvenile Eastern Meadowlarks (*Sturnella magna*) in Illinois. *Auk* 121, 1146–1154.

Kysučan, M., Samaš, P. and Grim, T. (2019). Post-fledging interactions between the Common Cuckoo *Cuculus canorus* and its cavity-nesting Common Redstart *Phoenicurus phoenicurus* host. *Ibis* 162(1), 90-103.

Louder, M. I., Ward, M. P., Schelsky, W. M., Hauber, M. E. and Hoover, J. P. (2015). Out on their own: a test of adult-assisted dispersal in fledgling brood parasites reveals solitary departures from hosts. *Animal Behaviour* 110, 29-37.

RStudio Team (2020). *RStudio: Integrated Development for R*. Boston, MA: RStudio, PBC.

Rappole, J.H. and Tipton, A.R. (1991). New harness design for attachment of radio transmitters to small passerines. *Journal of Field Ornithology* 62, 335–337.

Soler, M., Palomino, J.J., Martinez, J.G. and Soler, J.J. (1994). Activity, survival, independence and migration of fledgling great spotted cuckoos. *Condor*, 802-805.

Soler, M. and Soler, J.J. (1999). Innate versus learned recognition of conspecifics in great spotted cuckoos *Clamator glandarius*. *Anim. Cogn.* 2, 97–102.

Sullivan, K.A. (1989). Predation and Starvation: Age-Specific Mortality in Juvenile Juncos (*Junco phaeotus*) *Journal of Animal Ecology* 58, 275-286.

Thompson, A.M. and Ridley, A.R. (2013). Do fledglings choose wisely? An experimental investigation into social foraging behaviour. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 67, 69–78.

Tuero, D.T., Fiorini, V.D. and Reboreda, J.C. (2007). Effects of Shiny Cowbird *Molothrus bonariensis* parasitism on different components of House Wren *Troglodytes aedon* reproductive success. *Ibis* 149(3), 521-529.

Tuero, D.T., Fiorini, V.D., Mahler, B. and Reboreda, J.C. (2012). Shiny cowbird *Molothrus bonariensis* egg size and chick growth vary between two hosts that differ markedly in body size. *Journal of Avian Biology* 43(3), 227-233.

Woodward, P.W. (1983). Behavioral ecology of fledgling Brown-headed Cowbirds and their hosts. *The Condor* 85(2), 151-163.

Capítulo 5

Conclusiones

Como mencionamos anteriormente, los animales pueden reconocer a sus conespecíficos mediante preferencias innatas por ciertas señales (Ryan 1998, Ryan and Cummings 2013) o a través de un proceso de aprendizaje que ocurre durante el desarrollo temprano del individuo (Clayton 1988, Grant and Grant 1997, Kendrick et al. 1998). En aves y mamíferos, que proporcionan cuidados parentales, el reconocimiento se produce mediante un "templado", que implica la formación de una representación interna de atributos del fenotipo que coinciden lo suficiente con esas imágenes obtenidas durante el periodo temprano de su desarrollo (imprinting) (Lorenz 1937, Lacy and Sherman 1983, Sherman and Holmes 1985, Reeve 1989).

En el presente trabajo se determinó como se produce el reconocimiento conespecífico en un ave parásita de cría interespecífica, el tordo renegrado. Las aves parásitas de cría a diferencia de otras especies de aves, no tienen la oportunidad de desarrollar el reconocimiento de sus conespecíficos utilizando las señales proporcionadas por los adultos durante los primeros días de vida (Lorenz 1935). Los resultados de la tesis mostraron que los tordos usan el chatter, una vocalización innata de la especie, como contraseña para desarrollar esa preferencia social por el fenotipo del individuo que produce esta vocalización, brindando apoyo a la hipótesis de la contraseña.

La preferencia por el chatter pudo ser comprobada en el estudio realizado con playbacks en pichones de tordo de seis días de edad, que respondieron diferencialmente realizando pedidos de alimento con una mayor intensidad al escuchar los playbacks de chatter conespecífico que al escuchar las vocalizaciones del hospedador. Este experimento nos permitió concluir que los parásitos tienen una predisposición por las señales auditivas desde una etapa temprana, mientras aún se encuentran en el nido de su hospedador, a pesar de que en ese momento no interactúan con sus conespecíficos (Capítulo 2, Crudele et al. 2022).

La hipótesis de la contraseña fue respaldada mediante nuestro experimento de preferencias, en el que pudimos concluir que los juveniles de tordo renegrado prefirieron el modelo que estuvo asociado al chatter durante el entrenamiento, acercándose primero y pasando más tiempo cerca de él, independientemente de si el modelo asociado con el chatter era

conespecífico o heteroespecífico, confirmando la existencia de imprinting en esta especie (Capítulo 3, Crudele et al. 2023).

En base a nuestros resultados podríamos decir que en tordo renegrado, el período sensible, en el cual el individuo realiza su imprinting, comienza mientras los pichones aún se encuentran en el nido. El mismo se extiende durante el periodo en que los volantones comparten el territorio con los hospedadores y tienen la oportunidad de interactuar con adultos conespecíficos (Capítulo 4) que producen el chatter (King and West 1977, Hauber 2002). De esta manera, los juveniles se improntan con ellos y aprenden sus características fenotípicas, lo que les permite reconocer a sus congéneres y compartir con ellos las bandadas (Capítulo 4).

Por otro lado, a pesar de la alta mortalidad que tienen todas las aves durante el estadio de volantón y juvenil (Cox et al. 2014, Kyzucan et al. 2019), pudimos estudiar, a través de observaciones, cómo es la ontogenia del tordo renegrado cuando es criado por dos hospedadores habituales de diferente tamaño corporal, determinando los rangos de edad de salida del nido y dispersión del territorio. Estas observaciones nos permitieron determinar que los volantones criados por la calandria grande y la ratona común incrementan su exposición y realizan vuelos más largos a medida que crecen. Sin embargo, otras actividades como ser el tiempo que transcurren pidiendo alimento a sus padres adoptivos varió de acuerdo al hospedador, evidenciando una flexibilidad comportamental de los volantones, lo cual podría facilitar su capacidad de adaptarse a hospedadores tan diversos.

5.1. Bibliografía

Clayton, N. S. (1988). Song learning and mate choice in estrildid finches raised by 2 species. *Anim. Behav.* 36, 1589-1600.

Cox, W.A., Thompson III, F.R., Cox, A.S., and Faaborg, J. (2014). Post-fledging survival in passerine birds and the value of post-fledging studies to conservation. *The Journal of Wildlife Management* 78(2), 183-193.

Crudele, I., Reboreda, J.C. and Fiorini, V.D. (2022). Preferential begging responses of shiny cowbirds to the conspecific chatter call. *Front. Ecol. Evol.* 9, 725051.

Crudele, I., Reboresda, J.C., and Fiorini, V.D. (2023). Imprinting in an interspecific brood parasitic bird. *Proc. R. Soc. B* 290, 20230230.

Grant, P.R. and Grant, B.R. (1997). Hybridization, sexual imprinting, and mate choice. *Am. Nat.* 149,1-28.

Hauber, M.E. (2002). First contact: a role for adult-offspring social association in the species recognition system of brood parasites. In *Annales Zoologici Fennici*, Finnish Zoological and Botanical Publishing Board, 291-305.

Kendrick, K.M., Hinton, M.R., Atkins, K., Haupt, M.A. and Skinner, J.D. (1998). Mothers determine sexual preferences. *Nature* 395, 229-230.

King, A.P. and West, M.J. (1977). Species identification in the North American cowbird: appropriate responses to abnormal song. *Science* 195, 1002–1004.

Kysučan, M., Samaš, P., and Grim, T. (2019). Post-fledging interactions between the Common Cuckoo *Cuculus canorus* and its cavity-nesting Common Redstart *Phoenicurus phoenicurus* host. *Ibis* 162(1), 90-103.

Lacy, R.C. and Sherman, P.W. (1983). Kin recognition by pheno-type matching. *Am. Nat.* 121, 489-512.

Lorenz, K. (1935). Der Kumpan in der Umwelt des Vogels. *J. Ornithol.* 83, 137–213.

Lorenz, K. (1937). The companion in the bird's world. *Auk* 54, 245-273.

Ryan, M.J. (1998). Sexual selection, receiver biases, and the evolution of sex differences. *Science* 281, 1999-2003.

Ryan, M.J. and Cummings, M.E. (2013). Perceptual biases and mate choice. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 44, 437-459.

Sherman, P.W. and Holmes, W.G. (1985). Kin recognition: issues and evidence. In *Experimental behavioral ecology and sociobiology* (ed. B. Hildobler and M. Lindauer), 437-460.