

**RESPUESTA COMPORTAMENTAL Y ADAPTATIVA DE LA
LECHUCITA VIZCACHERA (*ATHENE CUNICULARIA*) FRENTE AL
AVANCE DE LA URBANIZACIÓN**



TESISTA: LIC. MATILDE CAVALLI

DIRECTOR DE LA TESIS: DR. JUAN PABLO ISACCH

2017



UNIVERSIDAD NACIONAL
de MAR DEL PLATA

ESCUELA DE POSTGRADO- FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

**RESPUESTA COMPORTAMENTAL Y ADAPTATIVA DE LA
LECHUCITA VIZCACHERA (*ATHENE CUNICULARIA*) FRENTE
AL AVANCE DE LA URBANIZACIÓN**

TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE DOCTORA EN CIENCIAS

(ÁREA BIOLOGÍA)

TESISTA: LIC. MATILDE CAVALLI

DIRECTOR DE TESIS: DR. JUAN PABLO ISACCH

LUGAR DE TRABAJO: LABORATORIO DE VERTEBRADOS- FACULTAD DE CIENCIAS
EXACTAS Y NATURALES- UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLATA

2017

RESUMEN

La urbanización es un fenómeno en expansión que implica importantes modificaciones en el ambiente y representa una de las mayores amenazas para la fauna nativa. Esto es porque, en este ambiente, los animales se hallan bajo presiones selectivas que difieren de aquellas experimentadas en los ambientes nativos dónde éstos evolucionaron. Sin embargo, algunas especies logran sobrevivir y ser exitosas en estas nuevas condiciones mediante un proceso de adaptación. En esta tesis se estudió la respuesta adaptativa y las variaciones en el comportamiento de un ave, la Lechucita Vizcachera (*Athene cunicularia*, Strigidae) en relación a dos contextos ambientales. Uno de estos contextos corresponde a ambientes rurales, ambientes donde esta especie se encuentra históricamente asociada, y el otro a ambientes urbanos, sitios donde la historia de esta especie es reciente. A lo largo de este trabajo se compararon parámetros reproductivos como tamaño de puesta, éxito reproductivo y productividad entre ambientes urbanos y rurales. Se describió y comparó el comportamiento reproductivo y cuidado parental de esta especie en ambos ambientes, y se analizó experimentalmente la respuesta frente a amenazas frecuentes asociadas a ambientes urbanos. Durante estos experimentos se intentó tener una aproximación a los mecanismos involucrados en estas respuestas. Se analizó si los individuos sometidos a las presiones urbanas diferían en su condición corporal y fisiológica de los individuos rurales. Finalmente, se estudió la dispersión de los juveniles y se analizó la existencia de estructuración genética entre poblaciones de Lechucitas urbanas y rurales. En líneas generales, las Lechucitas urbanas tuvieron mayor éxito reproductivo que las rurales. Considerando que las Lechucitas urbanas tuvieron mayor éxito en el ambiente urbano, las causas de pérdida de nidada en sitios rurales, y el mayor tiempo que las Lechucitas invierten en vigilancia durante el periodo reproductivo en este ambiente, los ambientes urbanos serían una opción favorable para la especie. Por otro lado, se registraron respuestas diferenciales en cuanto a las distancias de iniciación de vuelo, latencias de regreso al nido y los niveles de agresividad en Lechucitas urbanas y rurales. En general, las Lechucitas urbanas mostraron mayor tolerancia al humano y reaccionaron de manera diferencial de acuerdo al estímulo. La diferencia observada puede ser atribuida, por un lado, a la plasticidad comportamental de la especie o, por el otro, a un proceso de selección diferencial en el cual sólo ciertos individuos que exhiban determinadas características de comportamiento lograrán establecerse en el ambiente urbano. En esta tesis, se demostró que las Lechucitas tienen la capacidad de aprender, luego de repetidas exposiciones, cuando un estímulo no representa una amenaza y habituarse al mismo dando mayor soporte a la primer hipótesis. Por otro lado, se observó que tanto Lechucitas urbanas como rurales utilizan sonidos de alarma de otra especie (*Tero*, *Vanellus chilensis*) como indicadores de la presencia de una amenaza. Conservar éste comportamiento en distintos contextos ambientales representaría

una ventaja adaptativa. Las Lechucitas presentaron similar condición corporal y fisiológica en ambientes urbanos y rurales. Estas similitudes indicarían que la Lechucita logra adaptarse a las condiciones novedosas de los ambientes urbanos sin que las mismas representen un causal de estrés. Finalmente se observó que más allá de las diferencias comportamentales encontradas entre poblaciones, las Lechucitas urbanas y rurales se comportan como una misma población que se mantiene en equilibrio. El conjunto de resultados de esta tesis sugiere que la Lechucita Vizcachera es una especie con una elevada plasticidad comportamental, que le permite responder de manera adaptativa a los cambios en el ambiente asociados al proceso de urbanización.

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis es el resultado de un largo recorrido y no hubiese sido posible sin la invaluable ayuda de muchas personas e instituciones. A ellos, y espero no olvidarme de nadie, va dedicado este apartado.

Quisiera agradecer a la Escuela de Altos estudios, la Universidad Nacional de Mar del Plata por ser un actor directo en mi formación de grado y postgrado y brindar formación de excelencia. A CONICET, por financiar mis estudios de postgrado. Al Ministerio de Ciencia y Técnica, a Cristina y Néstor por invertir, a través de sus políticas de estado, en ciencia básica y entender que es la base del crecimiento para un país.

A Roxana Zenutto, Andrea Astié y Valentina Ferretti. Por corregir esta tesis y con su mirada constructiva ayudar a mejorarla.

A Popi, mi director de tesis, por guiarme, planificar, discutir y ayudarme a crecer en mi formación académica.

A Susana Bó, por transmitir su pasión por las rapaces y sembrar curiosidad en cada pisada al campo. Por confiar en mí y acompañarme a lo largo de estos años.

A Ale, mi co-equiper lechucero, por su ayuda, paciencia, por estar en cada etapa de la tesis y coparse y pensar en conjunto cada idea nueva. Por los mates y sanguchitos compartidos en los días de campo. Por las horas de discusiones para mejorar nuestro trabajo.

A mis compas del Laboratorio de Vertebrados. Por las charlas, los mates, las facturas de los viernes, días de campo, viajes a cursos y congresos en muy buena compañía. Muchas gracias!!! A Susi Bó, Bala, Lau B., Quique, el Rusito, Cardo, Caro, Osquis, Nanu, Nico, Giselle, Rocío, Sofí, Seco, Laura Vega, Vivi, Marco Favero, Tito, Paula, Ger y Car. Gracias a todos por conformar durante estos cinco años mi familia marplatense, por hacerme reír y hacer de nuestro lugar de trabajo un lugar lindo, con mucha buena onda.

Al Team cervecero: Laurita, Nanu, Nico y la Pela, por todo aquello que compartimos cervecita de por medio, charlas filosóficas, discusiones y lindos ratos.

A San Tyto, por darle mística al laboratorio.

A Laurita Biondi, por las enriquecedoras discusiones en distintas etapas de esta tesis, Gracias!

A Quique, por su paciencia y por enseñarme lo necesario para realizar los análisis genéticos.

A Coli, por ayudarme en el trabajo de campo y por prestar su oreja en momentos críticos.

A Guada, por dar conmigo los primeros pasos lechuceros, por aprender juntas y por los años de amistad.

Al Lechuzo, el mini Palio 2000 con corazón de 4x4 que me llevo a casi todos los muestreos y nunca me dejo a pata. Gracias!!!

A Pantaleón y la Negra, los amigos perrunos claves en el trabajo de campo.

A Vero D'amico y Fede Vera por dedicar horas de microscopio y enseñarme a reconocer tipos celulares.

A Matías Mora, Rocío Mariano-Jelicic y Augusto Cardoni por su asesoramiento durante el desarrollo de los análisis genéticos

A todos mis amigos y amigas de la facu y de la vida, a los que estuvieron desde el principio, a los que encontré durante el paso por la Universidad y a los que nos mandan energía desde algún otro lugar. Gracias por estar siempre y compartir algún momento de esta tesis.

A Alberto de Ea. Aguas Brillantes, Carlos de Ea. San José por su amabilidad durante estos años de muestreo. A los propietarios de los campos: El Puma, Los Alemanes, Santa Sabina, El Abuelo, Paitití por permitirme ingresar a sus propiedades para realizar este trabajo. A los vecinos de las localidades de Mar Chiquita, Vivoratá, Mar de Cobo, Camet Norte, Santa Clara y Mar del Plata por acercarse, preguntar e interesarse por conocer el mundo de las Lechus.

A los chicos del Lab. 13, por permitirme usar su cámara y microscopio para sacar las fotos de frotis sanguíneos.

A la familia! Por bancarme en todo, por meterse en el mundo de las Lechus conmigo y sobre todo por creer en mí. A la Noche, que nos cuida desde algún lado.

Al Pepe, por ser mi compañero en las tardes de escritura de esta tesis y por obligarme a salir a dar vueltas, de las cuales, más de una sirvió para aclarar ideas y de inspiración.

A **Guido**, por acompañarme siempre, por proyectar conmigo, por tu contención, pero sobre todo, por el aguante!!!

Finalmente, a ellas, las protagonistas de esta historia... las Lechus, por permitirme conocer su magia.

*A veces el silencio
Es la palabra justa,
La que enciende las luces,
La que mejor se escucha,
La que place o se sufre
Cargada de milenios,
La que otorga hermosura,
La flor del pensamiento.*

(Hamlet Lima Quintana)

ÍNDICE

DESCRIPCIÓN	PAGINA
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN AL ESTUDIO DE LA RESPUESTA COMPORTAMENTAL Y ADAPTATIVA DE LA LECHUCITA VIZCACHERA A LA URBANIZACIÓN	1
Introducción.....	2
Biología de la Lechucita Vizcachera.....	9
Área de estudio.....	10
Organización y estructura de la tesis.....	12
CAPÍTULO 2: PARÁMETROS REPRODUCTIVOS Y COMPORTAMIENTO DE CUIDADO PARENTAL DE LA LECHUCITA VIZCACHERA EN AMBIENTES URBANOS Y RURALES	14
Introducción.....	15
Metodología.....	18
Área de estudio.....	18
Desarrollo del muestreo.....	19
Parámetros reproductivos de la Lechucita Vizcachera, cronología reproductiva, éxito reproductivo y productividad en ambientes urbanos y rurales.....	19
Comportamiento de parentales de Lechucita Vizcachera.....	21
Análisis estadísticos.....	23
Resultados.....	24
Éxito reproductivo, productividad y tamaño de puesta.....	24
Cronología reproductiva.....	26
Comportamiento reproductivo de la Lechucita Vizcachera.....	27
Etapa Incubación.....	27
Etapa Pichones.....	28
Discusión.....	31
CAPÍTULO 3: COMPORTAMIENTO DE DEFENSA DE LA LECHUCITA VIZCACHERA EN AMBIENTES URBANOS Y RURALES, UNA VISIÓN EXPERIMENTAL	36
Introducción.....	36
Área de estudio.....	39
SECCIÓN 1: VARIACIÓN DE LA DEFENSA DEL NIDO DE LECHUCITAS VIZCACHERAS EN AMBIENTES RURALES Y URBANOS DURANTE EL PERIODO REPRODUCTIVO.	40
Introducción.....	40
Metodología.....	41
Diseño de muestreo y toma de datos.....	41
Análisis estadísticos.....	44
Resultados.....	45
Discusión.....	48
SECCIÓN 2: PERCEPCIÓN DIFERENCIAL DEL RIESGO DE LA LECHUCITA VIZCACHERA EXPUESTAS A LA APROXIMACIÓN DE HUMANOS Y PERROS EN AMBIENTES URBANOS Y RURALES.	51
Introducción.....	52
Metodología.....	53
Diseño de muestreo y toma de datos.....	53
Análisis estadísticos.....	54
Resultados.....	55
Discusión.....	59
SECCIÓN 3: EVALUACIÓN EXPERIMENTAL DEL ROL DE LA HABITUACIÓN EN LA RESPUESTA DE LAS LECHUCITAS VIZCACHERAS A HUMANOS.	62

Introducción.....	62
Metodología.....	64
Diseño de muestreo y toma de datos.....	64
Análisis estadísticos.....	65
Resultados.....	67
Tratamiento 1.....	67
Tratamiento 2.....	69
Discusión.....	72
SECCIÓN 4: CONCLUSIONES FINALES DEL CAPÍTULO.....	76
CAPÍTULO 4: RESPUESTA DE ALERTA FRENTE A SONIDOS DE ALARMA INTER- ESPECÍFICOS DE LA LECHUCITA VIZCACHERA EN AMBIENTES URBANOS Y RURALES	78
Introducción.....	79
Metodología.....	82
Diseño de muestreo y toma de datos.....	82
Análisis estadísticos.....	83
Resultados.....	84
Discusión.....	86
CAPÍTULO 5: DISPERSIÓN Y ESTRUCTURACIÓN GENÉTICA DE LA LECHUCITA VIZCACHERA ENTRE POBLACIONES URBANAS Y RURALES	90
Introducción.....	91
Metodología.....	93
Dispersión y observación de movimientos de pichones/juveniles en el campo.....	94
Estructuración genética.....	95
Extracción de ADN de las muestras de sangre.....	96
Extracción de ADN de plumas.....	97
Estudio de variabilidad del ADN.....	97
Análisis de datos de variabilidad del ADN.....	98
Resultados.....	99
Dispersión y observación de movimientos de individuos en el campo.....	99
Estructuración genética.....	100
Discusión.....	102
CAPÍTULO 6: INDICADORES FISIOLÓGICOS DE ESTRÉS DE LECHUCITAS VIZCACHERAS EN AMBIENTES URBANOS Y RURALES	105
Introducción.....	105
Metodología.....	108
Diseño de muestreo y toma de datos.....	108
Análisis de datos.....	110
Resultados.....	110
Discusión.....	112
CAPÍTULO 7: INTEGRACIÓN Y CONCLUSIONES FINALES DE LA TESIS	116
PREGUNTAS POR RESPONDER	120
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	122

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN AL ESTUDIO DE LA RESPUESTA COMPORTAMENTAL Y ADAPTATIVA DE LA LECHUCITA VIZCACHERA A LA URBANIZACIÓN



INTRODUCCIÓN

El ambiente dónde viven los organismos representa la fuente de obtención de los recursos indispensables para satisfacer sus requerimientos ecológicos y, es uno de los factores fundamentales que determina los rasgos de historia de vida y la supervivencia de los mismos. La teoría de selección de hábitat predice que los organismos deberían elegir aquellos ambientes en los cuales maximicen la probabilidad de sobrevivir y dejar descendencia (Rosenzweig 1985). Interacciones como la depredación, la competencia intra e interespecífica y en la disponibilidad de recursos alimenticios, acceso a refugios, sitios favorables dónde emplazar nidos o cuevas, entre otros inciden de manera directa en la selección del hábitat (Danchin et al. 1998, Cody, Martin 1993). Este proceso involucra una serie de respuestas aprendidas o innatas que se relacionan estrechamente y dependen de las condiciones del ambiente, la experiencia previa y de componentes genéticos (Saab 1999, Lantz et al. 2007). Los estudios tendientes a explicar los procesos de selección de hábitat se basan usualmente en correlaciones entre la distribución, abundancia y demografía de las especies y las variables ambientales (Janes 1985), pero son menos habituales los que exploran los patrones de comportamiento que subyacen a la elección de un hábitat determinado (Jones 2001, Chalfoun y Martin 2007).

En la actualidad, los ambientes naturales se encuentran en continuo cambio a raíz del remplazo de los mismos debido a la actividad humana. Asimismo, las poblaciones humanas se encuentran en crecimiento, lo que implica profundos cambios sobre los ecosistemas debido a la conversión de los ambientes naturales en urbanizaciones (Vitousek et al. 1997). La urbanización es considerada como una de las fuerzas más importantes de cambio ambiental y se proyecta una elevada tasa de crecimiento de las áreas urbanas durante este siglo (McKinney 2006).

El proceso de urbanización representa una de las mayores amenazas para la biodiversidad. Las especies animales que intenten vivir en sistemas urbanos deben enfrentar importantes desafíos, tales como modificaciones en la disponibilidad de alimento (Shanahan et al. 2014, Sol et al. 2013), reemplazo en el tipo de depredadores con respecto a ambientes no urbanos (Møller e Ibáñez-Álamo 2012), incorporación de riesgos como el de colisión con vehículos (Ditchkoff et al. 2006), aumento en el nivel de ruido (Halfwerk y Slabbekom 2014), prolongación de las horas del día debido a luces artificiales (Dominoni y Partecke 2015), temperaturas más elevadas que en ambientes no urbanos, cambios en las densidades poblacionales, entre otros (Shanahan et al. 2014, Chase y Walsh 2006, Evans et al. 2011). Todos estos factores inciden de manera directa e indirecta sobre la supervivencia, comportamiento y reproducción de las especies (Shanahan et al. 2014).

Las modificaciones en el ambiente debido al avance de la urbanización son generalmente drásticas y rápidas, en consecuencia la tolerancia y adaptabilidad de muchas especies frente a estos cambios se ve excedida generando efectos negativos en su *fitness* (Sih et al. 2010, Tuomainen y Candolin 2011). A pesar de esto, algunas especies más flexibles en su comportamiento, no sólo parecerían no perjudicarse frente a las modificaciones en el ambiente sino que podrían percibir a los sitios urbanos como una oportunidad ecológica que les permitiría expandir su rango de distribución (Sol et al. 2013). Características como la dependencia del ambiente natural y adaptabilidad a los cambios serían decisivas en la selección de una especie por los ambientes urbanos (Shanahan et al. 2014). En general, la presencia de distintas especies en los ambientes urbanos ha sido asociada a cambios importantes en el comportamiento, como por ejemplo capacidades de innovación altas, niveles de actividad elevados y toma de riesgos, entre otros (por ejemplo: Møller 2008a, 2008b, 2009, Minias 2015). Estas variaciones en el comportamiento, serían críticas para el

establecimiento, reproducción y persistencia de las poblaciones en estos ambientes (Sih et al. 2010, Møller 2012, Møller e Ibáñez-Álamo 2012).

Un grupo ampliamente estudiado para evaluar patrones de selección de hábitat y la respuesta frente a los avances de la urbanización es el de las aves (Partecke et al. 2006a, Møller 2008b, Evans et al. 2011, Sol et al. 2013, Minias 2015). En respuesta a los niveles crecientes de urbanización se ha observado, en general, una marcada disminución en la diversidad de aves nativas (Blair 1996, Marzluff 2001, Leveau et al. 2015). Sin embargo, algunas especies de aves logran sobrepasar la barrera de urbanización y adaptarse a estos ambientes cambiantes (Møller 2008a, 2009, Sol et al. 2013). En general, las aves que seleccionan y colonizan los ambientes urbanos suelen presentar una amplia plasticidad comportamental, nicho trófico amplio y dieta generalista, y poca especificidad en sus requerimientos de nidificación (Carrete y Tella 2011, Sol et al. 2013), además de una elevada capacidad de innovación (Ducatez et al. 2016), aprendizaje y resolución de problemas (Biondi et al. 2015), así como también flexibilidad en las técnicas de adquisición de alimento (Sol et al. 2002). En general, estas capacidades han sido asociadas principalmente al tamaño cerebral (Sol et al. 2002).

El sitio que las aves seleccionan para emplazar el nido es una decisión importante ya que es clave en la obtención de los recursos necesarios que permiten satisfacer los requisitos ecológicos (Wilbur et al. 1974, Cody 1985, Wiens 1989, Boyce y McDonald 1999). En lo que respecta a la reproducción, las aves utilizan información sobre la calidad del ambiente y seleccionan en consecuencia los parches en los cuales puedan maximizar la probabilidad de sobrevivir y de dejar descendencia (Newton 1998, Marzluff 2001). Las características de los sitios reproductivos (por ejemplo: disponibilidad de alimento, refugios) son de importancia en la determinación de la inversión reproductiva, de la intensidad de cuidado parental y finalmente del valor reproductivo de las crías (Newton 1998). Los ambientes urbanos

representan importantes desafíos comportamentales para las especies que intentan nidificar allí, ya que, además de los cambios derivados de la actividad antrópica (construcciones, circulación de vehículos y demás factores antes mencionados), la presencia humana implica la asociación con un potencial depredador (Lima 2009). En este sentido, el comportamiento de defensa durante el período reproductivo se encuentra directamente relacionado con la reducción de la depredación del nido, uno de los principales factores que afectan el *fitness* de las aves (Anderson et al. 1980, Montgomerie y Weatherhead 1988). En consecuencia, las especies de aves que intenten colonizar los ambientes urbanos deberán exhibir un balance entre habituación y estado de alerta frente a un potencial depredador como es el humano, ya que un exceso del primer comportamiento implicaría un aumento en la vulnerabilidad de la nidada frente a depredadores reales (Knight et al. 1989) y un exceso del segundo sería energéticamente costoso ya que restaría tiempo a otras actividades como alimentación y cuidado parental (Lima 2009).

La tolerancia al ambiente urbano en aves ha sido explicada por la existencia de una diversidad de comportamientos a nivel poblacional vinculados con la percepción del riesgo, exploración o sociabilidad (Sih et al. 2012). Se ha sugerido que dentro de una población, aquellos individuos que exhiban ciertas características de comportamiento (personalidades) con mayor tolerancia frente a disturbios humanos serán aquellos que colonicen exitosamente los ambientes urbanos (Møller 2009, Carrete y Tella 2010, Sih et al. 2010). De acuerdo a esta hipótesis, se esperaría que ante disturbios tales como la urbanización se modifiquen aspectos de distribución espacial de las especies ya que, dentro de una población, aquellos individuos con personalidades más tolerantes a las modificaciones tenderían a segregarse espacialmente hacia aquellos sitios más modificados en relación a individuos menos tolerantes, que preferirían ambientes más naturales (Martin y Réale 2008, Carrete y Tella 2010, Sih et al. 2010, Sol et al. 2013). Finalmente, de ser real este tipo de segregación condicionada por el

comportamiento y el flujo génico entre poblaciones es limitado, sería esperable que tenga consecuencias sobre parámetros genéticos de las poblaciones de especies que habitan ambientes urbanos y no urbanos (Partecke et al. 2006b, Evans et al. 2011, Sih et al. 2012). Una explicación alternativa al patrón de segregación espacial en rasgos comportamentales a nivel poblacional sugiere que los individuos son plásticos en su comportamiento y logran habituarse a la presencia del hombre y estímulos frecuentes de los ambientes urbanos. A través del proceso de habituación, las aves aprenderían del entorno en base a su experiencia previa cuáles estímulos representan una amenaza y cuáles no (Rankin et al. 2009, Blumstein 2014, 2016). Sin embargo, ninguna explicación es excluyente y podría ocurrir que en sitios altamente modificados sean seleccionados individuos con mayor plasticidad comportamental y mayor capacidad de habituarse a determinados estímulos (Vincze et al. 2016).

Entre los casos más llamativos de especies de aves que han logrado establecerse en ambientes urbanos, se reconoce a las aves rapaces. Este grupo de aves suele ser muy sensible a los cambios ambientales (McCrary et al. 1984, Sánchez-Zapata et al. 2003). Esta sensibilidad está relacionada con su condición de depredadores tope, su baja densidad poblacional, y sus amplios rangos de acción (Newton 1979). En la Región Pampeana, donde el paisaje original de pastizales naturales ha experimentado importantes cambios a causa del avance de la ganadería, agricultura y urbanización (Bilenca y Miñarro 2004), muchas poblaciones de rapaces han mostrado declinaciones mientras que otras han logrado adaptarse a las modificaciones (Filloy y Bellocq 2007, Pedrana et al. 2008, Baladrón et al. 2016). En consecuencia, su presencia en ambientes urbanizados implica un gran desafío adaptativo (Newton 1979).

En particular, la Lechucita Vizcachera (*Athene cunicularia*) es un ave rapaz que ha logrado adaptarse a ambientes modificados. Esta especie habita pastizales cortos templados del continente americano y presenta hábitos reproductivos muy particulares, dado por la

ubicación de sus nidos en cuevas en el suelo (König et al. 1999). En el hemisferio norte la Lechucita Vizcachera se encuentra asociada a mamíferos fosoriales y utiliza cuevas abandonadas de perritos de las praderas (*Cynomys* sp.) o ardillas (*Spermophilus* sp.) (Thomsen 1971). En Sudamérica, específicamente en las pampas, la Lechucita estuvo históricamente asociada a las cuevas de vizcachas (*Lagostomus* sp.) (Hudson 1984, Machicote et al. 2004). Sin embargo, debido a la declinación de estos mamíferos, la condición general es que las Lechucitas de esta región excaven sus propios nidos (Martínez et al. 2017). Las parejas reproductivas de la Lechucita son territoriales y conspicuas durante el día, siendo fácilmente localizadas dentro del área de acción de sus nidos (Marks et al. 1994). Esta es una especie común en la Región Pampeana donde frecuentemente habita ambientes rurales (por ejemplo: pasturas, bordes de campos y caminos; Comparatore et al. 1996, Bellocq 1997), pero también es encontrada con cierta frecuencia en ambientes urbanos (Martínez 2001, Pedrana et al. 2008, Sánchez et al. 2008, Carrete y Tella 2011) y pastizales naturales (Martínez et al. 2017, Baladrón et al. 2016, Azpiroz et al. 2012). En general, los sitios que la Lechucita selecciona para nidificar se caracterizan por ser parches de vegetación baja generalmente a más de 20m de parches de vegetación alta. Establecen sus nidos en sitios cercanos a perchas (< 20m), las mismas permiten vigilar el nido. La profundidad y tamaño del nido varía de acuerdo a las condiciones granulométricas y de compactación del suelo, siendo más profundas en sustratos arenosos (Martínez et al. 2017).

En los últimos años, el estudio del comportamiento de las aves en relación a los cambios en el ambiente debido a la urbanización ha recibido gran interés por parte de investigadores especializados en ecología del comportamiento. Como consecuencia, trabajos recientes han abordado el tema desde perspectivas novedosas relacionando diferentes aspectos del comportamiento con la capacidad de colonizar ambientes urbanos, por ejemplo bajos niveles de neofobia (Echeverría et al. 2006), mayor tamaño cerebral y capacidades cognitivas

(Sol et al. 2002, Biondi et al. 2015), comportamientos innovadores, es decir la adquisición de comportamientos aprendidos que son utilizados para resolver situaciones no familiares (Lefebvre et al. 1997, Møller 2009), entre otras. En este contexto se ha desarrollado esta tesis, la cual mantiene como eje central al estudio comparativo del comportamiento de la Lechucita Vizcachera en ambientes urbanos y rurales. Dadas las características de historia de vida y su amplia tolerancia a la modificación del ambiente relacionada con el uso de ambientes modificados y no modificados, la Lechucita Vizcachera se presenta como un modelo interesante para evaluar el modo en que los individuos responden a los cambios del ambiente asociados al avance de la urbanización.

El objetivo principal de esta tesis es estudiar las estrategias adaptativas que le permiten a la Lechucita Vizcachera colonizar y reproducirse en ambientes urbanos. Los objetivos particulares son: (1) Describir el comportamiento reproductivo, parámetros reproductivos y cronología reproductiva de la Lechucita Vizcachera en ambientes urbanos y rurales, (2) Analizar de manera experimental la respuesta de defensa de la Lechucita Vizcachera frente a disturbios frecuentes asociados a ambientes urbanos, (3) Describir y analizar el uso de vocalizaciones de alarma inter-específicas por la Lechucita Vizcachera en ambientes urbanos y rurales. (4) Analizar la influencia de la urbanización sobre parámetros genético poblacionales (tasa de dispersión, diversidad genética y estructura genética). (5) Comparar la condición corporal e indicadores de estrés en poblaciones urbanas y rurales de Lechucita Vizcachera, e (6) Integrar los resultados sobre el comportamiento reproductivo y de defensa, productividad, condición corporal, estrés e indicadores genéticos para explicar el éxito de esta especie en ambientes urbanos.

BIOLOGÍA DE LA LECHUCITA VIZCACHERA

Ubicación taxonómica

Clase: Aves

Subclase: Neornithes

Superclase: Neognathae

Orden: Strigiformes

Familia: Strigidae

Género: *Athene*

Especie: *Athene cunicularia*

Distribución geográfica y sitio de nidificación

La Lechucita Vizcachera es un ave rapaz que habita pastizales cortos templados de la región Neártica y Neotropical (Marks et al. 1999). Esta especie nidifica en cuevas ubicadas en el suelo (König et al. 1999). Excava su cueva utilizando sus patas y pico o utiliza cuevas abandonadas de animales fosoriales como perritos de las praderas, vizcachas, armadillos, entre otros. Los nidos suelen ubicarse en sitios abiertos, pastizales, praderas sin árboles, desiertos, zonas rurales, aeropuertos, banquinas o bordes de caminos y rutas, lotes vacantes en zonas urbanas y periurbanas. En el Hemisferio Norte suelen estar asociadas a cuevas abandonadas de mamíferos fosoriales, mientras que en el Hemisferio Sur el patrón más frecuente es que excaven sus propios nidos (Haug et al. 1993).

Morfología y características distintivas

Las Lechucitas miden entre 19-25cm de largo (Marks et al. 1999). Su cabeza es grande y redonda en proporción al resto del cuerpo, tiene pico curvo terminado en gancho y patas largas. Los machos y las hembras son similares en su tamaño y en peso (machos 200.6 ± 3.0 , hembras 201.4 ± 3.1 , Baladrón et al. 2015). La coloración es el rasgo morfológico más

significativo para diferenciar los sexos. Los machos presentan un plumaje más claro en comparación con las hembras, intensificándose esta diferencia durante el periodo reproductivo (Baladrón et al. 2015)

Hábitos y dieta

Esta especie presenta hábitos diurnos y nocturnos. En cuanto a su alimentación, son oportunistas y se alimentan principalmente de artrópodos, pequeños mamíferos, aves de pequeño tamaño, anfibios y reptiles pequeños (Haug et al. 1993, Cavalli et al. 2014).

ÁREA DE ESTUDIO

El área de estudio comprende el sudeste de la Provincia de Buenos Aires, donde se desarrollan ambientes típicos de la pampa deprimida (*sensu* Soriano et al. 1991), tales como pastizales altos de áreas bajas (cortadales, espartillares), pastizales psamófitos (sobre las dunas costeras) y humedales (lagunas, bañados, arroyos), así como también ambientes antropizados como campos de pastoreo y agrícolas, bosques implantados y áreas urbanas y periurbanas (Zelaya et al. 2016). El clima en el área de estudio es subhúmedo- húmedo mesotermal, las temperaturas más bajas se registran en julio (media = 7.7 °C) y las más altas en enero (media = 20.9°C). Las precipitaciones promedio anuales son de 921 mm/año, siendo otoño la estación más lluviosa e invierno la menos lluviosa (Fasano et al. 1982, Servicio Meteorológico Nacional 1981-1990).

En esta área pueden definirse tres grandes unidades ambientales como hábitat potencial de nidificación para la Lechucita Vizcachera que son: ambientes naturales (sin perturbación), agroecosistemas y ambientes urbanos. Dentro de los ambientes naturales los sitios de nidificación potencial incluyen pastizales de bajo porte con escasa cobertura sobre la

franja medanosa costera. En los agroecosistemas los sitios utilizados son pastos cortos asociados a las zonas más altas del terreno (lomas y medias lomas) en campos de pastoreo y pasturas y en los bordes de cultivos. En los ambientes urbanos los sitios corresponden con sectores donde el pasto se mantiene corto artificialmente por la acción humana, como terrenos baldíos, parques y lotes sin edificar (Cavalli et al. 2014a, 2014b, Martínez et al. en prensa, Baladrón et al. 2017).

Debido a que la influencia del hombre mediante sus construcciones y presencia, presentan un amplio gradiente que va desde un centro urbano densamente poblado hasta áreas rurales con casas dispersas, resulta conveniente explicitar los criterios que se utilizaron para definir y diferenciar un ambiente urbano de uno rural. Se consideró como ambiente urbano a zonas edificadas de poblados y áreas periféricas de ciudades con una densidad de casas y/o edificaciones mayor a 15 casas en un radio de 200 m desde el nido, donde el encuentro con el hombre es frecuente dada una alta circulación peatonal y/o vehicular. Los ambientes rurales, en cambio, se caracterizaron por ser áreas abiertas, como campos de pastoreo, pasturas, campos arados y de cultivos sin edificaciones (con excepción de cascos de establecimientos rurales), donde la presencia humana es de muy baja incidencia. Dada la pérdida de hábitat nativo en el área de estudio debido al avance de la urbanización y de la actividad agropecuaria, los bordes de caminos, pasturas y campos de pastoreo serían sitios más parecidos a las condiciones nativas.

Específicamente este estudio se realizó en distintos establecimientos rurales y localidades del sudeste de la región pampeana. Entre las localidades se encuentran las ciudad de Mar del Plata (periferia), villas balnearias Mar Chiquita, Santa Clara del Mar, Mar de Cobo, La Caleta, Camet Norte y la localidad de Vivoratá. Las áreas rurales correspondieron a las zonas aledañas a estas localidades y a Cnel. Vidal. Además, se accedió a distintos establecimientos rurales, como Ea. Paititi (37° 54.06 S, 57° 49.12 O), Ea. Los Alemanes (37°

53.35 S, 57° 37.84 O), Ea. El Puma (37° 46.68 S, 57° 35.63 O), Ea. San José (37° 48.58 S, 57° 34.98 O), Ea. Aguas Brillantes (37° 36.18 S, 57° 24.19 O), Ea. Nahuel Rucá (37° 35.62 S, 57° 25.49 O), Ea. Los Abuelos (37° 43.21 S, 57° 30.11 O) y Ea. Santa Sabina (37° 38.44 S, 57° 36.72 O).

ORGANIZACIÓN Y ESTRUCTURA DE LA TESIS

Esta tesis está organizada en 7 capítulos. El presente capítulo (Capítulo I), donde se realiza una introducción general a la temática abordada, se especifican los objetivos y se describe el área de estudio. Éste se articula con los cinco capítulos subsiguientes (Capítulos II a VI) en los cuales se estudian las respuestas de la especie a la urbanización desde distintos marcos teóricos, hipótesis de trabajo y metodologías. Específicamente, en el Capítulo II, se estudia el comportamiento reproductivo, parámetros reproductivos y cronología reproductiva de la Lechucita Vizcachera en áreas urbanas y rurales. En el Capítulo III, se analiza experimentalmente la respuesta de defensa de la Lechucita Vizcachera. Para esto se compara el comportamiento de individuos urbanos y rurales considerando tres tipos de respuestas: respuesta de defensa frente a la presencia del hombre en diferentes etapas reproductivas (Sección 3.1), respuesta frente a la presencia del hombre y de animales domésticos (Sección 3.2), y respuesta frente a la repetición de los estímulos (Sección 3.3.). En el Capítulo IV, se estudia el uso de señales de alarma interespecíficas como indicadoras de una amenaza por parte de Lechucitas Vizcacheras de ambientes urbanos y rurales. En el Capítulo V se estudia si existe estructuración genética entre las poblaciones rurales y urbanas y su dispersión postnatal. En el Capítulo VI se realiza la comparación de la condición corporal y perfiles leucocitarios indicadores de estrés ambiental de Lechucitas urbanas y rurales. Esta tesis cuenta con un capítulo final (Capítulo VII) en el cual se sintetizan los resultados de los

capítulos anteriores, integrando la información obtenida para explicar a partir de distintas perspectivas los factores que determinan el éxito de la Lechucita Vizcachera que le permitirían adaptarse a vivir en ambientes urbanos.

CAPÍTULO 2

PARÁMETROS REPRODUCTIVOS Y COMPORTAMIENTO DE CUIDADO PARENTAL DE LA LECHUCITA VIZCACHERA EN AMBIENTES URBANOS Y RURALES



Foto: A. Baladrón

INTRODUCCIÓN

Los ambientes urbanos representan para las especies animales un desafío importante para su supervivencia dado que las presiones selectivas de los mismos difieren con respecto a las del ambiente nativo donde evolucionaron (Ditchkoff et al. 2006). Los principales desafíos asociados a la urbanización incluyen cambios en la disponibilidad de alimento y sitios de nidificación y, en general, conduce a mayores densidades poblacionales en relación a los ambientes nativos (Chace y Walsh 2006, Shanahan et al. 2014). Si bien los depredadores naturales suelen encontrarse en menor densidad en los ambientes urbanos, se incorporan nuevas amenazas como la presencia del hombre y de los animales domésticos (Møller e Ibáñez-Álamo 2012, Sol et al. 2013). Sin embargo, también suelen aumentar las poblaciones de algunos depredadores atraídos por el suplemento de alimento asociado al hombre (Chace y Walsh 2006). En consecuencia, estos cambios en el ambiente pueden afectar diferentes procesos como es la percepción en el riesgo de depredación y la competencia por los recursos (Frid y Dill 2002, Ditchkoff et al. 2006, Møller e Ibáñez-Álamo 2012, Hernández-Brito et al. 2014). En este nuevo contexto, aquellos individuos que logren adaptarse a las condiciones de los ambientes urbanos serán aquellos que perduren y logran dejar descendencia (Ditchkoff et al. 2006, Møller 2008a). Por otro lado, la vida en ambientes urbanos también puede representar oportunidades ecológicas para aquellos animales que logren sobrepasar la barrera de la urbanización. En este sentido, los sitios urbanos representan ambientes heterogéneos con disponibilidad de nichos vacantes, fuentes adicionales de alimento, refugio y otras características que pueden ser aprovechadas por los animales (Sol et al. 2013, Shanahan et al. 2014).

Se ha postulado que aquellos animales que logran sobrepasar la barrera de la urbanización y adaptarse a sus desafíos lo hacen mediante alguna modificación en su comportamiento (Sih et al. 2010) y características de historia de vida (Ditchkoff et al. 2006,

Tuomainen y Candolin 2011, Sol et al. 2013). La historia de vida, conjunto de estrategias evolucionadas como adaptaciones conductuales, fisiológicas y anatómicas que tienen influencia directa sobre la capacidad de un organismo para invadir, sobrevivir y reproducirse en un ambiente (Ricklefs y Wikelski 2002). En general, la primera respuesta frente a cambios en el ambiente es comportamental y se manifiesta a través de alteraciones en la selección de hábitat, tipo de alimentación, dispersión, y/o vigilancia. En este sentido, los cambios en el comportamiento inducidos por las perturbaciones ambientales pueden influir a largo plazo sobre el *fitness* y la distribución espacial de los animales (Tuomainen y Candolin 2011). En particular, el periodo reproductivo es una etapa crítica en la vida de los animales, por lo que las respuestas comportamentales durante esta etapa influirán directamente sobre su éxito reproductivo. Las necesidades de las crías y los patrones de cuidado parental dependen estrechamente de los recursos disponibles en el ambiente utilizado para la reproducción (Møller 2012) y estos factores, a su vez, serán clave en moldear el comportamiento de los individuos. (Møller 2012).

En este capítulo se evalúan parámetros reproductivos y el comportamiento de cuidado parental de la Lechucita Vizcachera en respuesta a las modificaciones del ambiente asociadas al proceso de urbanización. Si bien la información sobre la ecología y biología reproductiva de la Lechucita Vizcachera es abundante en el hemisferio norte debido principalmente a su retroceso poblacional en su distribución oeste (Desmond y Savidge 1996, Trulio 1997, Conway et al. 2006), en Sudamérica es escasa la información disponible sobre la biología reproductiva de esta especie (Bellocq et al. 1993, Martínez et al. en prensa). Sin embargo, la evidencia disponible indica que en su distribución sur esta rapaz parecería no presentar problemas en su estado de conservación y estaría expandiéndose y colonizando ambientes altamente modificados como son los urbanos (Pedrana et al. 2008, Sánchez et al. 2008, Carrete y Tella 2013, Baladrón et al. 2016, esta tesis). Además del trabajo de Martínez et al.

(2017), que muestra que la performance reproductiva de las Lechucitas Vizcacheras no varía entre ambientes naturales y asentamientos urbanos de la costa bonaerense, no existen en Sudamérica estudios comparativos que evalúen el efecto de la urbanización sobre los parámetros reproductivos y comportamentales de esta especie. Estos estudios son de carácter indispensable para conocer si realmente la Lechucita Vizcachera presenta o no problemas poblacionales en respuesta a la modificación del ambiente principalmente debido al avance de la urbanización.

En este contexto, el objetivo de este capítulo fue determinar la cronología reproductiva, el éxito reproductivo y la productividad de Lechucitas Vizcacheras en ambientes urbanos y rurales, así como también comparar el comportamiento de cuidado parental de Lechucitas Vizcacheras durante el periodo reproductivo en ambientes urbanos y rurales. Dado que los ambientes rurales suelen presentar mayor variación estacional e interanual en las condiciones ambientales que los ambientes urbanos, cada vez es mayor la evidencia de que las aves no solo adelantan sino que también prolongan su periodo reproductivo en ambientes urbanos en relación a las mismas especies en ambientes rurales, lo cual estaría asociado a mayores temperaturas y reparo en estos lugares, disponibilidad de alimento asociada a fuentes humanas, entre otras (Beck y Heinsohn 2006, Sih et al. 2010, Deviche y Davies 2014). En este sentido, se plantea la hipótesis de que las Lechucitas adelantan su temporada reproductiva de acuerdo al ambiente donde se encuentren nidificando (h1). Se predice que las Lechucitas que habitan ambientes rurales presentarán un periodo reproductivo más corto que las urbanas (p1). Por otro lado, Conway et al. (2006) encontraron que si bien el éxito reproductivo de las Lechucitas no variaba entre ambientes urbanos y rurales en Norteamérica, las poblaciones de Lechucitas nidificando en sitios rurales dependen en gran medida del manejo que los propietarios realicen en sus campos siendo la fumigación y el arado de la tierra principales causas de amenaza. Por su parte, Martínez et al. (2017)

encontraron en la Región Pampeana que el éxito reproductivo fue nulo en ambientes rurales, identificando al abandono de nido, la depredación y la fumigación como las principales causas de pérdida de nidada. En este sentido, pese a los desafíos que los ambientes urbanos representan, éstos podrían presentar características favorables para las Lechucitas, tales como refugio de los depredadores nativos (Møller e Ibáñez-Álamo 2012, Sol et al. 2013), recursos alimenticios similares a los ambientes rurales (Cavalli et al. 2014a), extensión del clima favorable (Sih et al. 2010, Møller 2012), a la vez que estarían exentos de actividades perjudiciales asociadas a los ambientes rurales como el rocío de pesticidas y el arado de la tierra. En este contexto, se plantea la hipótesis de que el éxito reproductivo de la Lechucita Vizcachera difiere entre el ambiente urbano y el rural (h2) y se predice que las parejas que habiten ambientes urbanos tendrán mayores probabilidades de ser exitosas y tendrán mayor productividad que las parejas rurales (p2). Finalmente, se plantea la hipótesis de que el tiempo invertido en vigilancia por las parejas reproductivas de Lechucitas será diferente entre ambientes urbanos y rurales (h3). Dado que los ambientes urbanos presentan mayores estímulos que los ambientes rurales (tránsito vehicular y peatonal, ruido, etc.), se predice que las Lechucitas de ambientes urbanos pasarán más tiempo vigilando en relación a otros comportamientos que las Lechucitas de ambientes rurales (p3).

METODOLOGÍA

Área de estudio

Los muestreos fueron realizados en sitios urbanos costeros y rurales del sudeste de la Provincia de Buenos Aires. Específicamente los sitios urbanos fueron las localidades de Mar Chiquita, Mar de Cobo, Camet Norte, Santa Clara del Mar y Mar del Plata. Los sitios rurales fueron: Ea. Los Alemanes, Ea. San José, Ea. Aguas Brillantes y caminos rurales ubicados en el área de muestreo (ver Capítulo 1).

Desarrollo del muestreo

En una primera instancia se realizó la búsqueda de parejas y nidos de Lechucita Vizcachera en ambientes urbanos y rurales previo al inicio de la temporada reproductiva (antes de octubre de cada año). La búsqueda se llevó a cabo a través de recorridas periódicas en auto o a pie (Conway et al. 2008) y utilizando las redes sociales (Cavalli et al. 2014b). Una vez localizadas las parejas reproductivas y sus nidos, los mismos fueron geo-referenciados utilizando GPS y clasificados en rurales o urbanos de acuerdo a las características del ambiente dónde se ubicó cada nido.

- *Parámetros reproductivos de la Lechucita Vizcachera: determinación de la cronología reproductiva, éxito reproductivo y productividad en ambientes urbanos y rurales.*

Se realizaron muestreos sistemáticos que consistieron en visitas semanales a los nidos urbanos y rurales identificados en cada ambiente. Los mismos se llevaron adelante desde mediados de septiembre hasta fines de enero durante tres temporadas reproductivas (2012-13, 2014-15 y 2015-16). En total se monitorearon 134 nidos, 87 en ambientes urbanos y 47 en ambientes rurales.

La estimación de los parámetros reproductivos de la Lechucita Vizcachera no es fácil de realizar, dado que las cámaras de cría son subterráneas y suelen tener alrededor de dos metros de profundidad (Martínez 2013). Para determinar la cronología reproductiva se utilizó un protocolo estandarizado (Conway et al. 2006) basado en visitas semanales con el fin de registrar el comportamiento de los parentales indicativo de cada etapa y la presencia de pichones fuera del nido. A partir de dicha información se determinó la duración del período reproductivo. Durante la temporada 2012-13 se realizaron observaciones focales de 30 minutos una vez por semana en cada nido. Las observaciones se realizaron desde puntos ciegos o a más de 100 m de distancia para no interferir en el comportamiento de los individuos, utilizando binoculares 12x50 o monocular 18x36. En cada sesión se registró el

número de individuos en cada nido y se estimó la etapa reproductiva de acuerdo al comportamiento de los adultos. Durante la temporada reproductiva 2014-15 se determinó la etapa reproductiva de las Lechucitas Vizcacheras mediante la utilización de una cámara infrarroja conectada a una computadora (LYD Color Night Vision Infrared Waterproof Camera, modelo 802c; ver Fig. 1). Esta cámara fue introducida en los nidos de Lechucitas Vizcacheras y el contenido fue visualizado a través de la pantalla de la computadora. Se ha demostrado que el uso repetido de esta tecnología no afecta la performance reproductiva de la pareja (García y Conway 2009). Mediante esta nueva tecnología se intentó, además de establecer la cronología reproductiva, determinar el tamaño de puesta promedio en cada ambiente. Sin embargo, esta metodología no fue del todo eficiente en varios nidos debido a la profundidad o complejidad estructural del túnel de entrada del nido. Finalmente, durante la temporada reproductiva 2015-16 las observaciones focales fueron complementadas con video-cámaras de alta definición con el fin de obtener información estandarizada del cuidado parental de la pareja a lo largo del periodo reproductivo tanto en ambientes urbanos como rurales. Todos los registros fueron realizados evitando condiciones meteorológicas adversas, como lluvias, niebla o viento fuerte (Andersen 1990, Sproat y Ritchison 1993).

El tamaño de puesta fue estimado solo en aquellos nidos a los cuales se pudo acceder exitosamente a la cámara de incubación mediante la cámara infrarroja. En cada ambiente se registró el número de nidos exitosos y no exitosos, considerándose exitosos a aquellos nidos que lograron que al menos una de las crías alcancen la edad de volantón (Steenhof y Newton 2007). Cuando fue posible se identificaron y registraron las causas de pérdida de los nidos. Se calculó la productividad como el número de volantones producidos por pareja (Millsap y Bear 2000, Steenhoof y Newton 2007) expresado como el número promedio de pichones por parejas exitosas (aquellas cuyos pichones alcanzaron la edad de volantón). Se calculó también el número de pichones por intento reproductivo (nidos donde se registraron pichones pero no

alcanzaron la edad de volantón). Basados en las parejas exitosas se describió la cronología reproductiva discriminando entre Lechucitas de ambientes urbanos y rurales.

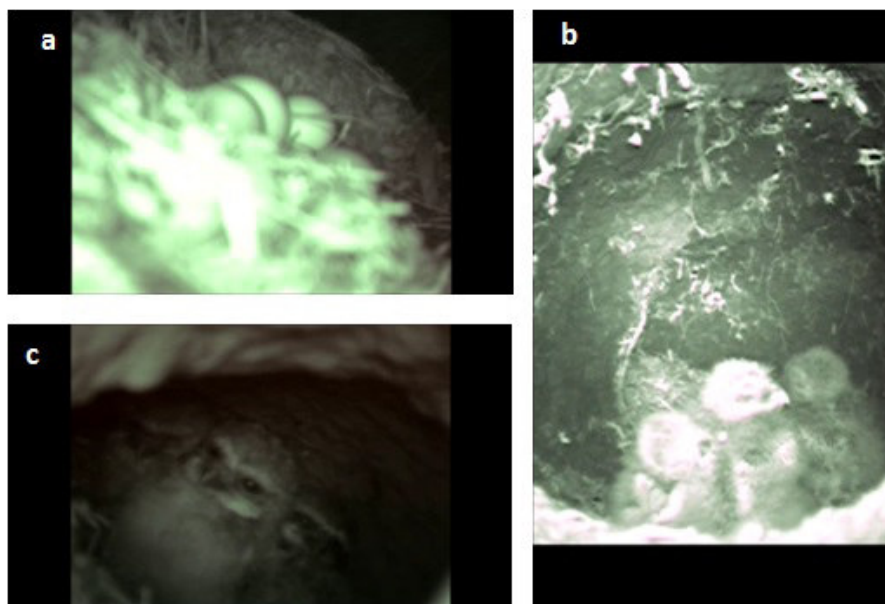


Figura 1. Imágenes del interior de nidos de Lechucita Vizcacheras obtenidas a través de las cámaras infrarrojas: a) interior de la cámara de cría de un nido durante la etapa de incubación donde se puede apreciar el material utilizado para recubrir la cámara y una puesta de cinco huevos, b) durante la etapa temprana de crianza de pichones, la cámara de cría con tres pichones recién eclosionados, los cuales permanecerán dentro del nido durante unos 10 días, c) hacia el final del periodo reproductivo se observan tres pichones más desarrollados, los cuales alternan el tiempo dentro de la cámara de cría con salidas al exterior del nido para recibir alimento de los parentales.

- Comportamiento de parentales de Lechucita Vizcachera

El comportamiento reproductivo de la Lechucita Vizcachera fue descrito para parejas urbanas y rurales a partir de las filmaciones obtenidas durante la temporada reproductiva 2015-16 utilizando cámaras de alta resolución. Las cámaras fueron colocadas entre 1.5-2m del nido y camufladas para que no interfieran en el comportamiento de las Lechucitas. La duración de los registros varió entre 90-180 minutos por día de filmación. Las cámaras fueron colocadas con frecuencia semanal en cada nido desde la primera semana desde octubre del 2015 hasta la tercera semana de enero del 2016. Las filmaciones fueron realizadas en el rango horario de 07:00- 12:00hs. En base a la bibliografía (Coloumbe 1971, Thomsen 1971, Martin 1973, Fisher et al. 2004) y a las observaciones personales se estableció un Etograma

describiendo las principales categorías de comportamiento de adultos de Lechucita Vizcachera durante el periodo reproductivo (Tabla 1).

En el laboratorio se observaron los videos filmados en cada nido y se establecieron los presupuestos de tiempo de los individuos (Martin y Bateson 1993, Gaibani y Csermely 2007), en base a la proporción del tiempo que machos y hembras invirtieron en cada actividad durante cada día de filmación. Además, se registró el número de vocalizaciones y eventos asociados a la vigilancia del nido (por ejemplo: MA, VA, VL y TR) para cada día de filmación (Martin y Bateson 1993).

Tabla 1. Etograma describiendo los estados (E) y eventos (Ev) de comportamiento registrados para la Lechucita Vizcachera durante el periodo reproductivo.

Comportamiento	Tipo	Descripción
Fuera del área de nido (FN)	E	El individuo se encuentra fuera de las proximidades del nido y no es posible observar su comportamiento.
Dentro del nido (D)	E	El individuo se encuentra dentro del nido o cámara de cría. En este caso, se asume que se encuentra incubando o cuidando a los pichones.
En la entrada del nido (B)	E	El Individuo permanece próximo al nido.
Busca alimento (BA)	E	El Individuo busca alimento en el suelo en las inmediaciones del nido
Vigila (V)	E	El Individuo permanece parado en posición de vigilancia/ alerta próximo al nido
Descansa (DES)	E	El Individuo permanece parado en posición de descanso próximo al nido (Cabeza no erguida, cierra los ojos)
Acondiciona el nido (AC)	E	El individuo realiza tareas de mantenimiento del nido (Escarba en la entrada de la cueva, saca tierra de la cueva, entra con material al nido)
MA	Ev	El Individuo vigila y mira hacia arriba
Traspasso de alimento (TR)	Ev	El individuo transfiere el alimento a otro de la pareja (Etapa incubación) o a pichón (Etapa pichones)
Vocalización de llamado (VL)	Ev	El individuo emite sonido característico previo al traspasso de alimento.
Vocalización de alarma (VA)	Ev	El individuo realiza vocalización de alarma característica de la especie

Análisis estadísticos

La hipótesis de no diferencia en la probabilidad de que una pareja sea exitosa de acuerdo al ambiente de nidificación fue testada mediante modelos lineales generalizados (GLMs), ajustando a una distribución Binomial siendo el éxito de nido la variable respuesta (0: no exitoso, 1: exitoso) y la variable explicativa el ambiente (categórica con dos niveles: urbano y rural). La hipótesis de no diferencia en el número de pichones por nido exitoso entre ambientes urbanos y rurales fue testada mediante GLMs ajustando a una distribución Poisson. En este caso la variable respuesta fue el número de pichones que llegó a etapa de volantón por pareja y la variable explicativa fue el tipo de ambiente (factorial con dos niveles) (Crawley 2007).

Basado en los datos obtenidos de las cámaras infrarrojas se estimó el tamaño de puesta en nidos de ambientes urbanos y rurales y se compararon mediante una prueba no paramétrica de Mann-Whitney (Zar 2010). Además, se calcularon diferentes parámetros reproductivos como el número promedio (\pm error estándar), moda, máximo y mínimo de pichones para cada ambiente.

Para el análisis de los datos de comportamiento obtenidos a partir de las filmaciones se dividió el periodo en dos etapas: incubación y crianza de pichones (es decir, dos primeras semanas desde que los pichones emergen fuera del nido). Para la etapa de crianza de pichones sólo se consideraron las filmaciones correspondientes a las dos primeras semanas luego de que los pichones emergen del nido. Para cada etapa y ambiente se calcularon los valores promedio de la proporción del tiempo que cada individuo adulto invirtió en cada actividad detallada en la Tabla 1. Posteriormente, se testeó la hipótesis nula de no diferencia en los presupuestos de tiempo para cada actividad entre individuos urbanos y rurales mediante el test t de Student o pruebas Mann-Whitney cuando no se cumplieron los supuestos de normalidad (Zar 2010).

En el caso de los eventos de comportamiento (MA, TR, VL y VA; Tabla 1) los valores se expresaron como número de veces de cada evento por hora de filmación (frecuencia). Posteriormente, se testeó la hipótesis nula de no diferencia de la frecuencia de eventos entre ambientes para cada etapa reproductiva mediante el test t de Student o pruebas Mann-Whitney cuando no se cumplieron los supuestos de normalidad (Zar 2010).

El comportamiento de los pichones se describió expresando la proporción del tiempo que los mismos estuvieron activos en relación al tiempo total de filmación. Esta proporción se calculó sumando el promedio del tiempo que los pichones permanecieron activos en cada nido y luego se dividió por el tiempo total de filmación. Se consideró que los pichones estaban activos si los mismos se encontraban fuera del nido alimentándose, vigilando, vocalizando, etc. Se consideró que los pichones no estaban activos si los mismos se encontraban dentro del nido o en posición de descanso. Se comparó la proporción del tiempo activo de pichones urbanos y rurales mediante test Z de proporciones (Zar 2010).

Los análisis se realizaron utilizando R para Windows, Versión 3.0.1 (R Development Core Team 2016).

RESULTADOS

Éxito reproductivo, productividad y tamaño de puesta

En general, los nidos de Lechucita en ambientes urbanos tuvieron mayor éxito reproductivo que los de ambientes rurales ($\beta = 1.15$, $Z_{132} = 3.06$, $P = 0.0022$; Tabla 2). El número promedio de pichones por pareja exitosa (ver Tabla 2) fue similar en parejas urbanas y rurales ($\beta = 0.02$, $Z_{132} = 0.13$, $P = 0.89$).

Del total de nidos rurales que no fueron exitosos, las causas principales de pérdida de nidada fueron por potencial abandono del nido (61% de los nidos rurales no exitosos), depredación (11.5%), fumigación (11.5%) o por causas desconocidas, ya que los individuos

adultos permanecieron en el nido pero no lograron reproducirse (15%). Del total de nidos urbanos que no fueron exitosos, en la mayoría no pudo establecerse la causa de pérdida de nidada (85.1% del total de nidos no exitosos), en estos casos los adultos permanecieron en sus nidos pero no lograron reproducirse. El 11% de los nidos no exitosos en ambientes urbanos se atribuye a la colisión y posterior muerte de adultos con vehículos, destrucción del nido por humanos o muerte asociada a estructuras urbanas (Por ejemplo: un individuo fue hallado ahogado en un tanque de agua). El 3.7% de los nidos no exitosos fueron afectados por estar emplazados en zonas bajas o inundables.

Tabla 2. Productividad [número promedio de pichones \pm EE (rango)] y moda del número de pichones por nido, y porcentaje de nidos exitosos para Lechucitas Vizcacheras en ambientes urbanos y rurales.

	Ambiente		Total
	Rural	Urbano	
Número de pichones por pareja exitosa (Productividad)	2.55 \pm 0.28 (1-5)	2.60 \pm 0.12 (1-4)	2.59 \pm 0.11 (1-5)
Número de pichones por intento	1.08 \pm 0.22 (0- 5)	1.82 \pm 0.15 (0- 4)	1.57 \pm 0.13 (0-5)
Moda de pichones /nidos exitosos	2	3	3
% Nidos exitosos	42.55	70.11	60.44
n	47	87	134

Se seleccionaron 24 y 16 nidos en ambientes urbanos y rurales, respectivamente, con el fin de visualizar su contenido a lo largo del periodo reproductivo mediante cámaras infrarrojas. Finalmente, dada la complejidad estructural y la profundidad de los mismos se logró visualizar el contenido durante la etapa de incubación en 17 nidos en ambientes urbanos y en 5 nidos en ambientes rurales (ver Fig. 1). En general el número promedio de puesta por nido fue de 3.22 (\pm 0.61) y fue similar entre ambientes ($U_{17,5} = 41.5$, $P = 0.96$), con un valor promedio de 3.23 (\pm 0.07) y de 3.20 (\pm 0.31) en el ambiente urbano y rural, respectivamente. El rango de puesta fue de 1-7 huevos en ambientes urbanos y de 1-5 huevos en ambientes rurales.

Cronología reproductiva

Se consideraron los nidos exitosos de las tres temporadas de cría monitoreadas para describir la cronología reproductiva de la Lechucita Vizcachera en cada ambiente. Se obtuvieron datos de 20 parejas en ambientes rurales y 60 parejas de ambientes urbanos. La temporada reproductiva se inició a principios de octubre y se extendió hacia fines de enero. En general, en ambientes urbanos las parejas comenzaron a incubar dos semanas antes que en ambientes rurales. El mayor número de parejas incubando fue durante la primera y la segunda semana de noviembre en ambiente urbano y rural, respectivamente (Fig. 2a). La mayor proporción de parejas con pichones pequeños no emergentes fue observada en ambos ambientes durante la primera semana de diciembre (Fig. 2b). La proporción de parejas con pichones de más de dos semanas (que permanecen en la boca del nido) fue máxima durante la primera semana de enero en ambos ambientes (Fig. 2c).

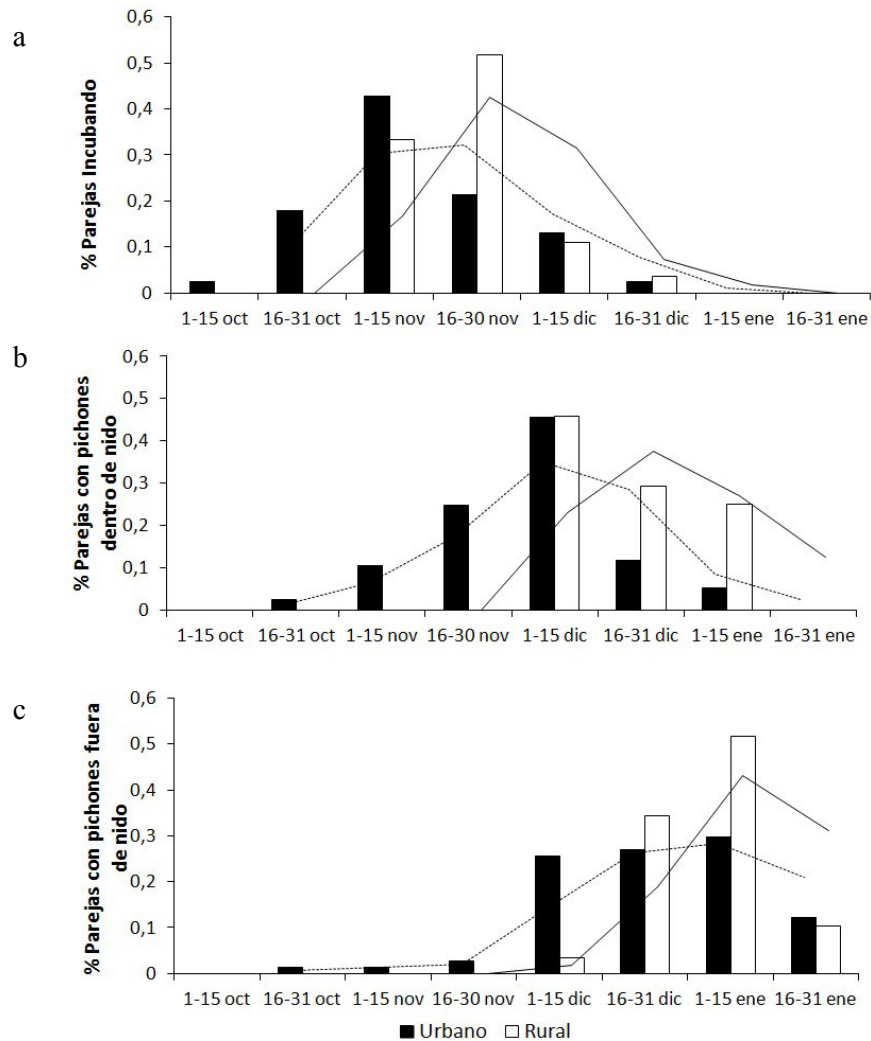


Figura 2. Cronología del periodo reproductivo de la Lechucita Vizcachera en ambientes urbanos y rurales, donde se detallan el porcentaje de parejas en (a) etapa de incubación, (b) etapa temprana de desarrollo de pichones dentro del nido, y (c) etapa tardía de desarrollo de pichones fuera del nido. La línea punteada corresponde a la línea de tendencia en ambientes urbanos mientras que la línea continua corresponde a ambientes rurales.

Comportamiento reproductivo de la Lechucita Vizcachera

Etapa: Incubación

Se obtuvieron 870 minutos de filmación en nidos rurales ($n = 6$) y 682 min en nidos de ambientes urbanos ($n = 5$). En general durante el periodo de incubación las hembras permanecieron la mayor parte del tiempo dentro del nido incubando, mientras que los machos permanecieron fuera del nido vigilando o buscando alimento (Fig. 3). La proporción de tiempo que los machos rurales pasaron alejados del nido fue menor que para los machos

urbanos ($t_9 = 2.3$, $P = 0.03$). La proporción del tiempo que los machos rurales invirtieron en vigilancia tendió a ser más elevada que la que invirtieron los individuos urbanos, aunque esta diferencia no fue soportada estadísticamente ($t_9 = -2.07$, $P = 0.06$). Además, se registró un mayor número de eventos de MA y VA por parte de individuos rurales comparados con urbanos (ver Tabla 3). Los valores medios registrados para la proporción de DN, B, BA, V, DES, AC y para la frecuencia de VL, TR por hora fue similar entre machos urbanos y rurales (valores de $P > 0.05$, Fig. 3). Las hembras urbanas y rurales mostraron presupuestos de tiempo similares entre ambientes, excepto por VA que fue mayor en ambientes urbanos ($U_{6,5} = 27.0$, $P < 0.05$, Tabla 3).

Etapa: Pichones

Se obtuvieron 632 min de filmación en nidos rurales ($n = 7$) y 419 min en nidos de ambientes urbanos ($n = 3$). La proporción de tiempo que los pichones permanecieron activos durante las horas de filmación fue similar para ambientes urbanos y rurales (Rurales = 43.4%, Urbanos = 50.3%, $\chi^2 = 0.02$, $P = 0.87$). En general se observó que las hembras pasaron más tiempo en las inmediaciones del nido que los machos (Fig. 3). Las hembras de ambientes urbanos permanecieron más tiempo dentro del nido que las de ambientes rurales ($U_{3,7} = 0.1$, $P = 0.017$). No se encontraron diferencias para los restantes comportamientos entre hembras urbanas y rurales. Los machos urbanos y rurales mostraron presupuestos de tiempo similares entre ambientes ($P > 0.05$, Fig. 3). En la Fig. 4 se pueden ver dos imágenes de intentos de depredación durante la etapa de cuidado de pichones.

Tabla 3. Frecuencia promedio (\pm EE) de cada evento de comportamiento para Lechucitas urbanas y rurales durante la etapa de incubación y de pichones. Referencias: VL: Vocalización de llamado, MA: Individuo vigila o patrulla hacia arriba, TR: Traspaso de alimento y VA: Vocalización de alarma.

Etapa	VL	MA	TR	VA
<i>Incubación</i>				
Rural				
M	0.24 \pm 0.24	8.01 \pm 3.45	0.37 \pm 0.23	1.23 \pm 0.48
H	-	0.72 \pm 0.72	-	0.42 \pm 0.28
Urbano				
M	0.28 \pm 0.14	0.80 \pm 0.58	0.22 \pm 0.11	0.31 \pm 0.24
H	-	0.92 \pm 0.51	-	1.46 \pm 0.68
<i>Pichones</i>				
Rural				
M	0.19 \pm 0.19	-	-	0.12 \pm 0.12
H	3.96 \pm 1.9	1.01 \pm 0.72	0.81 \pm 0.55	1.68 \pm 0.85
Urbano				
M	-	5.86 \pm 5.86	-	4.4 \pm 4.4
H	7.21 \pm 3.13	2.65 \pm 1.5	1.68 \pm 0.69	2.68 \pm 1.14

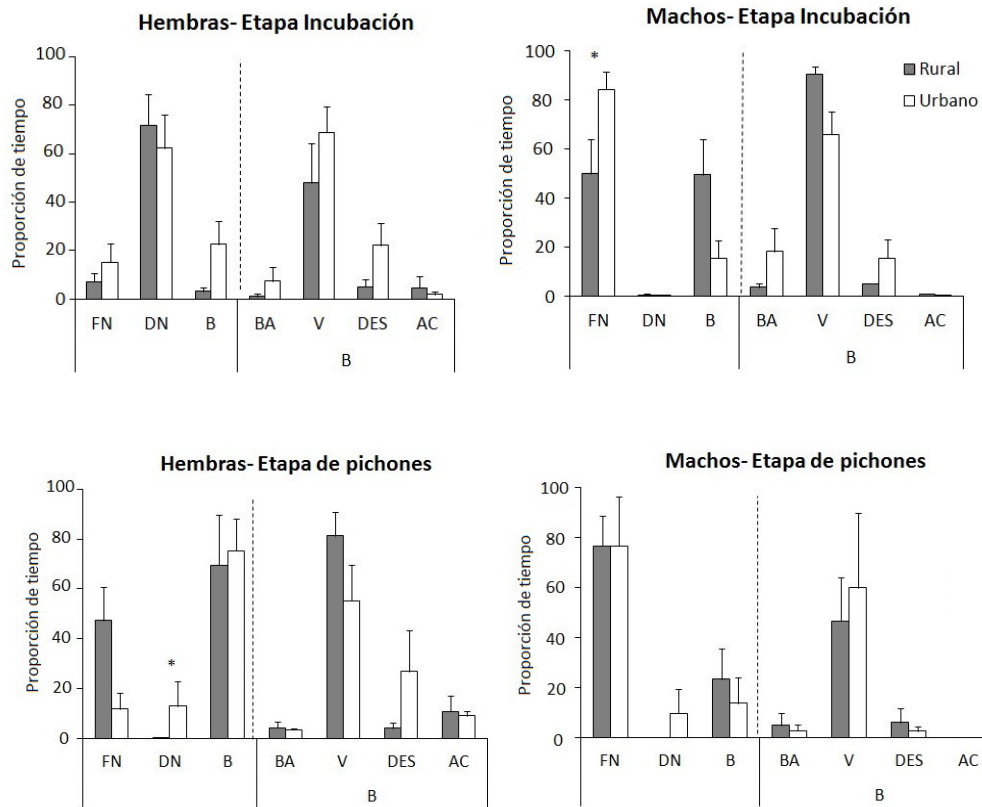


Figura 3. Presupuestos de tiempo de machos y hembras de Lechucitas Vizcacheras de ambientes urbanos y rurales en dos etapas del periodo reproductivo (Incubación y pichones). Los valores se expresan como proporción de tiempo promedio (\pm EE) que los individuos pasan realizando cada actividad. BA, V, DES y AC se expresan en relación al tiempo B (ver Tabla 1 para referencias). Los asteriscos indican diferencias significativas ($P < 0.05$).



Figura 4. Imágenes de intentos de depredación por zorro (*Lycalopex gymnocercus*) y por caranchos (*Caracara plancus*) obtenidos utilizando las cámaras de alta definición.

DISCUSIÓN

En este capítulo se abordan, desde una mirada descriptiva y comparativa, los parámetros reproductivos y cuidado parental de poblaciones urbanas y rurales de Lechucita Vizcachera.

Las Lechucitas urbanas comenzaron su periodo reproductivo más temprano que las rurales. Si bien en esta tesis no se relevó la temperatura media en ambos ambientes, la diferencia en el inicio del periodo reproductivo podría en parte estar asociada a que las áreas urbanas suelen presentar temperaturas mayores respecto al rural (Chamberlain et al. 2009, Møller 2012). En general, la temperatura del ambiente se encuentra relacionada con los ciclos endócrinos y gonadales anuales de los individuos, y se ha reportado previamente para otras especies de aves una prolongación en el periodo reproductivo y adelanto de fechas de puestas en poblaciones urbanas comparadas con las rurales (Partecke et al. 2004, Chamberlain et al. 2009, Deviche y Davies 2014). Otra posible explicación podría estar asociada a la oferta continua de alimento en ambientes urbanos proveniente de fuentes humanas, como basura, suplementos alimentarios, entre otras.

Se observaron diferencias en el éxito reproductivo entre Lechucitas urbanas y rurales, siendo mayor para Lechucitas de ambientes urbanos. La imposibilidad de detectar las causas de falla de nidos en ambientes urbanos, no permite contrastar con las fallas en ambientes rurales donde se pudo observar que gran parte se debe a efectos derivados de la actividad agrícola y a la depredación. El uso de agroquímicos es un factor conocido de mortalidad y que afecta a las poblaciones de aves silvestres (por ejemplo: Bechard 1981, Sarasola et al. 2007). En la Región Pampeana se ha reportado un aumento importante del uso de los organofosforados y esteroides cíclicos, los que incrementarían el riesgo de mortandad de las aves (Bernados y Zaccagnini 2011). El porcentaje de nidos depredados en el ambiente rural, si bien es relativamente bajo, estarían indicando una mayor presión de depredación por depredadores naturales. Ambas causas de falla no se registran en ambientes urbanos, y esta podría ser la

causa principal del éxito diferencial entre ambientes. Bellocq (1997) advirtió, basada en los bajos valores de éxito reproductivo que encontró en sus estudios sobre la especie, una potencial reducción de las poblaciones rurales. Por su parte, Martínez et al. (2017) en su estudio comparativo sobre poblaciones de ambientes urbanos, rurales y pastizales nativos no encontraron nidos exitosos en el ambiente rural. En general el éxito reproductivo reportado en esta tesis (60.44%) en ambos ambientes es menor al reportado en ambientes de pastizal en Norteamérica (92% Restani et al. 2001, 81.3% Berardelli et al. 2010). Sin embargo, los valores reportados en este capítulo para el ambiente urbano (70.1%) son parecidos a los reportados por Berardelli et al. (2010) para el mismo tipo de ambiente en Norteamérica (67.5%), pero mayores a los reportados por Conway et al. (2006) (41%) y Martínez et al. (2017) (57%). Asimismo, los valores reportados para ambientes rurales en esta tesis (42.6%) son menores a los reportados previamente por Conway et al. (2006) en Norteamérica (51%). De acuerdo a nuestras evidencias, las diferencias entre ambientes y regiones deben buscarse en efectos contingentes, aunque parece claro el patrón de que los ambientes rurales de la Región Pampeana presentan un relativo bajo éxito para la Lechucita.

En general, se ha postulado que las aves tienden a reducir su tamaño de puesta en ambientes urbanos (ver revisión de Chamberlain et al. 2009). Sin embargo, en el área de estudio se registró un tamaño de puesta promedio similar entre parejas urbanas y rurales. Se ha reportado que las variaciones en el tamaño de puesta dentro de una misma especie puede ser resultado de la disponibilidad proteica y energética presente en las presas siendo, por ejemplo, el consumo de roedores una de las principales causas de incremento de tamaño de puesta (Rosenberg y Haley 2004). Estudios previos en el área de estudio muestran que el consumo de roedores, principal fuente proteica, es similar para Lechucitas urbanas y rurales (Cavalli et al. 2014a). Por otra parte, los antecedentes sobre el tamaño de puesta de la Lechucita Vizcachera son muy variables en distintas áreas. Por ejemplo, se ha reportado para

poblaciones del oeste de Norteamérica tamaños de puesta hasta de 11 huevos, con promedios de 7 a 9.9 (Haug et al. 1993 y referencias allí citadas). En el presente estudio se registraron valores bastante inferiores, ya que el número máximo de puesta nunca superó los 7 huevos y el promedio fue de 3.22 ± 0.06 , parecido a lo previamente reportado por Belloq (1997) para ambientes rurales en la misma región (4.8 ± 1.2) y a los reportados para las poblaciones de Florida en EEUU (4, ver Millsap 1993). En este sentido, se ha sugerido que la latitud podría influenciar el tamaño de puesta medio de la especie (Conway et al. 2006).

Reportes previos evidencian que en un gradiente de urbanización el número de pichones por nido disminuye en función del incremento del nivel de urbanización (Millsap y Bear 2000). Sin embargo los datos de este capítulo demuestran que el número promedio de pichones por nido exitoso no varió entre sitios urbanos y rurales, y concordó con reportes previos para la especie (por ejemplo: Thomsen 1971, Restani et al. 2001, Rosemberg y Haley 2004, Berardelli et al. 2010, entre otros) aunque fue levemente menor que otros reportes. Por ejemplo, para Nuevo México, Martin (1973) reporta 4.9 pichones en campos de pastoreo, mientras Botelho y Arrowood (1998) reportan 3.6 pichones para el campus universitario del mismo distrito, Conway et al. (2006) por su parte encontraron valores de 3.1 y 3.2 pichones en áreas urbanas y rurales de Washington. Algunas características como la proporción de pastos cortos y de cobertura vegetal cerca del nido, la distancia a sitios de vegetación alta y a perchas serían factores importantes para explicar la productividad de la Lechucita (Martínez 2011). Las variables de vegetación se relacionarían con la crípsis del nido lo que permitiría el ocultamiento del mismo frente a depredadores, mientras que la cercanía a perchas podría estar asociada a sitios de vigilancia. Esto indicaría que las características a nivel del sitio de emplazamiento del nido serían determinantes del éxito reproductivo, independientemente del ambiente de nidificación a una escala más amplia (Baladrón et al. 2016.). Además, es interesante destacar que si bien la productividad fue similar para Lechucitas urbanas y rurales,

el mayor número de parejas reproduciendo en el ambiente urbano en relación al rural y el mayor éxito reproductivo registrado en el primero, podrían advertir que las Lechucitas estarían seleccionando al ambiente urbano por sobre el ambiente rural. Aunque Baladrón et al. (2016) sugieren que este patrón de menor detección de parejas de Lechucitas en sitios rurales podría asociarse a un patrón de ocupación más espaciado dada la gran superficie que ocupa este tipo de ambiente en el área de muestreo.

A nivel comportamental, se observó una clara diferenciación de roles durante el periodo reproductivo entre machos y hembras, el cual fue consistente para ambos ambientes. Durante la etapa de incubación, la hembra permaneció principalmente dentro de la cueva, protegiendo la puesta e incubando, mientras que el macho destinó la mayor parte de su tiempo a vigilar en la entrada de nido y a realizar la búsqueda de alimento que llevaría a la hembra. Esta diferenciación de roles concuerda con lo previamente reportado para la especie en el norte de su distribución (Thomsen 1971, Coloumbe 1971, Martin 1973). Durante la incubación, los machos rurales tendieron a pasar una mayor proporción del tiempo vigilando que los machos urbanos. Esto se verificó también en la cuantificación de eventos relacionados con el riesgo de depredación, ya que los machos rurales mostraron mayor frecuencia de control hacia los depredadores aéreos (es decir, mirar arriba) y de vocalizaciones de alerta durante la etapa de incubación. Esto demuestra que, contrario a nuestra predicción, las Lechucitas de ambientes rurales invirtieron mayor tiempo en el comportamiento de vigilancia. En este sentido, los resultados indicarían que si bien las lechuzas urbanas están expuestas a mayor cantidad de estímulos, la mayor parte de éstos no representarían amenazas reales o se encontrarían habituados a los mismos. En contraste, el riesgo de depredación sería mayor en ambientes rurales.

En la etapa de pichones, los machos raramente permanecieron en la entrada del nido sino que tendieron a vigilar desde perchas cercanas, por lo que usualmente no fueron

registrados por las cámaras. Durante esta etapa, la hembra permaneció gran parte del tiempo vigilando en la boca del nido, acondicionando el nido y buscando alimento para traspasar a los pichones. Se registraron pocos eventos de traspaso de alimento de machos a pichones o a hembras durante esta etapa, siendo su principal rol el de vigilancia. Este patrón de comportamiento fue similar entre individuos de sitios urbanos y rurales. En cuanto a los pichones, su patrón comportamental tampoco mostró diferencias entre ambientes, ya que permanecieron activos durante un porcentaje de tiempo similar, independientemente del sitio de nidificación. Esto indicaría que el riesgo de depredación percibido por los adultos (vigilancia y llamadas de alerta) no influiría sobre los patrones de actividad de los pichones. Esto podría sugerir que la percepción del riesgo de depredación es en gran medida determinada por la experiencia.

Finalmente, en este capítulo se demuestra que, si bien se ha sugerido que los ambientes urbanos representan un desafío para las especies que intentan radicarse en ellos, las Lechucitas Vizcacheras no tendría limitaciones para colonizar y reproducirse tanto en estos. Esto queda evidenciado por el mayor éxito reproductivo observado en ambientes urbanos y por la similitud en la productividad entre Lechucitas de ambientes urbanos y rurales.

CAPÍTULO 3

COMPORTAMIENTO DE DEFENSA DE LA LECHUCITA VIZCACHERA EN AMBIENTES URBANOS Y RURALES, UNA VISIÓN EXPERIMENTAL



INTRODUCCIÓN

La depredación del nido o madriguera representa una de las principales presiones de selección para los animales (Ricklefs 1969). Los individuos que se enfrentan a un enemigo cerca del nido suelen presentar diferentes estrategias que le permiten optimizar su protección y minimizar el riesgo de depredación (Caro 2005). Estas comprenden desde la selección del sitio dónde se sitúa el nido y el ocultamiento del mismo (Martin y Roper 1988, Montgomerie y Weatherhead 1988), hasta la defensa pasiva (a través de ajustes en el cuidado parental, Eggers et al. 2005, Lima 2009) y la defensa activa (Wallin 1987, Morrison et al. 2006). En particular, la defensa del nido involucra una decisión individual basada en el compromiso entre los beneficios obtenidos de defender la cría cuando se presume que hay un peligro y los costos en términos de pérdida de *fitness* si tales acciones no son llevadas adelante (Andersson et al. 1980).

En los ambientes urbanos los animales frecuentemente se encuentran expuestos a la presencia y acciones de los humanos. La actividad humana representa una fuente importante de disturbio para los animales y, en este sentido, se ha sugerido que puede alterar sus actividades causando importantes cambios en su comportamiento (Tuomainen y Candolin 2011, Sol et al. 2013). En efecto, las respuestas comportamentales suelen ser la forma más rápida y flexible de los animales de responder a los disturbios (Sol et al. 2013) y la habilidad de ajustar el comportamiento en respuesta a variaciones del contexto aumenta las probabilidades de supervivencia (Sih et al. 2010).

En ambientes urbanos, la presencia del hombre *per se* ha sido considerada una fuente importante de disturbio y amenaza para los animales (Marzluff et al. 2001, Lima 2009). Por ejemplo, en respuesta al avance de la urbanización, muchas especies tienden a alejarse de sitios donde la actividad humana es intensa (Fernández-Juricic et al. 2003), o cambian los horarios de actividad hacia aquellos donde se registre menor actividad humana (por ejemplo:

Tigas et al. 2002, Ditchkoff et al. 2006, Cardoni et al. 2008). En consecuencia, la presencia del hombre tendría importantes efectos en la abundancia y distribución de los animales si la misma es percibida como una amenaza, ya que los individuos temerosos tenderían a alejarse de sitios dónde la tasa de encuentro con el humano es elevada (Sih et al. 2010, Blumstein 2014). Por otro lado, los ambientes urbanos serían ventajosos y atraerían a aquellos individuos capaces de soportar niveles elevados de presencia humana (Shanahan et al. 2014).

Uno de los parámetros frecuentemente reportado para explicar la respuesta de los animales frente al disturbio humano es la distancia de iniciación de vuelo (de aquí en adelante FIDs por sus siglas en ingles: *Flight initiation distances*, Blumstein 2006). Se define como FID a la distancia a la cual un animal escapa debido a la presencia de un estímulo que se aproxima. Esta medición brinda una estimación estandarizada del riesgo que un individuo está dispuesto a tomar cuando se enfrenta a un depredador o amenaza (Blumstein 2006). Esta información es importante para evaluar la respuesta de los animales frente a las condiciones cambiantes de los ambientes, como aquellas emergentes en los ambientes urbanos (Blumstein 2006, Møller 2008a). Las FIDs han sido reportadas para una gran cantidad de animales, principalmente aves y mamíferos (por ejemplo: Møller 2008b, Blumstein 2014) y, en general, valores más bajos de FID se encuentran asociados a sitios con mayor disturbio humano (por ejemplo: áreas con mayor frecuencia de circulación de peatones como parques, sendas en áreas protegidas, zonas urbanas). Esto indica que la presencia del hombre no es siempre percibida por los animales como una amenaza. El mecanismo que subyace a este patrón, sería que los animales reconocen, aprenden y podrían diferenciar aquellos estímulos que no representan una verdadera amenaza de aquellos que sí la representan y, consecuentemente, reducen el costo energético asociado a una respuesta innecesaria, lo que les permite entonces adaptarse a esa nueva condición (Blumstein 2016).

Considerando que los estudios del comportamiento de defensa frente a estímulos de origen humano son claves para entender de qué manera se distribuyen las poblaciones de acuerdo a su tolerancia a los mismos, en este capítulo se propone estudiar de manera experimental la respuesta de la Lechucita Vizcachera frente a estímulos asociados al ambiente urbano considerando distintos contextos de disturbio. Para ello se utilizaron FIDs y otras medidas de comportamiento como indicadoras de tolerancia a los disturbios asociados con la actividad humana. Se aborda la respuesta comportamental de la Lechucita Vizcachera frente a estímulos asociados al ambiente urbano enfocándonos en tres ejes principales, cada uno de ellos enmarcados dentro de una sección de este capítulo. El primero consiste en estudiar como varía la respuesta de defensa de la Lechucita Vizcachera frente al estímulo de una persona aproximándose en diferentes etapas del ciclo reproductivo, comparando entre ambientes urbanos y rurales (Sección 1), el segundo consiste en analizar de manera experimental la respuesta de defensa de la Lechucita Vizcachera frente a disturbios frecuentes asociados a ambientes urbanos: humanos y animales domésticos (Sección 2) y por último, determinar la respuesta comportamental frente a un estímulo repetido en dos contextos temporales diferentes para comprender el mecanismo que actúa modulando la respuesta comportamental de la Lechucita Vizcachera frente a un estímulo asociado principalmente con el ambiente urbano (Sección 3).

ÁREA DE ESTUDIO

Este trabajo fue llevado a cabo en sitios urbanos y rurales del sudeste de la Provincia de Buenos Aires. Específicamente los sitios urbanos fueron las localidades de Mar Chiquita, Mar de Cobo, Camet Norte, Santa Clara del Mar y Mar del Plata. Los sitios rurales fueron: Ea. Los Alemanes (37° 53.35S, 57° 37.84O), Ea. San José (37° 48.58S, 57° 34.98O), Ea. Aguas Brillantes (37° 36.18S, 57° 24.19O) y caminos rurales comprendidos entre estas.

SECCIÓN 1. VARIACIÓN DE LA DEFENSA DEL NIDO DE LECHUCITAS VIZCACHERAS EN AMBIENTES RURALES Y URBANOS DURANTE EL PERIODO REPRODUCTIVO

Los estudios sobre comportamiento de defensa de la Lechucita Vizcachera durante diferentes etapas del periodo reproductivo han sido abarcados desde aproximaciones descriptivas y experimentales. La mayor parte de la bibliografía disponible comprende trabajos descriptivos basados en la observación directa de un número reducido de parejas reproductivas, donde se describe las formas de defender el nido que emplean las Lechucitas desde vocalizaciones hasta ataques directos (Coulombe 1971, Thomsen 1971, Martin 1973). Por otro lado, Fisher et al. (2004) abordan desde una mirada más experimental el efecto de variables extrínsecas (por ejemplo: velocidad del viento, temperatura) e intrínsecas (estadio reproductivo) sobre el comportamiento de defensa de las Lechucitas Vizcacheras. En dicho estudio observan que la Lechucita invierte más energía en defender su nido cuando los pichones se vuelven más grandes. Por otro lado, si bien se han estudiado distintos aspectos sobre la manera en que esta especie responde al avance de la urbanización, por ejemplo relacionados con su alimentación (Cavalli et al. 2014a), demografía (Conway et al. 2006), estrategia de reproducción (Rodríguez- Martínez et al 2014), éxito reproductivo (Berardelli et al. 2010, Capítulo 2 de esta tesis), selección de hábitat (Baladrón et al. 2016, Martínez et al. 2017), respuesta comportamental (Carrete y Tella 2011, 2013), entre otros, la forma en que esta especie ajusta su comportamiento de defensa del nido a lo largo del periodo reproductivo en respuesta a estímulos asociados a la urbanización queda aún sin ser abordada. Esta información sería valiosa dado que en dichos ambientes, si la presencia del hombre es reconocida como una amenaza, la misma podría causar un continuo estado de alerta de los individuos que conduciría a una reducción de la inversión del tiempo en otras actividades (por ejemplo: descanso, forrajeo) (Frid y Dill 2002). En este sentido, sería esperable que las Lechucitas que sean capaces de colonizar el ambiente urbano exhibieran un balance entre

habitación a la presencia humana y estado de alerta, ya que un exceso del primer comportamiento implicaría un aumento en la vulnerabilidad de la nidada frente a depredadores reales (Knight et al. 1989, Evans et al. 2010)

En base a lo expuesto se planteó el siguiente objetivo: comparar la variación en el comportamiento de defensa del nido de Lechucitas Vizcacheras que habitan ambientes urbanos y rurales a lo largo de su periodo reproductivo frente al acercamiento de una persona. La percepción del riesgo y la defensa del nido tiene implicancias en el éxito reproductivo (Lima 2009) y, considerando los tipos y densidades de depredadores asociados a cada ambiente (Sih et al. 2010, Møller e Ibáñez-Álamo 2012), se plantea la hipótesis de que el comportamiento de defensa de nido de la Lechucita Vizcachera (medido en términos de FIDs, agresividad y latencia de regreso al nido) varía de acuerdo al ambiente y la etapa del período reproductivo en el que se encuentre. Las predicciones planteadas son: (1) las Lechucitas Vizcacheras de ambientes urbanos presentarán FIDs más cortas y mayores niveles de agresión en la defensa del nido comparado con Lechucitas rurales. Dado que la defensa del nido aumenta la probabilidad de que los pichones sobrevivan (Andersson et al. 1980), (2) se espera observar niveles de agresión más altos y FIDs menores a medida que las Lechucitas avanzan en el período reproductivo.

METODOLOGÍA

Diseño de muestreo y toma de datos

El muestreo se llevó a cabo durante el periodo reproductivo (mediados de octubre a fines de enero) de 2012 y 2014. Se localizaron nidos de Lechucita Vizcachera mediante recorridas de las áreas a pie y en vehículo en ambientes urbanos y rurales, detectando visualmente a los individuos adultos en sus cuevas.

Se monitorearon 58 nidos (21 en ambientes rurales y 37 en urbanos) durante el período reproductivo de 2012 y 47 nidos (17 en ambiente rural y 30 en urbano) durante el periodo 2014. Cada nido ocupado fue visitado con frecuencia semanal. Los nidos fueron considerados activos si se observó en el mismo una lechuza o restos de su actividad en la entrada de la cueva (por ejemplo: excremento, egagrópilas, bosta). Se utilizó una cámara endoscópica infrarroja (LYD Color Night Vision Infrared Waterproof Camera, modelo 802c) conectada a una computadora para observar el contenido del nido y determinar la etapa del ciclo reproductivo. Esta metodología es inocua y tiene una efectividad demostrada en esta especie (García y Conway 2009). En base a la información obtenida de las cámaras se dividió el ciclo reproductivo en tres etapas. La primera etapa comprendió la incubación (Incubación), la cual se extendió desde la primera vez que se observaron huevos dentro del nido hasta su eclosión. La siguiente etapa (P1) abarcó desde la eclosión hasta que los pichones emergieron del nido. La última etapa (P2) se extendió desde el momento en el cual los pichones fueron observados fuera del nido (aprox. 10 días de edad) hasta que comenzaron a volar (volantones).

Se cuantificó la defensa del nido de la Lechucita en cada una de las etapas mencionadas. Para esto se realizaron ensayos que consistieron en el acercamiento de una persona caminando (transeúnte) en línea recta hacia el macho de la pareja, cuando éste se encontraba perchedo fuera del nido en cercanías de la cueva. Solo se realizaron ensayos sobre los machos para evitar sesgos debido a diferencia entre sexos y para evitar la pérdida de datos durante Incubación, ya que las hembras raramente son observadas fuera del nido en dicha etapa. Previo al periodo reproductivo, tanto los individuos machos como las hembras fueron capturados usando trampas bal-chatri y carpetas de lazos colocadas en la entrada de los nidos (Bub 1991, Bloom et al. 2007), posteriormente fueron anillados con anillos plásticos numerados para facilitar su identificación. Las capturas se realizaron el año anterior a los experimentos de comportamiento. En los nidos en los que la captura no fue posible, los

machos fueron distinguidos de las hembras por su plumaje (Baladrón et al. 2015). Todos los ensayos comenzaron aproximadamente a una distancia de 200 m del nido para evitar variabilidad en la respuesta de las lechuzas asociada a distancias de partida diferentes (Rodríguez- Prieto et al. 2009) y todos los ensayos fueron realizados durante la mañana (7:00-11:45 hs) con el fin de reducir el sesgo relacionado a muestrear en diferentes momentos del día. No se realizaron ensayos en condiciones meteorológicas adversas, como lluvias, niebla o viento fuerte (Andersen 1990, Sproat y Ritchison 1993).

Durante cada ensayo se evaluó la defensa del nido de las Lechucitas por medio de los siguientes indicadores: FID, distancia de escape, tiempo de retorno al nido, y agresividad de la defensa. Para medir FIDs se contaron los pasos entre el transeúnte y la lechuza en el momento en que ésta levantó vuelo. Para corroborar la certeza de esta medición, el transeúnte marcó su posición exacta en el momento en que la lechuza levantó vuelo arrojando un objeto de color en el suelo. Una vez terminado el ensayo se midió la distancia entre dicho objeto y la posición de la lechuza al volar utilizando una cinta métrica. Asimismo, se midió la distancia entre la posición inicial de la lechuza y la posición en la que aterrizó luego del escape (distancia de escape). Una vez terminado el ensayo, el transeúnte permaneció oculto detrás de vegetación alta, en construcciones o bien se arrojó al suelo cubriéndose con una red de camuflaje para registrar si la lechuza regresaba al nido luego del ensayo. Se consideró un tiempo de espera máximo de 10 minutos para establecer si la lechuza regresaba o no al nido. La agresividad de defensa fue registrada mediante un grabador digital de voz utilizado por el transeúnte en su aproximación al nido. Se clasificó el nivel de agresividad en cinco categorías (adaptado de Galleotti et al. 2000 y Fisher et al. 2004); 0: la lechuza se aleja volando o entra al nido, 1: la lechuza cabecea y/o vocaliza, 2: la lechuza eriza las plumas y abre las alas para parecer más grande, 3: la lechuza hace vuelos de amenaza, y 4: la lechuza ataca. Se tomó en cuenta solamente la respuesta más agresiva dentro de cada ensayo para los análisis posteriores.

Análisis estadísticos

En primer lugar se realizaron análisis preliminares para determinar la relación entre los años de muestreo. Dado que las variables no difirieron significativamente entre años (prueba por rangos de Wilcoxon, $P > 0.05$ en todos los casos), se utilizaron los datos de 2012 y 2014 en forma conjunta en los análisis posteriores. Asimismo, se realizó la prueba por rangos de Spearman para explorar la correlación entre las variables. En base a esto, se excluyó la distancia de escape de los análisis ya que esta variable presentaba una correlación significativa con FID ($r_s = 0.68$; $P < 0.05$).

Comportamiento de defensa

Se evaluó el efecto del tipo de hábitat (variable explicativa categórica con dos niveles: urbano y rural), la etapa del ciclo (variable explicativa categórica con tres niveles: Incubación, P1 y P2) y la interacción entre estos factores sobre FID, sobre la probabilidad de retorno al nido dentro de los 10 minutos, y sobre la agresividad. Para evaluarla variación de la variable FID se utilizaron modelos lineales generalizados mixtos (GLMM; función lme) con una distribución de errores gaussiana y función de enlace identidad (paquete nlme, Pinheiro y Bates 2000). Para evaluar la variación de la variable retorno al nido (variable respuesta bimodal) se ajustó un modelo de efectos mixtos usando la función lmer en el paquete lme4 con una distribución de errores binomial (Bates et al. 2013). Para evaluar la variación de la variable agresividad (variable respuesta ordinal) se ajustó un modelo de efectos mixtos acumulativo (función clmm), con una función de vínculo probit (paquete ordinal) y parámetros equidistantes. Los modelos de efectos mixtos acumulativos son utilizados para variables respuesta de tipo ordinal y son ajustados con la aproximación de Laplace (Christensen 2012).

En todos los casos la identidad del individuo fue incluida como término aleatorio ($\sim 1 | \text{identidad del individuo}$) y se evaluó el ajuste de los modelos mediante la inspección

gráfica. Todos los análisis estadísticos fueron realizados utilizando el programa R, version 3.0.1 (R Development Core Team 2015). Los valores son reportados como promedios \pm error estándar, excepto que se indique otra cosa. Se consideró que las diferencias fueron significativas cuando $P < 0.05$.

RESULTADOS

El abandono de nido y la depredación fueron altos (55,3% en rural y 18% en urbano). Por esta razón el número de muestras se redujo a 17 individuos en ambientes rurales y 55 en urbanos. Para evitar los sesgos en los datos que podrían resultar de trabajar solamente con nidos exitosos, se compararon los valores de FID entre nidos exitosos y no exitosos en la etapa de incubación. Los valores de FID no difirieron entre nidos exitosos y no exitosos tanto en ambientes rurales ($t_{36} = 1.62$, $P = 0.11$) como en urbanos ($t_{63}=0.45$, $P = 0.65$). Este resultado indica que existe certeza sobre la representatividad de los datos provenientes del subgrupo de lechuzas de nidos exitosos estudiado, al menos respecto a las variables comportamentales que se midieron.

Las Lechucitas de ambientes rurales tuvieron mayores valores de FID que las de ambientes urbanos en todas las etapas del ciclo reproductivo (Tabla 1.1, Fig. 1.1). Se evidenció un efecto de la etapa del ciclo para las Lechucitas de ambientes urbanos, las cuales mostraron menores valores de FID en P2 en comparación a las etapas Incubación y P1. Los valores de FID de las Lechucitas de ambientes rurales no variaron a lo largo del ciclo reproductivo (Fig. 1.1, Tabla 1.1).

Las Lechucitas de ambientes rurales fueron menos proclives a retornar al nido dentro de los 10 minutos de espera luego del ensayo en comparación a los de ambientes urbanos (Tabla 1.1). El porcentaje de Lechucitas que regresaron al nido después de los ensayos fue de 86.1% y 36% para ambientes urbanos y rurales respectivamente. No se registró efecto de la

etapa del ciclo reproductivo sobre el retorno al nido (ver Tabla 1.1). La agresividad en la defensa del nido fue similar para individuos de ambientes urbanos y rurales, y se incrementó a lo largo del las etapas del ciclo reproductivo en ambos tipos de ambientes (Fig.1.2, Tabla 1.1).

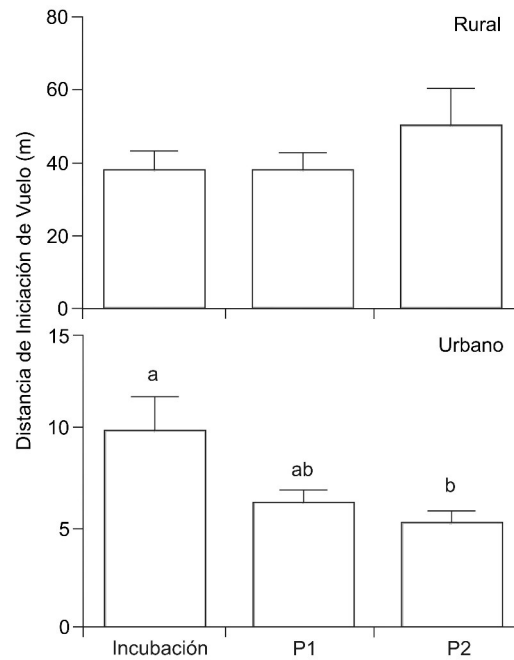


Figura 1.1. Distancia de Iniciación de vuelo (FIDs) de Lechucita Vizcachera comparado a lo largo del periodo reproductivo en ambientes urbanos y rurales. Se grafican valores promedio \pm errores estándares. Letras diferentes indican diferencias entre distintas etapas del periodo reproductivo (Incubación, P1 y P2) en cada ambiente (luego de analizar con modelos lineales generalizados mixtos, lme).

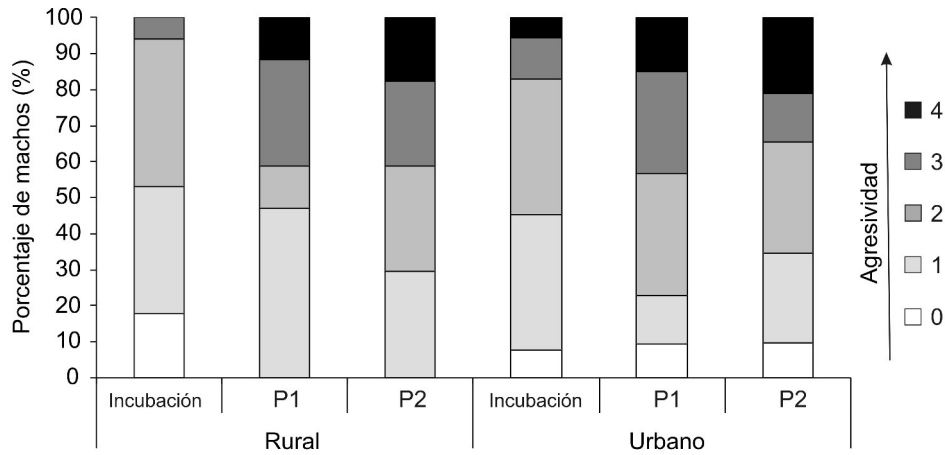


Figura 1.2. Porcentaje de individuos de Lechucitas Vizcacheras en ambientes urbanos y rurales que mostraron distintos niveles de agresión a lo largo del período reproductivo (0: se vuela o ingresa al nido, 1: pivotea y/o vocaliza, 2: extiende sus alas y parece más grande, 3: vuelo de halconeo, 4: realiza ataques directos).

Tabla 1.1. Resultados estadísticos mostrando el contraste de los factores fijos utilizando modelos generalizados lineales mixtos (GLMM, LME) y modelos acumulativos mixtos (CLMM) para poner a prueba la interacción entre el tipo de ambiente y la etapa dentro del período reproductivo en la respuesta comportamental de Lechucitas Vizcacheras: distancia de iniciación de vuelo (FID), retorno al nido y agresión del comportamiento de defensa. En cada modelo, se incluyó la identidad del individuo como variable aleatoria. El texto en negrita denota diferencias significativas.

	FID			Regreso al nido			Agresividad		
	β	t	P	β	z	p	β	z	p
General									
<i>Ambiente (Urbano vs. Rural)</i>									
	-1.79	-6.29	<0.001	2.77	3.71	<0.001	0.48	1.40	0.16
<i>Etapa</i>									
Incubación vs. P1	0.08	0.28	0.78	-0.41	-0.56	0.57	0.76	2.07	0.04
Incubación vs. P2	-0.13	-0.47	0.64	-0.71	-0.95	0.34	0.99	2.66	0.01
P1 vs. P2	-0.05	-0.19	0.84	0.29	0.39	0.69	-0.22	-0.63	0.52
Dentro de cada ambiente									
<i>Ambiente Rural</i>									
Incubación vs. P1	0.08	0.28	0.78	-0.41	-0.56	0.57	0.76	2.07	0.03
Incubación vs. P2	-0.05	-0.19	0.85	-0.71	-0.95	0.34	0.99	2.66	0.01
P1 vs. P2	0.13	0.47	0.64	0.29	0.39	0.69	-0.22	-0.63	0.52
<i>Ambiente Urbano</i>									
Incubación vs. P1	-0.26	-1.58	0.12	-0.19	-0.27	0.78	0.57	2.80	<0.01
Incubación vs. P2	-0.38	-2.33	0.02	-0.5	-0.82	0.41	0.49	2.39	0.01
P1 vs. P2	0.12	0.74	0.46	0.35	0.56	0.57	0.08	0.43	0.67

DISCUSIÓN

En esta sección, se muestra que las Lechucitas Vizcacheras difieren en algunos aspectos de su comportamiento de defensa del nido entre ambientes urbanos y rurales y entre diferentes etapas de su ciclo reproductivo.

Se encontró que, en general, las Lechucitas mostraron FIDs más cortas en ambientes urbanos que en rurales. Los nidos urbanos son habitualmente disturbados por la presencia de personas y escapar volando cada vez que se aproxima una persona sería demasiado costoso energéticamente, considerando que la mayor parte de los transeúntes no representan una amenaza real. Las respuestas a los estímulos de amenaza tales como humanos y depredadores pueden ser resultado de la experiencia adquirida durante etapas tempranas de la vida (Brown et al. 2015). Por ejemplo, la habituación, una forma de aprendizaje caracterizada por un decrecimiento progresivo en la sensibilidad de respuesta a un evento reiterado que luego de repetidos encuentros ha sido comprobado como irrelevante (ver Rankin et al. 2009), ha sido postulado como un factor importante para explicar las diferencias en FID entre áreas con diferente nivel de disturbio (Rodríguez-Prieto et al. 2009). Sin embargo, estudios recientes demuestran que las FIDs permanecen constantes a lo largo de la vida adulta de las Lechucitas, sugiriendo además que existe un componente hereditario (Carrete y Tella 2013, Carrete et al. 2016). Esto podría indicar que las FID cortas que se observaron en las poblaciones de lechuzas en ambientes urbanos podrían ser no solamente el resultado de procesos de aprendizaje acerca de la distancia a la cual un transeúnte podría aproximarse antes de representar una amenaza, sino también de un proceso de selección, con ciertos fenotipos siendo exitosos en este tipo de ambientes en particular. Se ha sugerido que otros rasgos de la Lechucita Vizcachera también podrían explicar el hecho de que esta especie se establezca en ambientes urbanos, por ejemplo la dieta generalista y conducta de caza oportunista (Cavalli et al. 2014a), la tolerancia a la presencia humana (Carrete y Tella 2010, 2011), la estrategia

reproductiva monógama que es mantenida a pesar del incremento en la densidad de individuos de la misma especie en ambientes urbanos (Rodríguez-Martínez et al. 2014), los niveles de hormonas de estrés similares en ambientes urbanos y rurales (Rebolo-Ifrán et al. 2015), y la baja dependencia de un tipo particular de hábitat (Poulin et al. 2005).

Se encontró también que las Lechucitas de ambientes urbanos regresaron más rápido al nido que las de ambientes rurales luego de la aproximación de una persona, lo cual coincide con lo encontrado durante el periodo pre-reproductivo (ver Sección 2). En este sentido, la decisión de retornar o no inmediatamente después de una amenaza potencial podría estar asociado con el tiempo que tarda un estímulo en dejar de ser percibido como peligroso, como también el tiempo necesario para desactivar la respuesta de estrés asociada con el estímulo y el retorno al comportamiento normal (por ejemplo: Neufeld-Cohen et al. 2010). Por otro lado, el comportamiento de retorno al nido no estuvo influenciado por la etapa del ciclo reproductivo, lo cual sugiere que los factores que subyacen a estas respuestas comportamentales son consistentes a lo largo del tiempo.

Dado que los animales que habitan en ambientes urbanos son con frecuencia notablemente más audaces o más dóciles en presencia de humanos (Evans *et al.* 2010), se predijo que las lechuzas de ambientes urbanos serían más agresivas que las de ambientes rurales. Sin embargo, nuestros resultados no dieron soporte esta predicción. Al igual que durante el periodo pre-reproductivo (Sección 2), las lechuzas urbanas mostraron niveles de agresividad similares frente a humanos que las lechuzas rurales. Sin embargo, también se observó un incremento en la agresividad a lo largo del periodo reproductivo, lo cual estaría relacionado con un incremento en los beneficios para el *fitness* del cuidado parental a medida que los pichones crecen (Montgomerie y Weatherhead 1988). Una relación parecida fue reportada previamente para esta especie en pastizales y campos de cultivo del hemisferio norte (Fisher et al. 2004). Este razonamiento también se podría aplicar para explicar los

cambios en la FID luego de la eclosión en ambientes urbanos. Las Lechucitas rurales, sin embargo, mostraron un patrón diferente, ya que no evidenciaron cambios en la FID en todo el periodo reproductivo. Estos resultados sugieren que las lechuzas urbanas y rurales podrían estar adoptando diferentes estrategias cuando se enfrentan a estímulos tipo-depredadores (humanos) a lo largo del periodo reproductivo. En ambientes urbanos, las Lechuzas permanecen más tiempo en su nido permitiendo a los humanos acercarse más y se vuelven más agresivas a medida que progresa el período reproductivo. En contraste, en ambientes rurales, las lechuzas no varían su FID durante el periodo reproductivo, pero aumentan su nivel de agresión a medida que avanzan en dicho periodo.

Es importante destacar que en este estudio la tasa de depredación o abandono de nidos en ambientes rurales (55,3%) fue marcadamente mayor que en ambientes urbanos (18%). Las áreas urbanas representan un desafío para los animales dispuestos a vivir allí, aunque estos ambientes también ofrecen mayor protección contra depredadores naturales, destrucción de nidos y fumigación. Estos factores son característicos de áreas rurales y podrían explicar la alta tasa de pérdida de nidos registrada en ese ambiente, una condición que parece ser consistente a lo largo de los años en el área de estudio (Martínez et al. en prensa, ver Capítulo 2). Consecuentemente, la persistencia de las lechuzas en ambientes rurales podría no solo ser el resultado de estrategias antidepredatorias, sino también de la supervivencia a los factores mencionados anteriormente, los cuales serían azarosos y menos comunes que en ambientes urbanos.

En síntesis, encontramos que el comportamiento de defensa del nido varió a lo largo del periodo reproductivo en ambientes urbanos. Esto demostraría que rasgos que han sido asociados a la personalidad de un animal (por ejemplo: FID o nivel de agresividad) pueden no ser consistentes en el tiempo y podrían modificarse adaptativamente en respuesta a las demandas reproductivas. Esto también indicaría que las estrategias comportamentales de las

lechuzas urbanas permitirían cierto nivel de plasticidad en el contexto del comportamiento reproductivo, el cual sería mayor que el observado para lechuzas rurales. Así, los resultados obtenidos brindan una nueva visión acerca del rol del comportamiento de las Lechucitas Vizcacheras para explicar la habilidad de esta especie para vivir en una variedad de condiciones ambientales y destaca la importancia de considerar la etapa del ciclo reproductivo al momento de evaluar los rasgos comportamentales que permiten a las lechuzas habitar y tener éxito en ambientes urbanos.

SECCIÓN 2. PERCEPCIÓN DIFERENCIAL DEL RIESGO DE LA LECHUCITA VIZCACHERA EXPUESTAS A LA APROXIMACIÓN DE HUMANOS Y PERROS EN AMBIENTES URBANOS Y RURALES

En conjunto con el aumento de la densidad humana, los ambientes urbanos muestran una variación considerable en los ensambles de depredadores en comparación con los ambientes rurales y nativos (Møller e Ibáñez-Álamo 2012). Mientras que los ambientes urbanos contienen una alta densidad de animales domésticos que se alimentan de la fauna silvestre [por ejemplo, gatos (*Felis catus*) y perros (*Canis lupus familiaris*); Møller e Ibáñez-Álamo 2012, Randler 2006, Mikula 2014], los ambientes rurales tienen una mayor diversidad de depredadores nativos como mamíferos carnívoros y aves rapaces (Shanahan et al. 2014). Los cambios en los ensambles de depredadores entre los ambientes rurales y urbanos podría tener consecuencias importantes para el desarrollo de conductas anti-depredatorias (Møller e Ibáñez-Álamo 2012, Mikula 2014). En este sentido, los animales deberían ser capaces de reconocer si nuevos depredadores asociados al ambiente urbano representan amenazas reales y sólo exhibir comportamientos anti depredatorios cuando sea necesario de modo de evitar invertir energía en comportamientos de defensa cuando no es necesario (Lima y Dill 1990).

En general, las aves responden ante la presencia de un depredador escapando del mismo, (Møller e Ibáñez-Álamo 2012, Blumstein 2014), y dicho comportamiento provee información sobre la percepción del riesgo que tienen las especies cuando se enfrentan a una amenaza. Los humanos y animales domésticos como los perros pueden ser percibidos por las aves como una amenaza, sin embargo varios autores han argumentado que el humano representaría una amenaza potencial ya que en la mayor parte de los casos su presencia no concluye en depredación, captura o disturbio real (Ditchkoff et al. 2006, Steven et al. 2011), mientras que los perros si representarían una amenaza real causando efectos negativos sobre las aves (Mainini et al. 1993, Banks y Bryant 2007). Vivir en ambientes urbanos puede convertirse energéticamente muy costoso para los animales si estos responden ante cada una de estas amenazas que se aproxima, por lo tanto, sólo aquellos individuos que tengan una sensibilidad reducida o puedan discernir cuando una amenaza es real logran establecerse en estos ambientes (Kenney y Knight 1992).

La respuesta comportamental de la Lechucita Vizcachera frente al estímulo de un depredador puede ser fácilmente medida a través de la evaluación de una serie de comportamientos (ver Sección 1). El análisis del comportamiento de defensa de la Lechucita Vizcachera en ambientes urbanos y rurales en respuesta a depredadores brindaría información valiosa para entender las estrategias de esta especie que le permiten habitar ambientes urbanos. En este sentido, el objetivo de esta sección fue comparar la variación en el comportamiento de defensa del nido de la Lechucita Vizcachera que habitan ambientes urbanos y rurales frente a potenciales depredadores asociados al ambiente urbano. Se plantea entonces la hipótesis de que la capacidad de la Lechucita Vizcachera de vivir en ambientes urbanos es explicada por su capacidad de discriminar entre distintos tipos de amenazas. Para poner a prueba esta hipótesis diseñamos un muestreo para evaluar el efecto del tipo de depredador (humano y perro) en la percepción de riesgo (estimada por su comportamiento de

defensa) de Lechucitas Vizcacheras de ambientes urbanos y rurales. Predecimos que (1) las Lechucitas son capaces de diferenciar entre estas dos amenazas. Además, dado que las Lechucitas de ambientes urbanos están expuestos a una tasa de encuentro más alta a estas amenazas, predecimos que (2) las Lechucitas de ambientes urbanos mostrarán comportamientos de defensa menores (es decir, FID más cortas, menos agresividad) que las Lechucitas de ambientes rurales.

METODOLOGÍA

Diseño de muestreo y toma de datos

El muestreo se llevó a cabo desde septiembre hasta mediados de octubre de 2012 y 2014, lo que corresponde al periodo pre-reproductivo.

Se monitorearon 17 nidos en 2012 (8 en ambientes rurales y 9 en urbanos) y 19 nidos en 2014 (6 en ambientes rurales y 13 en urbanos). Los nidos estudiados fueron distintos a los estudiados en la Sección 1. Se consideró un nido como ocupado si se observó en el mismo una lechuza o restos de su actividad (por ejemplo: excremento, egagrópilas, bosta, etc.).

Al igual que en la Sección 1, se midieron diferentes indicadores comportamentales de la defensa del nido: FID (distancia de iniciación de vuelo), distancia de escape (la distancia a la cual la lechuza se posa luego de levantar vuelo), retorno al nido (si la lechuza regresa o no luego del ensayo) y la agresividad de la defensa (ver metodología, Sección1 para mayor detalle).

Para cada individuo se realizaron dos tratamientos: 1- transeúnte con perro (TP), que consistió en una persona caminando con un perro (con correa) en línea recta y a una velocidad de 5 km/h hacia el nido, y 2- transeúnte (T), en el cual una persona sola caminó hacia el nido en línea recta y a una velocidad de 5 km/h. Ambos tratamientos fueron realizados por la misma persona y el mismo perro (macho mediano de pelaje marrón). Ambos tratamientos

para el mismo nido fueron separados por 5 días para evitar cualquier posible habituación con la persona. El orden de los tratamientos fue determinado al azar.

Para controlar el efecto del número de depredadores que se aproximaban al nido (transeúnte solo o transeúnte con perro), se realizó un tercer experimento control que consistió en dos tratamientos: 1- un transeúnte caminado solo hacia el nido, 2- dos transeúntes caminado hacia el nido. En ambos tratamientos se registraron FIDs, distancia de escape, retorno al nido, y agresividad de la defensa al igual que en los ensayos precedentes. El mismo grupo de lechuzas fue utilizado para ambos tratamientos control. Los ensayos control se realizaron sobre un grupo de individuos diferente de los utilizados durante los ensayos de los tratamientos TP y T.

Análisis estadísticos

En primer lugar se realizaron análisis preliminares para determinar la relación entre los años de muestreo y variables de comportamientos. Dado que las variables no difirieron significativamente entre años (prueba por rangos de Wilcoxon, $P > 0.05$ en todos los casos), se utilizaron los datos de 2012 y 2014 en forma conjunta en los análisis posteriores. La variable distancia de escape fue excluida de los análisis ya que ésta presentaba una correlación significativa con la variable FID (prueba por rangos de Spearman: $r_s = 0.67$, $P < 0.05$). En consecuencia, el set de datos incluyó las variables FID (continua, en metros), retorno al nido (bimodal: retorna o no retorna dentro de los 10 minutos de espera), agresividad de la defensa (categórica, ordinal), tratamiento (categórica, T o TP) y tipo de hábitat (categórica, urbano o rural).

Se utilizaron modelos lineales de efectos mixtos (función lme) para poner a prueba el efecto del hábitat y el tratamiento (variables explicatorias) o ambos (contrastos) sobre FID (variables respuesta, transformada aplicando logaritmo en base diez) (Crawley 2007, Zuur et

al. 2009) con una distribución de errores gaussiana y función de enlace identidad (paquete nlme, Pinheiro y Bates 2000), especificando un modelo con intercepto aleatorio (Zuur et al. 2009).

Para evaluar si el retorno al nido (variables respuesta bimodal) depende del tipo de hábitat y el tratamiento (variables explicatorias categóricas con dos niveles) o ambos (contrastes), adaptamos un modelo de efectos mixtos usando la función lmer en el paquete lme4 con una distribución de errores binomial e incluyendo la identidad del individuo como término aleatorio (Bates et al. 2013).

Para poner a prueba el efecto del hábitat y el tratamiento (variables explicatorias) o ambos (contrastes) sobre la agresividad de defensa de las Lechucitas Vizcacheras (variable respuesta ordinal) se modeló ajustando las variables a modelos mixtos acumulativos (función clmm, paquete ordinal) y parámetros equidistantes. Los modelos de efectos mixtos acumulativos son utilizados para variables respuesta de tipo ordinal y son ajustados con la aproximación de Laplace (Christensen 2012).

Para el grupo control se realizó un conjunto de análisis similares, incluyendo FIDs, retorno al nido y agresividad como variables respuesta para cada modelo y tratamiento (un transeúnte o dos transeúntes) como variable explicatoria.

En todos los casos la identidad del individuo fue incluida como término aleatorio ($\sim 1 | \text{identidad del individuo}$) y se evaluó el ajuste de los modelos mediante la inspección gráfica. Todos los análisis estadísticos fueron realizados utilizando el programa R, version 3.0.1 (R Development Core Team 2015).

RESULTADOS

No se encontró un efecto del número de transeúntes (una o dos) aproximándose a los individuos sobre el FID ($\beta = 0.21$, $t_{19} = 1.41$, $P = 0.17$), el retorno al nido ($\beta = 0.03$, $Z_{11} =$

0.003, $P = 0.99$) y la agresividad ($\beta = -0.12$, $Z_{11} = -0.25$, $P = 0.79$). Consecuentemente, usamos los datos del tratamiento de una persona para realizar los análisis restantes.

En total, se realizaron ensayos T y TP en 36 nidos (14 rurales y 22 urbanos). Los modelos para explicar la variabilidad en FID mostraron un efecto del ambiente y el tratamiento (Tabla 2.1). Por un lado, la respuesta de las Lechucitas al tratamiento (T y TP) difirió entre ambientes. Las Lechucitas de ambientes rurales exhibieron mayores valores de FID en comparación con las urbanas para ambos tratamientos (Tabla 1, Fig. 1). Por otro lado, la respuesta a los tratamientos fue diferente dentro de cada tipo de ambiente (Tabla 1). Las Lechucitas urbanas mostraron mayores valores de FID en respuesta al tratamiento TP en comparación con el tratamiento T, pero no se registraron diferencias entre tratamientos para Lechucitas rurales (Fig. 2.1).

Las Lechucitas de ambientes urbanos retornaron más frecuentemente al nido comparados con las de ambientes rurales (Tabla 2.1). En total, en ambientes urbanos el 79.5% de las Lechucitas urbanas retornaron a sus nidos después de los ensayos, mientras que el porcentaje de retorno al nido fue de 39.2% para individuos rurales. No se encontró un efecto del tratamiento dentro de cada tipo de ambiente (Tabla 2.1). Durante el tratamiento T, las Lechucitas urbanas tendieron a retornar más frecuentemente a sus nidos que las rurales (90.91% vs. 28.57% respectivamente, Tabla 2.1).

En general, el nivel de agresividad de las Lechucitas de ambientes urbanos fue mayor que el de las de ambientes rurales ($\beta = 0.80$, $Z = 2.28$, $P = 0.02$). Las Lechucitas urbanas mostraron un nivel de agresividad similar al de las rurales para el tratamiento T, pero mostraron mayor agresividad cuando fueron expuestas al tratamiento TP (Tabla 2.1). Además, se registró una mayor agresividad de las Lechucitas urbanas frente al tratamiento TP en comparación con el tratamiento T ($\beta = 1.20$, $Z = 3.24$, $P = 0.001$), pero no se registraron

diferencias en esta variable entre tratamientos para Lechucitas rurales ($\beta = 0.04$, $Z = 0.42$, $P = 0.91$, Fig. 2.2).

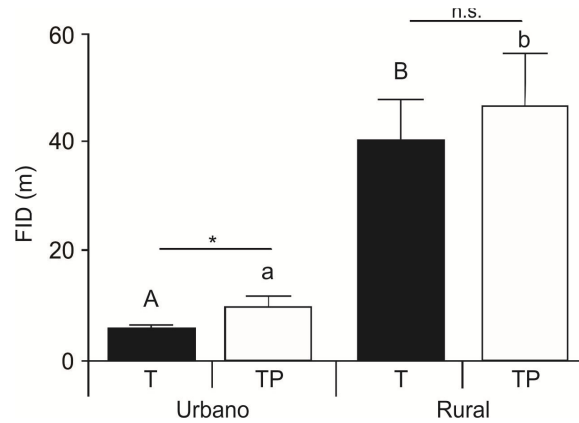


Figura 2.1. Distancia de iniciación de vuelo (FIDs) de Lechucita Vizcachera comparada entre transeúntes (T, barras negras) y transeúntes acompañados por un perro (TP, barras blancas) y entre ambientes (urbano, rural). Las barras representan valores promedios \pm errores estándares. Los asteriscos indican diferencias entre tratamientos dentro de cada ambiente y letras diferentes indican diferencias entre ambientes para un mismo tratamiento (luego de desarrollar modelos lineales generalizados mixtos, lme).

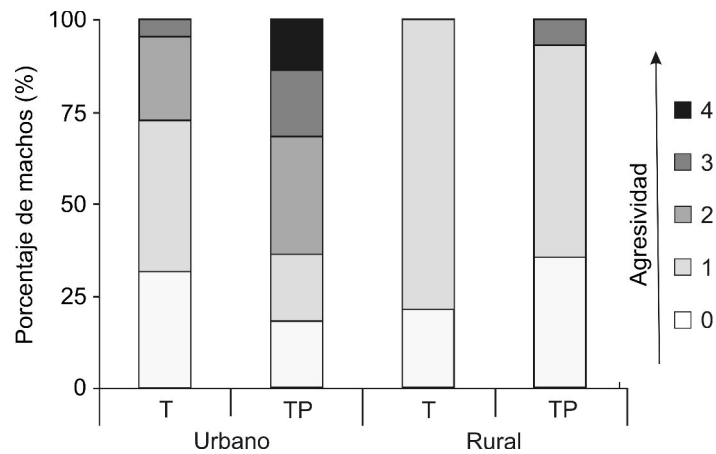


Figura 2.2. Niveles de agresión de Lechucitas Vizcacheras. Porcentaje de Lechucitas que exhibieron distintos niveles de agresión (0: vuela o ingresa al nido, 1: pivotea y/o vocaliza, 2: extiende sus alas y parece más grande, 3: hace vuelo de halconeo, 4: realiza ataques directos). T: Transeúnte, TP: Transeúnte acompañado por un perro.

Tabla 2.1. Resultados estadísticos mostrando el contraste de los factores fijos utilizando modelos generalizados lineales mixtos (GLMM, LME) y modelos acumulativos mixtos (CLMM) para poner a prueba la interacción entre a) tratamientos (T: transeúnte, TP: transeúnte acompañado por perro) y b) ambientes (rural, urbano) de los comportamientos de FID, defensa de nido y retorno al mismo luego de cada tratamiento. El texto en negrita denota las diferencias significativas.

Comportamiento	FID			Retorno al nido			Agresión		
	β	t	P	β	z	P	β	z	P
General									
Urbano vs. Rural	-1.77	-8.78	<0.001	1.80	3.33	0.000	0.80	2.28	0.022
T vs. TP	-0.35	-2.14	0.041	0.28	0.53	0.591	-0.67	-2.44	0.014
<i>Contrastes entre factores</i>									
<i>Para cada tratamiento, entre ambientes</i>									
T: Urbano vs. Rural	-1.64	-6.17	<0.001	3.30	3.40	0.000	0.23	0.51	0.605
TP: Urbano vs. Rural	-1.90	-7.16	<0.001	0.78	1.10	0.270	1.48	3.02	0.002
<i>Para cada ambiente, entre tratamientos</i>									
Urbano: T vs. TP	-0.45	-2.13	0.040	1.57	1.77	0.076	-1.20	-3.24	0.001
Rural: T vs TP	-0.19	-0.71	0.479	-0.94	-1.18	0.237	0.04	0.11	0.909

DISCUSIÓN

La percepción del riesgo de las Lechucitas Vizcacheras fue distinta entre ambientes urbanos y rurales. En líneas generales, se encontró que las Lechucitas urbanas tuvieron FIDs más cortas y retornaron a sus nidos más frecuentemente que sus pares de ambientes rurales cuando se enfrentaron a una persona sola caminando hacia ellos. Asimismo el nivel de agresividad fue similar en ambos ambientes ante este tratamiento. Esto coincide con lo reportado para esta especie durante el periodo reproductivo, resultados presentados y discutidos en la Sección 1 de este capítulo.

En esta sección, se incorporó el efecto de una amenaza vinculada principalmente a los ambientes urbanos a modo de evaluar si la Lechucita Vizcachera percibe a este estímulo como una situación de riesgo. En respuesta a una persona acercándose en compañía de un perro, los FIDs de Lechucitas urbanas continuaron siendo menores que los de su contraparte rural. Sin embargo, las Lechucitas urbanas aumentaron sus FIDs y se comportaron más agresivas en respuesta a este tratamiento comparado con la aproximación de una persona sola. Este conjunto de cambios reportados en el comportamiento de las Lechucitas urbanas luego del acercamiento junto a un perro indican que la presencia de este animal, es percibida como una amenaza mayor comparada con la aproximación de sólo una persona. Esto evidencia que las Lechucitas urbanas son capaces de diferenciar entre depredadores usualmente asociados a una amenaza real como un perro y aquellas amenazas como el humano, que si bien su cercanía puede ocasionalmente representar un riesgo, en la mayoría de los casos no representa una amenaza real (Blumstein 2016). Esta diferenciación de la respuesta entre tipos de amenazas indica que las Lechucitas reducirían su sensibilidad ante inductores de estrés frecuentes tales como humanos (Møller 2008a, Marzluff et al. 2010), mientras que permanecen alerta a depredadores reales tales como perros domésticos. Asimismo, la presencia de personas es mucho más elevada en ambientes urbanos que en rurales, por lo que escapar volando de cada

humano que pasa caminando podría representar un costo energético demasiado alto para las lechuzas urbanas (Blumstein 2016). En este sentido, las situaciones estresantes como la exposición a depredadores representan un compromiso en el cual se favorecerían los individuos que presenten la habilidad para diferenciar entre estímulos con diferente nivel de amenaza como sería en este caso una persona y un perro. Estudios previos han sugerido que la exposición reiterada a inductores de estrés permite a los animales adquirir y retener información de acuerdo a su relevancia (es decir, nivel de riesgo) y que la capacidad de guardar esta información sería una característica importante que permitiría establecerse exitosamente en ambientes urbanos (Levey et al. 2009, Marzluff et al. 2010, Lee et al. 2011). Contrariamente, las Lechucitas rurales no modificaron su comportamiento entre tratamientos, es decir, la respuesta fue similar tanto cuando una persona se aproximó sola o como cuando lo hizo acompañada por un perro. Esto indicaría que tanto la persona como el perro serían identificados como una amenaza por las Lechucitas en este ambiente. En general, la presencia de humanos y perros en ambientes rurales es muy baja ya que la mayor parte del área muestreada pertenece a propiedades privadas con acceso restringido. Sin embargo, dado que los animales no poseen una información perfecta de sus depredadores, es esperable que hagan una sobreestimación más que una subestimación del riesgo de depredación para maximizar su *fitness* (Frid y Dill 2002). Esto parece ser otra explicación plausible de la ausencia de diferencias en la respuesta de las lechuzas entre tratamientos en ambientes rurales.

Los perros suelen tener efectos negativos sobre la fauna silvestre ya que representan depredadores (Van der Merwe et al. 2005, Ditchkoff et al. 2006), y en general, se asemejan a los zorros (ambos pertenecen a la Familia Canidae), los cuales son depredadores típicos de animales salvajes de ambientes naturales y agrícolas de las pampas (Redford y Eisenberg 1992). En este sentido, se ha postulado que los animales desarrollan respuestas antidepredatorias generalizadas ante estímulos que representan amenazas similares (Frid y

Dill 2002). En relación a esto, las Lechucitas podrían estar mostrando un reconocimiento innato de los perros como depredadores, lo cual induciría mayores respuestas de escape (es decir, mayor FID en ambientes urbanos). Sin embargo, este comportamiento puede ser modificado como resultado de la experiencia (es decir, aprendizaje) durante la ontogenia y permitiría producir una respuesta óptima específica a las condiciones locales (Brown 2012). Por ejemplo, Brown et al. (2013) encontraron en sus estudios sobre respuesta de peces ante estímulos asociados a una amenaza que la respuesta de miedo frente a señales de depredadores novedosos está determinada por la exposición a situaciones de riesgo durante periodos críticos de los estadios juveniles. De manera similar, para las Lechucitas urbanas la exposición temprana a la presencia frecuente e inofensiva de humanos y perros podría favorecer el desarrollo de una respuesta menor a los mismos (menor FID) si es comparada con la misma respuesta de las Lechucitas rurales.

En síntesis, se encontró que el comportamiento anti-depredatorio de la Lechucita Vizcachera fue diferente de acuerdo al ambiente y al tipo de depredador. Las lechuzas urbanas reconocieron a una persona con un perro como una amenaza mayor que una persona sola, indicando así que el miedo a los animales domésticos debería ser considerado como uno de los posibles mecanismos que determinan si las aves se establecen o no en ciudades y poblados. Por otro lado, los humanos y los perros parecen representar una amenaza de igual magnitud para las lechuzas rurales pero mayor que la percibida por lechuzas urbanas, lo cual se evidenció en una respuesta anti-depredatoria más temprana. Los resultados obtenidos ponen de manifiesto la importancia de los ambientes modificados en la modelación de la respuesta de las lechuzas frente a depredadores potenciales o reales, y representa otro paso en la explicación de cómo las especies animales perciben y responden a riesgos potenciales y reales asociados con la vida en ambientes urbanizados.

SECCIÓN 3: EVALUACIÓN EXPERIMENTAL DEL ROL DE LA HABITUACIÓN EN LA RESPUESTA DE LAS LECHUCITAS VIZCACHERAS A HUMANOS

La habituación es el proceso que conduce a la disminución de una respuesta frente a un estímulo al cual un individuo es expuesto al mismo repetidas veces (Rankin et al. 2009). Generalmente, este proceso es adaptativo y actúa disminuyendo la probabilidad de que los individuos respondan a estímulos que no representan una amenaza (Rankin et al. 2009, Blumstein 2016). La habituación ha sido uno de los mecanismos propuestos para explicar la cercanía de algunas especies a sitios donde la presencia del hombre es frecuente (Rodríguez-Prieto et al. 2009, Blumstein 2016, Vincze et al. 2016), es una forma de plasticidad comportamental (esto es, cambios en el comportamiento como resultado de la experiencia) e implica un proceso de aprendizaje (Vincze et al. 2016). Por otro lado, contrario a la disminución de la respuesta frente a un estímulo, también puede ocurrir un aumento de la misma si un estímulo que representa una amenaza se presenta repetidamente (sensibilización). Estos procesos pueden ser adaptativos si contribuyen a la disminución del riesgo de depredación y reflejan la acumulación de experiencia a lo largo del tiempo (Blumstein 2016).

La presencia del hombre induce cambios en el comportamiento de los animales (Sih et al. 2010). Sin embargo, la presencia del hombre no siempre representa una amenaza y los animales pueden habituarse a la misma. De acuerdo a esta hipótesis los animales que viven en la cercanía del humano se beneficiarían al disminuir su respuesta frente a los mismos, ya que responder ante la presencia de cada persona que se aproxima puede ser energéticamente muy costoso (Blumstein 2016). Sin embargo, otros mecanismos han sido propuestos para explicar la disminución de la respuesta de animales que viven en la cercanía del hombre. Por un lado, si el nivel de respuesta varía entre individuos pero no varía considerablemente en algunos individuos (es decir que es consistente), se esperaría que aquellos individuos que exhiban comportamientos menos temerosos de manera consistente se distribuyan más cerca del

humano (ciudades, poblados) mientras que aquellos más temerosos se distribuirían en zonas menos pobladas o rurales (Møller 2010, Blumstein 2014, Carrete y Tella 2010). Otro mecanismo propone que el comportamiento de los individuos que se asocian al humano es el resultado de un proceso de selección en el cual individuos menos temerosos tendrían mayor *fitness* (Møller 2008a). A diferencia del proceso de habituación, que involucra plasticidad comportamental, estos dos últimos mecanismos asumen que la respuesta de los individuos es consistente entre los individuos, un concepto básico de personalidad (Dingemanse et al. 2010). Sin embargo, estos mecanismos no son excluyentes ya que puede existir selección de individuos con una plasticidad comportamental elevada y mayor capacidad de habituación en lugar de algún tipo comportamental.

En base a lo expuesto, el objetivo de esta sección fue estudiar si la Lechucita Vizcachera (*Athene cunicularia*) en ambientes urbanos y rurales logra habituarse al disturbio de una persona acercándose de manera repetida. Para esto se realizaron tratamientos de acercamientos frecuentes a individuos de esta especie en ambientes urbanos y rurales, y se predice que si la respuesta de la Lechucita Vizcachera es compatible con un proceso de habituación frente al estímulo de una persona acercándose, se observará una disminución en su respuesta comportamental (disminución de la respuesta de FID, Fig. 3.1a). Por otro lado, si los individuos con determinados comportamientos son seleccionados de acuerdo a las presiones del ambiente dado que resultan ventajosos por sobre otros o, si existe una distribución espacial limitada por la tolerancia a los disturbios, entonces se espera que las respuestas sean consistentes a lo largo del tiempo (Fig. 3.1b). Asimismo, si las Lechucitas ya se encuentren habituadas al estímulo frecuente de una persona aproximándose, puede ocurrir que el nivel inicial de respuesta sea distinto frente a Lechucitas no habituadas (Fig. 3.1c). Para contemplar todas estas posibilidades, es que se desarrolló un diseño experimental comparado

entre sitios con alta frecuencia de personas (bajo nivel inicial de respuesta; urbanos) y otros con nula o baja carga de personas (alto nivel inicial de respuesta, rurales).

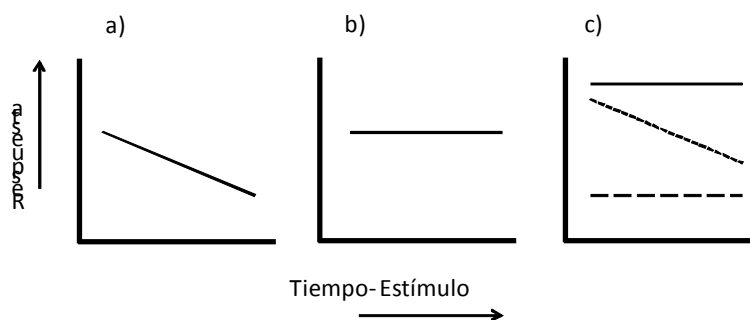


Figura 3.1. Modelos hipotéticos que muestran tres posibles situaciones que pueden ocurrir a lo largo del tiempo en el que un individuo es sometido a un estímulo. a) Disminución en la respuesta luego de repetidos encuentros con un estímulo que ha demostrado no ser una amenaza, b) Consistencia en el comportamiento frente al estímulo a lo largo del tiempo, el caso c) considera que el estado inicial como la respuesta puede variar de acuerdo a la experiencia previa de cada individuo.

METODOLOGÍA

Diseño de muestreo y toma de datos

El muestreo se llevó a cabo en fines de septiembre y principios de octubre de 2013 y de 2014. Previamente a la obtención de datos se localizaron los nidos mediante recorridas de las áreas a pie y en vehículo en ambientes urbanos y rurales, detectando visualmente a los individuos adultos en sus cuevas (Conway et al. 2008, Cavalli et al. 2014b). Se consideró un nido como ocupado si se observó en el mismo una lechuza o restos de su actividad (por ejemplo: excremento, egagrópilas, bosta de vacas o caballos, etc.).

Se tomaron las variables FID y agresividad de la defensa (ver Sección 1 para mayor detalle). Los acercamientos fueron siempre realizados por la misma persona (MC) que utilizó los mismos colores de vestimenta.

Con el fin de evaluar la respuesta de la Lechucita frente al estímulo repetido de una persona aproximándose, se realizaron dos tipos de tratamientos considerando distintas escalas temporales de medición:

(1) Se trabajó con 27 individuos machos, 13 en ambientes rurales y 14 en ambientes urbanos. A cada uno de ellos se le realizaron aproximaciones entre las 7:00 y las 12:00hs de la mañana una vez al día, durante 9 días consecutivos. El diseño contempló realizar los acercamientos durante 9 días con el fin de evaluar si el estímulo diario de una persona acercándose causa habituación, sensibilización o no causa un cambio en el comportamiento. Mientras más prolongado sea este tratamiento, menor será la cantidad de errores aleatorios en el muestreo (Bell et al. 2009). Este tratamiento no fue prolongado durante más días para evitar interferir con el inicio del periodo reproductivo de las Lechucitas y además se consideró que 9 días consecutivos de tratamiento eran suficientes para detectar el patrón de comportamiento de la Lechucita.

(2) Se trabajó con 39 individuos machos, 21 en ambientes rurales y 18 en ambientes urbanos. Se realizaron aproximaciones caminando hacia cada individuo 5 veces durante un mismo día entre las 7:00 y las 12:00hs. Cada aproximación estuvo espaciada temporalmente aproximadamente por 50 minutos entre aproximación y aproximación. Con el fin de determinar si la respuesta es consistente en el tiempo, se realizó una sexta aproximación al día siguiente en el mismo rango horario. Se realizaron sólo 5 aproximaciones a cada individuo porque fue el máximo posible de desarrollar en el rango horario de 7:00 a 12:00hs. Respetamos este horario para realizar este tratamiento dado que luego del mediodía los individuos suelen estar refugiados del sol. Los individuos muestreados durante este tratamiento fueron diferentes a los muestreados durante el Tratamiento 1.

Análisis estadísticos

Se analizó la variación en FID (transformada aplicando logaritmo para alcanzar un mejor ajuste del modelo) en los distintos días en los cuales se realizaron acercamientos utilizando modelos lineales de efectos mixtos (lme, paquete nlme, Pinhero y Bates 2000) con distribución de errores normal y función de enlace identidad. Las variables fijas o explicativas

fueron día para el Tratamiento 1 (variable continua) o acercamiento para el Tratamiento 2 (variable continua) y ambiente (factorial, con dos niveles: urbano y rural), la identidad de cada individuo fue incluida en el término aleatorio. *A posteriori* para cada ambiente se modeló la variación en FID durante los tratamientos a lo largo del tiempo. Al igual que en el modelo general, la variable respuesta fue FID (variable continua, logaritmizada), y la variable explicativa fueron los días (Tratamiento 1). Se probó el ajuste de los modelos a través del análisis de la normalidad de los residuos y homocedasticidad de varianzas (Zuur et al. 2009). Para analizar la variación de FIDs en el Tratamiento 2 se ajustó un modelo con estructura de errores Gamma y función de enlace inversa (Crawley 2007). La variable respuesta fue FID (continua), mientras que la variable explicativa fue el número de acercamiento (tomado como variable continua).

La variación en la agresividad a lo largo de los acercamientos y entre ambientes se probó mediante el ajuste de modelos mixtos acumulativos (función clmm). Se puso a prueba el efecto del hábitat y el acercamiento (variables explicativas) sobre la agresividad de defensa de las Lechucitas Vizcacheras (variable respuesta ordinal). La identidad del individuo fue incluida como término aleatorio. *A posteriori*, se exploró para cada ambiente el efecto del día de acercamiento (Tratamiento 1) o del número de acercamiento (Tratamiento 2) sobre la agresividad.

Con los datos obtenidos del Tratamiento 2 se puso a prueba la hipótesis de no diferencia en los valores de FIDs y agresividad entre el acercamiento número cinco y el acercamiento del día 2 mediante modelos lineales de efectos mixtos (lme, paquete nlme, Pinhero y Bates 2000) y modelos mixtos acumulativos (función clmm) respectivamente como se especificó anteriormente.

Finalmente, a modo de evaluar la consistencia de los comportamientos individuales, se calculó la repetibilidad de los FIDs y de la agresividad siguiendo las indicaciones de

Nakagawa y Schielzeth (2010) (función rpt.remlLMM, Paquete rptR en R). La repetibilidad es la porción de la variación en el comportamiento que se debe a la diferencia dentro del individuo. Cuando los individuos se comportan de manera consistente en el tiempo, entonces un comportamiento es repetible (revisado en Bell et al. 2009).

RESULTADOS

Tratamiento 1

Los resultados para este tratamiento muestran que, al igual que en las Secciones 1 y 2, las FID son menores para lechuzas de ambientes urbanos comparando con rurales (Tabla 3.1). Los resultados evidencian además que los individuos de ambientes urbanos y rurales difirieron en la tendencia de su respuesta de FID a lo largo de los días de tratamiento (Tabla 3.1, Fig. 3.2). Las lechuzas de ambientes rurales demostraron una clara disminución en las FID a lo largo de los tratamientos (días), lo cual es indicativo de habituación a la presencia repetida de una persona aproximándose mientras que en el ambiente urbano esta respuesta no varió (Fig. 3.2, Tabla3.1). Asimismo, la repetibilidad de este comportamiento fue superior en ambientes urbanos. La varianza arrojada por el efecto individual dentro de los modelos (intercepto aleatorio) fue de 0.45 en los modelos ajustados sólo para ambientes urbanos y de 0.78 en modelos ajustados en ambientes rurales, indicando una mayor variación en el comportamiento de cada individuo en el ambiente rural.

En cuanto a la agresividad, no se registraron diferencias entre ambientes y tampoco se evidenció un efecto del tratamiento (días) sobre este comportamiento (Fig. 3.3, Tabla3.1).

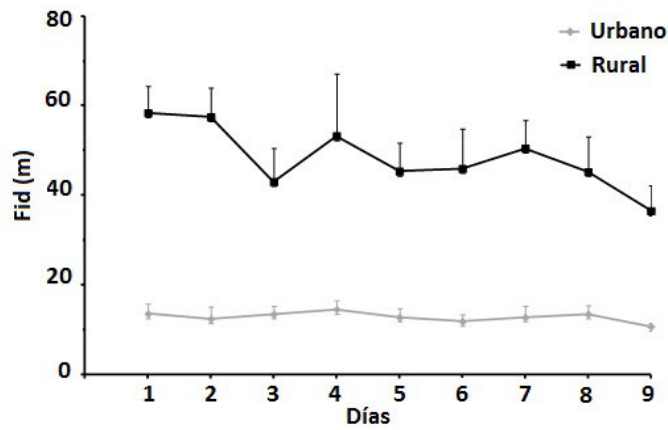


Figura 3.2. Variación diaria del comportamiento de distancias de iniciación de vuelo (FIDs) de Lechucitas Vizcacheras urbanas y rurales. Los puntos representan valores promedio \pm errores estándares.

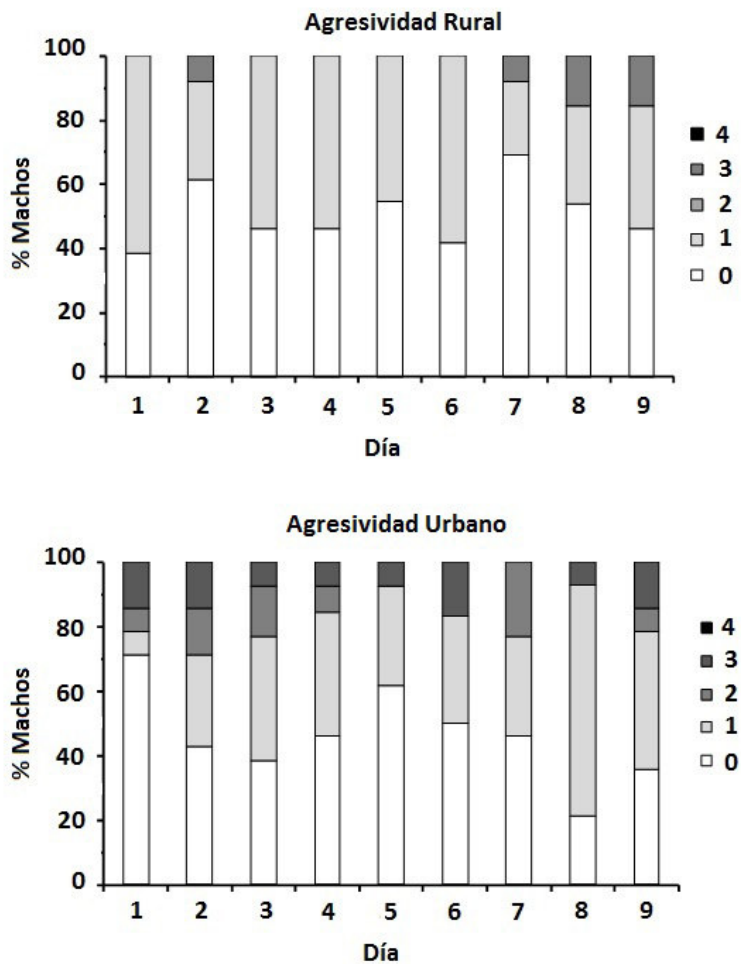


Figura 3.3. Niveles de agresión de Lechucitas Vizcacheras en ambientes urbanos y rurales durante el Tratamiento 1. Porcentaje de individuos de Lechucita Vizcachera que exhibieron distintos niveles de agresión (0: se vuela o ingresa al nido, 1: pivotea y/o vocaliza, 2: extiende sus alas y parece más grande, 3: hace vuelo de halconeo, 4: realiza ataques directos).

Tratamiento 2

Los resultados de las aproximaciones consecutivas dentro de un mismo día muestran que, en líneas generales, existió un efecto del ambiente y del tratamiento en el comportamiento de FID de las Lechucitas Vizcacheras (Tabla 3.1), siendo más elevados los valores de FIDs hallados en el ambiente rural. El comportamiento de agresividad de las Lechucitas Vizcacheras fue distinto entre ambientes, siendo observados los comportamientos más agresivos en Lechucitas urbanas (Fig. 3. 6, Tabla 3.1), pero no se registró un efecto del tratamiento sobre este comportamiento (Tabla 3.1).

Los modelos individuales permitieron estudiar en detalle que es lo que ocurre en cada ambiente. Se observó una disminución en el comportamiento de FID en Lechucitas rurales mientras que las FIDs no variaron en las Lechucitas del ambiente urbano (Fig. 3.4, Tabla 3.1). Los valores de repetibilidad de FID fueron mayores en Lechucitas de ambientes urbanos, indicando cierta consistencia en este comportamiento a lo largo de las aproximaciones comparado con el ambiente rural donde los valores de repetibilidad fueron más bajos. En general, las Lechucitas rurales tuvieron valores de agresividad menores que las del ambiente urbano. Además, tanto en el ambiente urbano como en el rural, la agresividad no varió a lo largo de los tratamientos (Tabla 3.1).

Al igual que en el tratamiento anterior, la varianza arrojada por el efecto individual dentro de los modelos (intercepto aleatorio) fue de 0.05 en los modelos ajustados sólo para ambientes urbanos y de 0.14 en modelos ajustados en ambientes rurales, indicando una mayor variación en el comportamiento de cada individuo en el ambiente rural.

Los resultados provenientes de la comparación entre la última aproximación del primer día del tratamiento 2 y la única aproximación realizada al día siguiente indican que las Lechucitas rurales regresarían a los valores originales de FIDs (Fig. 3.4, Tabla 3.1), mientras que las Lechucitas urbanas mantendrían los mismos valores. El comportamiento de agresividad sería

similar entre el último acercamiento del primer día de tratamiento y el único acercamiento del día consecutivo en ambos ambientes, denotado también por los elevados Rs de repetición de este comportamiento observado tanto para Lechucitas urbanas como rurales.

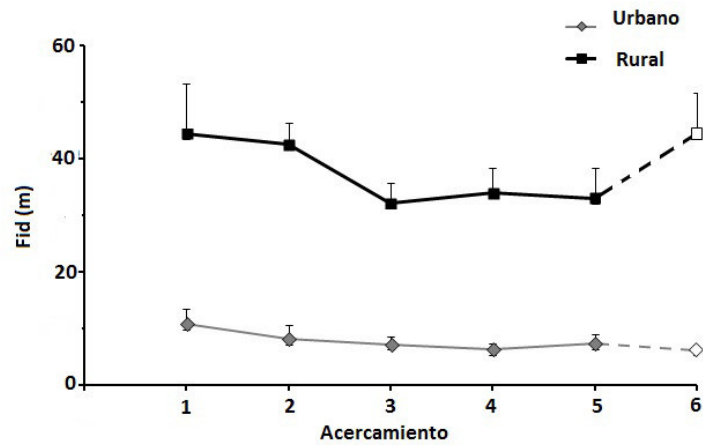


Figura 3.4. Variación del comportamiento de distancias de iniciación de vuelo (FIDs) de Lechucitas Vizcacheras urbanas y rurales entre acercamientos dentro de un mismo día (1-5) y al día siguiente (6). Los puntos representan valores promedio \pm errores estándares.

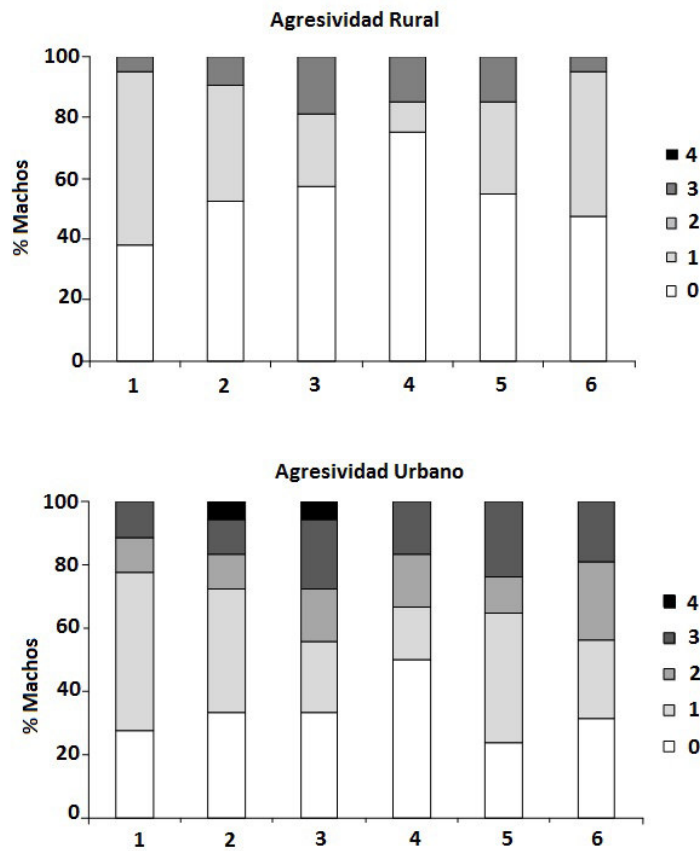


Figura 3.5. Niveles de agresión de individuos de Lechucitas Vizcacheras en ambientes urbanos y rurales durante el Tratamiento 2. Porcentaje de individuos de Lechucita Vizcachera que exhibieron distintos niveles de agresión (0: se vuela o ingresa al nido, 1: pivotea y/o vocaliza, 2: extiende sus alas y parece más grande, 3: hace vuelo de halconeo, 4: realiza ataques directos).

Tabla 3.1. Resultados estadísticos mostrando el contraste de los factores fijos utilizando modelos generalizados lineales mixtos y modelos acumulativos mixtos para poner a prueba el efecto del número de tratamiento (día o número de acercamiento en tratamiento 1 y 2 respectivamente) y ambientes (rural, urbano) sobre los comportamientos de FID y agresividad. R indica el valor de repetibilidad. El texto en negrita denota las diferencias significativas.

	FID				Agresividad			
	B	t	P	R±SE (IC)	B	z	P	R±SE (IC)
Tratamiento 1								
Modelo general				0.63±0.07 (0.45- 0.75)				0.14±0.08 (0.0-0.33)
Día	0.02	2.21	0.02		0.02	0.87	0.38	
Ambiente	1.32	8.58	<0.001		0.23	1.06	0.28	
Dentro de cada ambiente								
Urbano	0.01	0.88	0.37	0.38±0.11 (0.15-0.57)	0.03	0.79	0.42	0.13±0.07 (0.0-0.26)
Rural	0.13	2.45	0.01	0.20±0.09 (0.02-0.39)	0.01	0.25	0.80	0.14±0.08 (0.0-0.31)
Tratamiento 2								
Modelo general				0.56±0.28 (0.0-0.87)				0.45±0.07 (0.29-0.58)
Aproximación	0.04	4.28	<0.001		0.01	0.13	0.89	
Ambiente	0.79	9.47	<0.001		0.67	1.99	0.04	
Dentro de cada ambiente								
Urbano	0.01	1.94	0.06	0.52±0.10 (0.31-0.68)	0.04	0.51	0.61	0.34±0.11 (0.14-0.55)
Rural	0.02	2.20	0.02	0.30±0.11 (0.08-0.50)	0.06	0.85	0.39	0.59±0.01 (0.36-0.72)
Día 1 vs. 2								
Urbano				0.43±0.21 (0.0-0.71)				0.83±0.01 (0.54-0.92)
Rural	0.05	0.36	0.71	0.29±0.18 (0.0-0.62)	0.03	0.07	0.93	0.72±0.11 (0.41-0.88)
	0.37	2.60	0.01		0.13	0.31	0.75	

DISCUSIÓN

En esta sección se estudió si las respuestas frente a encuentros repetidos con una persona (medidas a través de FIDs y agresividad) difieren entre individuos urbanos y rurales de Lechucita Vizcachera. Se partió de la predicción de que si la respuesta de la Lechucita Vizcachera es compatible con un proceso de habituación frente al estímulo de una persona acercándose, se observaría una disminución en su respuesta comportamental (disminución de

FIDs y niveles de agresión). Exponiendo a las Lechucitas a tratamientos con distinta frecuencia de acercamiento de una persona se encontró, en líneas generales, que las mismas no mostraron variaciones en su agresividad, pero si mostraron una disminución en los valores de FID durante la exposición a ambos tratamientos en ambientes rurales.

En los ambientes rurales, la disminución de los valores de FID en las dos escalas temporales testeadas indica que las Lechucitas responderían al disturbio humano mostrando un comportamiento que sería compatible con la hipótesis de habituación (es decir, disminución de su respuesta de FID ante encuentros repetidos con una persona que dejarían de reconocer como una amenaza). Esta misma respuesta ha sido observada para diferentes especies de aves en zonas turísticas (Jiménez et al. 2013), o en sitios dónde la densidad de peatones es elevada, mostrando una correlación negativa con la densidad de personas circulando (Mikula 2014). Estos resultados indican que el comportamiento de FID puede ser plástico dependiendo de las condiciones locales y de las capacidades de cada especie de adaptarse a esas condiciones a través del aprendizaje de situaciones que no representan un riesgo. Por otro lado, contrario a nuestros hallazgos, estudios previos sugieren que valores altos de repetibilidad no darían lugar a la habituación, dado que serían indicativos de que los individuos son consistentes en sus comportamientos a lo largo del tiempo (Carrete y Tella 2011, Carrete y Tella 2013). Los valores de repetibilidad en esta tesis, tanto para el Tratamiento 1 como el Tratamiento 2 fueron relativamente menores a los reportados por estos autores, y en general fueron más elevados para las Lechucitas de ambientes urbanos que para las rurales. En vista de estos resultados, no sería posible descartar la hipótesis de habituación, dado que la reducción de FID de Lechucitas rurales indicaría que son capaces de aprender y habituarse a la presencia de un estímulo que deja de ser percibido como una amenaza. Más aún, estudios previos realizados con otras especies hacen referencia a la capacidad de las aves de discriminar entre distintas personas y responder de manera asociativa entre distintas caras y

amenazas (Marzluff et al. 2010, Lee et al. 2011), o mostrar sensibilización de acuerdo a la actitud de la persona que se aproxima (Levey et al. 2009) indicando que existe una capacidad de distinción y aprendizaje generalizado para las aves.

En los ambientes urbanos el comportamiento de FID no varió durante ambos tratamientos, el mismo fue consistente y la tasa de repetibilidad fue elevada comparada con la misma para Lechucitas rurales. En base a este resultado se desprenden dos posibles explicaciones, por un lado, podría denotar la consistencia en dicho comportamiento, lo que coincidiría con lo planteado por otros autores para la especie (Carrete y Tella 2010, 2013), descartando la posibilidad de que exista habituación. Dicha hipótesis considera que los individuos se distribuirían en relación a sus capacidades individuales de tolerar la presencia del hombre. Por otro lado, una explicación alternativa es que las Lechucitas que habitan ambientes urbanos exhiben valores bajos de FID y que éstos no varían en el tiempo dado que la presencia del humano es frecuente. En base al aprendizaje de que dicha presencia frecuente no representa una situación de riesgo, las Lechucitas habrían alcanzado su capacidad máxima de habituación al humano, es decir, se habría alcanzado la distancia mínima de iniciación de vuelo indicando cierto grado de saturación de la respuesta (Blumstein 2016).

Los resultados provenientes de la comparación de los comportamientos de FID entre el último acercamiento del primer día y el único acercamiento del segundo día del Tratamiento 2 denotan que las Lechucitas tendrían la capacidad de recuperarse o regresar a los valores originales luego de un periodo donde el estímulo cesa de ser frecuente. Esto sería evidenciado por las Lechucitas rurales, que mostraron FIDs más parecidos a los primeros acercamientos del día 1 que a los últimos del mismo día. En este sentido, existiría una reversión de la respuesta en relación a la percepción de una persona acercándose, volviendo a niveles de respuesta similares a las del inicio. Esta capacidad de regresar a niveles de comportamiento iniciales se relaciona con las características de los procesos de habituación (ver Rankin et al.

2009, Grissom y Bathnagar 2009) y denotaría la flexibilidad de comportamiento de esta especie (Sol et al. 2013), mostrando una capacidad de modificar su comportamiento en base a una experiencia relativamente breve (Sol et al. 2002).

En línea con la hipótesis de habituación, sería esperable que si un estímulo continua repitiéndose en el tiempo, la respuesta alcanzaría un umbral que estaría determinado por la tolerancia máxima de la especie frente a ese estímulo (Rankin et al. 2009). En este sentido, la falta de respuesta encontrada en el ambiente urbano concuerda con esta hipótesis, ya que el la exposición al estímulo repetido habría generado una saturación en la respuesta de la Lechucita. Un interrogante que queda pendiente a ser respondido es si las Lechucitas rurales son capaces, luego de ser expuestas a la presencia de una persona de manera frecuente y sostenida en el tiempo, de alcanzar los valores de FID bajos que los que mostraron las Lechucitas urbanas. Luego de ser expuestas repetidamente al estímulo humano dentro de un mismo día (Tratamiento 2) y a varios encuentros diarios sostenidos durante 9 días (Tratamiento 1), la disminución del comportamiento de FID representó un 37.4% durante el tratamiento 1 y 25.6% durante el Tratamiento 2 en Lechucitas rurales. En relación a esto, bajo la hipótesis de habituación, podría esperarse que el estímulo repetido en el tiempo o con mayor frecuencia permita llegar a los valores de FID urbanos.

En conclusión, nuestros resultados muestran que existe una disminución en el comportamiento de FID de la Lechucita Vizcachera luego de los tratamientos, sugiriendo que las Lechucita rurales podrían aprender a través de la experiencia que la aproximación de una persona no representa una situación riesgosa. Estos resultados serían compatibles con la hipótesis de habituación. Por otro lado, la no variación y los valores bajos en el comportamiento de FIDs de Lechucitas de ambientes urbanos en relación a los rurales podría ser el resultado de una saturación en la respuesta frente al hombre y al aprendizaje basado en su experiencia.

SECCIÓN 4: CONCLUSIONES GENERALES DEL CAPÍTULO

En este capítulo se encontró que, en líneas generales, las Lechucitas que habitan ambientes urbanos difieren en sus comportamientos de aquellas que habitan ambientes rurales.

En general, se observó que las Lechucitas urbanas tienen valores de FIDs más bajos en ambientes urbanos que en rurales cuando una persona se aproxima (Secciones 1, 2 y 3). Esto podría ser debido a que los nidos urbanos son habitualmente disturbados por personas y escapar volando cada vez que se aproxima una persona sería demasiado costoso energéticamente. El comportamiento de FIDs decreció a lo largo del periodo reproductivo en ambientes urbanos (Sección 1) pero no en ambientes rurales. También se registró un incremento en este comportamiento en respuesta al acercamiento de un perro en los ambientes urbanos pero no en los rurales (Sección 2). Estas variaciones podrían ser el resultado de la selección de individuos con cierto perfil de comportamientos (personalidades más audaces, menos temerosos) en ambientes urbanos o una distribución espacial condicionada por la tolerancia al humano (Carrete y Tella 2011, 2013). Por otro lado, otra explicación plausible contempla la posibilidad de que las Lechucitas se habitúen a la presencia del hombre (estudiado en la Sección 3). En este sentido, se observó que las Lechucitas rurales disminuyen su comportamiento de FIDs ante sucesivos encuentros con una persona que se aproxima quedando en evidencia que las Lechucitas Vizcacheras son capaces de aprender y habituarse a estímulos frecuentes en el ambiente que no representen una amenaza.

Se encontró también que las Lechucitas de ambientes urbanos regresaron más rápido al nido que las de ambientes rurales luego de la aproximación de una persona, esto fue evidenciado tanto durante el periodo reproductivo (Sección 1), como en la etapa pre-reproductiva (Sección 2). En este sentido, la decisión de retornar o no inmediatamente después de una amenaza potencial podría estar asociado con el tiempo que tarda un estímulo en dejar de ser percibido como peligroso, como también el tiempo necesario para desactivar la

respuesta de estrés asociada con el estímulo y el retorno al comportamiento normal (por ejemplo: Neufeld-Cohen et al. 2010). Por otro lado, el comportamiento de retorno al nido no estuvo influenciado por la etapa del ciclo reproductivo, lo cual sugiere que los factores que subyacen a estas respuestas comportamentales serían consistentes a lo largo del tiempo.

En cuanto al nivel de agresividad en respuesta a una persona aproximándose, se encontraron similares niveles entre ambientes urbanos y rurales. Sin embargo, cuando se incorporó el efecto de un perro aproximándose se evidenció un aumento de la agresividad en ambientes urbanos (Sección 2). Por otro lado, de manera similar entre ambientes, la agresividad aumentó con el avance del periodo reproductivo (Sección1), lo cual estaría relacionado con un incremento en los beneficios para el *fitness* del cuidado parental a medida que los pichones crecen (Montgomerie y Weatherhead 1988).

CAPÍTULO 4

RESPUESTA DE ALERTA FRENTE A SONIDOS DE ALARMA INTER- ESPECÍFICAS POR LA LECHUCITA VIZCACHERA EN AMBIENTES URBANOS Y RURALES



INTRODUCCIÓN

Los animales obtienen información valiosa del ambiente a través del esfuerzo propio, comunicándose con sus conespecíficos o a través de la información producida por otras especies con quienes comparten el hábitat. Esta información suele ser brindada de una especie a otra de manera inadvertida (es decir, información pública) y proporciona ventajas adaptativas a quienes logren aprovecharse de ellas (por ejemplo: Danchin et al. 2004). La información pública puede ser obtenida de múltiples fuentes sensoriales, incluyendo química, visual o sonora, entre otras (Jones et al. 2011). En particular, la información que proviene de vocalizaciones de alarma de animales de una misma especie o de dos especies que comparten depredadores brindaría información acerca de la presencia o cercanía de un depredador o amenaza, pudiendo prevenir ataques inesperados, aumentar la vigilancia, resguardarse o esconderse y evitar ser depredados (Magrath et al. 2014). Otras de las ventajas que subyacen al uso de sonidos de alarma inter-específicos son la optimización del tiempo de respuesta frente a una amenaza, la reducción del tiempo invertido en vigilancia, y el incremento del tiempo utilizado en forrajear. De esta manera, los animales que hacen uso de la información pública proporcionada por otros animales logran obtener información de lo que ocurre en el ambiente a un costo relativamente bajo (Magrath et al. 2014).

Este tipo de comportamiento ha sido registrado en diferentes grupos de animales, pero es especialmente común en aves y mamíferos (por ejemplo: Rainey et al. 2004, Bryan y Wunder 2013, Magrath et al. 2014). En general, el reconocimiento de señales indicadoras de depredadores puede tener componentes innatos o ser aprendidos (Epp y Gabor 2008). En este sentido, se ha postulado que las respuestas innatas permitirían a los animales responder a señales de alarma de otras especies sin tener experiencia previa, disminuyendo de esta manera su exposición a los depredadores. Por otro lado, las respuestas aprendidas frente a

vocalizaciones inter-específicas permitirían cierta flexibilidad en la respuesta (Magrath et al. 2014). Estos mecanismos no serían excluyentes uno de otro (Magrath y Bennett 2012).

En particular, en el caso de la Lechucita Vizcachera, se ha registrado que en el norte de su distribución, donde esta especie se encuentran asociada a animales fosoriales, los individuos utilizan las llamadas de alarma de perritos de las praderas (*Cynomys* sp., Berardelli et al. 2010, Bryan y Wunder 2013) y de ardillas (*Spermophilus* spp., Henderson 2013) como indicadores de riesgo. Dado que en el hemisferio norte las Lechucitas Vizcacheras comparten gran parte de sus depredadores con las ardillas y perritos de las praderas (Coloumbe 1971, Martin 1973), las vocalizaciones de alarma de estas especies están fuertemente asociadas a la cercanía de un depredador. El mecanismo por el cual las Lechucitas responden a estas llamadas es a partir del aumento de su vigilancia (Bryan y Wunder 2013). En su distribución sur, la Lechucita Vizcachera se asociaba históricamente a colonias de vizcachas (*Lagostomus* sp.), aunque esto actualmente ocurre solo en áreas específicas, ya que estos mamíferos han disminuido notablemente sus poblaciones debido a programas intensivos de erradicación dado que eran consideradas plagas (Jackson et al. 1996), a cambios en el uso de la tierra, y a la caza intensiva (Hudson 1984, Ghera y León 2001, Machicote et al. 2004). Dado que la Lechucita habita un ambiente abierto y plano como es la región pampeana, se espera que utilice señales de alarma de otros organismos ante la presencia de depredadores. La Lechucita Vizcachera se encuentra con frecuencia asociada al Tero Común (*Vanellus chilensis*) y suelen habitar los mismos ambientes (Narosky y Di Giacomo 1993, Codesido et al. 2011, Azpiroz et al. 2012). El Tero es en dicha región, una especie que actúa como centinela ya que se caracteriza por ser bullicioso, territorial y agresivo (Canevari et al. 1991). Las Lechucitas Vizcacheras podrían estar tomando ventaja de las vocalizaciones de alarma del Tero utilizándolas como advertencia de la cercanía o aproximación de una amenaza. En esta distribución, el Tero y la Lechucita Vizcachera comparten depredadores similares: el Hurón (*Galictus cuja*, depreda

sobre huevos), el zorro (*Pseudalopex gymnocercus*), el Gavilán ceniciento (*Circus cinereus*), el Gavilán planeador (*C. buffoni*), el Chimango (*Milvago chimango*), el Carancho (*Caracara plancus*), el hombre y los animales domésticos (Bó M.S datos no publicados, Delibes et al. 2003, Vargas et al. 2007, Idoeta y Roesler 2012, Sade et al. 2012, esta tesis). Por lo tanto, las Lechucitas Vizcacheras que intercepten señales de alarma de especies con las cuales no solo compartan hábitat sino también depredadores, podrían asociar estas vocalizaciones con la cercanía y/o aproximación de un depredador. Si la respuesta a estos estímulos incrementa la eficiencia de la vigilancia, mediante su protección y/o la de su progenie, esto aumentaría su *fitness*, y es esperable una respuesta adaptativa frente a este estímulo.

Sobre la base de lo expuesto, este capítulo tiene como objetivo determinar si las vocalizaciones de alarma de especies que coexisten con la Lechucita Vizcachera en ambientes urbanos y rurales son reconocidas por las mismas como indicadores de amenazas en ambos ambientes. Se plantea la hipótesis de que la Lechucita Vizcachera reconoce las llamadas de alarma inter-específicas del Tero Común e incrementa su vigilancia en respuesta a las mismas. Se predice que la Lechucita Vizcachera responderá a las vocalizaciones de alarma de Teros demostrando comportamientos de alerta. Se espera encontrar diferencias en la respuesta entre ambientes urbanos y rurales, dado a que los Teros en ambientes urbanos se encuentran sometidos a una mayor cantidad de estímulos que estimulan sus vocalizaciones de alerta y, en respuesta a la mayor frecuencia de emisión de sonidos de alarma, las Lechucitas atenuarían su respuesta dado que podrían dejar de asociarlo con una amenaza. Es decir, esta atenuación podría adjudicarse a un proceso de habituación similar a lo planteado en la Sección 3 del Capítulo 3. Además, debido a que durante el periodo reproductivo las especies suelen incrementar su nivel de vigilancia, se evalúa la respuesta comportamental de la Lechucita Vizcachera durante el periodo reproductivo y fuera del mismo al escuchar vocalizaciones de alarma de Tero, esperando encontrar niveles mayores de alerta asociados al periodo reproductivo.

METODOLOGÍA

Diseño de muestreo y toma de datos

Para poner a prueba la hipótesis de este capítulo se realizaron experimentos de reproducción de sonidos a Lechucitas Vizcacheras que tienen sus cuevas en ambientes rurales y en ambientes urbanos del sudeste de la Prov. de Buenos Aires. Utilizando un parlante portátil marca Noganet se reprodujo una secuencia aleatoria de sonidos: sonido de alarma del Tero Común (T, el tratamiento experimental), sonido de una moto circulando (M, tratamiento de control no biológico), sonido de vacas mugiendo (V, tratamiento de control biológico). Cada tratamiento tuvo una duración de 30 segundos seguido por un periodo de silencio de un minuto (Bryan y Wunder 2013).

Para obtener los sonidos de cada tratamiento, en el campo se registraron sonidos mediante un grabado digital (Philips) y un reflector parabólico de sonidos (Sony). Luego en una computadora mediante el uso de software de edición de sonidos (Audacity v2.1.0) se seleccionaron las mejores grabaciones y se conformaron archivos de secuencias aleatorias de los mismos de 30 segundos de tratamiento por un minuto de silencio. El periodo de silencio que precedió a los tratamientos se utilizó como control. Finalmente las secuencias de sonidos utilizadas fueron: VMT, TMV y MVT. Durante las reproducciones aleatorias en el campo se filmó a los individuos de Lechucita Vizcachera utilizando una cámara de alta resolución de imagen (1080p, Canon). Estos tratamientos se realizaron en 2014 y 2015 focalizando sobre individuos de Lechucita Vizcachera durante el periodo reproductivo (octubre-enero) y fuera del mismo (resto del año).

Para cada tratamiento se posicionó el parlante portátil a no más de 100 metros de un individuo. Previo al comienzo de cada tratamiento las personas encargadas del manejo del parlante y la cámara se colocaron en puntos ciegos o dentro del vehículo (Manning y Kaler 2011). El sitio dónde se realizó cada tratamiento fue georreferenciado con el fin de evitar

tomar datos más de una vez de los mismos individuos. Cuando fue posible se tomaron datos de machos y hembras. En total se realizaron 110 experimentos, 60 de ellos en ambientes rurales (43 durante el periodo no reproductivo y 17 durante el periodo reproductivo) y 50 en ambientes urbanos (16 durante el periodo no reproductivo y 34 durante el periodo reproductivo).

Análisis estadísticos

En el laboratorio se observaron las videgrabaciones de cada secuencia de tratamientos y se describieron los comportamientos observados durante los mismos y durante los periodos de silencio entre tratamientos. Se utilizó el programa BORIS© v.2.2 (Friard y Gamba 2016) para visualizar y contabilizar con precisión el número y frecuencia de cada comportamiento en cada video. En la Tabla 1 se describe el Etograma que se utilizó al visualizar las filmaciones. Se clasificó el estado de cada Lechucita como “alerta” o “relajado” dependiendo del comportamiento que realizaba. El estado “alerta” consistió en la suma del tiempo en relación al total que cada individuo paso observando-vigilando, estirándose, vocalizando o pivoteando, mientras que el estado “relajado” consistió en la suma de tiempo en relación al total que un individuo se encontró descansando, acicalándose, bostezando o forrajeando.

Se evaluó estadísticamente el efecto de las variables ambiente (urbano, rural), tratamiento (sonido de vaca, de Tero y de moto) y periodo del año (reproductivo, no reproductivo) sobre la proporción de tiempo que los individuos permanecieron alerta. Se ajustaron Modelos Lineales Generalizados Mixtos (Crawley 2007, Zuur et al. 2009) con el fin de poner a prueba el efecto de los tratamientos [factorial con cuatro niveles: sonido de Teros, sonido de vaca, sonido de moto, silencio (control)], ambiente (factorial con dos niveles: rural, urbano), periodo (factorial con dos niveles: reproductivo, no reproductivo) y el sexo (factorial con dos niveles: macho, hembra) sobre la proporción de tiempo alerta. Los modelos fueron

ajustados con estructura de error binomial y función de enlace *logit*. La identidad de cada individuo fue introducida a los modelos como efecto aleatorio. Se descartó el posible efecto del orden de tratamientos sobre el comportamiento de alerta de la Lechucita Vizcachera mediante un modelo que incluyó sólo la secuencia de los sonidos como variable explicativa y la proporción de tiempo alerta como variable respuesta sin encontrar un efecto significativo (datos no presentados, valores de $P > 0.05$). Todos los análisis estadísticos fueron desarrollados utilizando el programa R, Versión 3.0.1 (R development Core Team 2016), utilizando el paquete LME4 (Bates et al. 2013). Los valores graficados son promedios \pm EE.

Tabla 1. Descripción de comportamientos registrados para la Lechucita Vizcachera durante las reproducciones de sonidos.

Tipo de comportamiento	Comportamiento	Descripción
Relajada	Descansa	Permanece con ojos cerrados
	Acicala	Individuo acondiciona o acomoda sus plumas
	Forrajea	Busca alimento en el suelo
Alerta	Observa- vigila	Mueve la cabeza hacia los costados
	Se estira	Estira el cuerpo y alcanza mayor altura
	Vocaliza	Emite sonido de alarma
	Se inclina	Movimiento de cuerpo hacia arriba y abajo sin moverse del lugar
	Se desplaza	Se moviliza hacia el nido, ingresa al mismo o se vuela

RESULTADOS

Tanto en ambientes urbanos como en rurales el patrón de respuesta fue similar, siendo en todos los casos más extensa la respuesta de alerta al ser sometidas a las vocalizaciones de Teros comparando con los restantes tratamientos (ver Fig. 1). Los resultados de los modelos para explicar la proporción de tiempo alerta luego de la exposición a los distintos tratamientos indican que no hubo diferencias entre sexos en la respuesta a los tratamientos ($\beta = 0.006$, $z = 0.18$, $P = 0.18$). Asimismo, no fueron detectadas variaciones en la respuesta de alerta de la

Lechucita Vizcachera entre periodos reproductivos y no reproductivo dentro de un mismo ambiente, ni entre ambientes ($P > 0.05$, ver Apéndice I).

Las Lechucitas permanecieron más tiempo alerta luego de ser sometidas a los sonidos de Teros (silencio post Teros) que luego de los otros tratamientos (datos no mostrados), por lo tanto se excluyó del set de datos del control al tiempo de silencio luego del tratamiento de vocalizaciones de Teros. Queda en evidencia con este resultado que luego de ser sometidas al tratamiento de sonidos de Teros, las Lechucitas requieren un tiempo de recuperación a dicho estímulo.

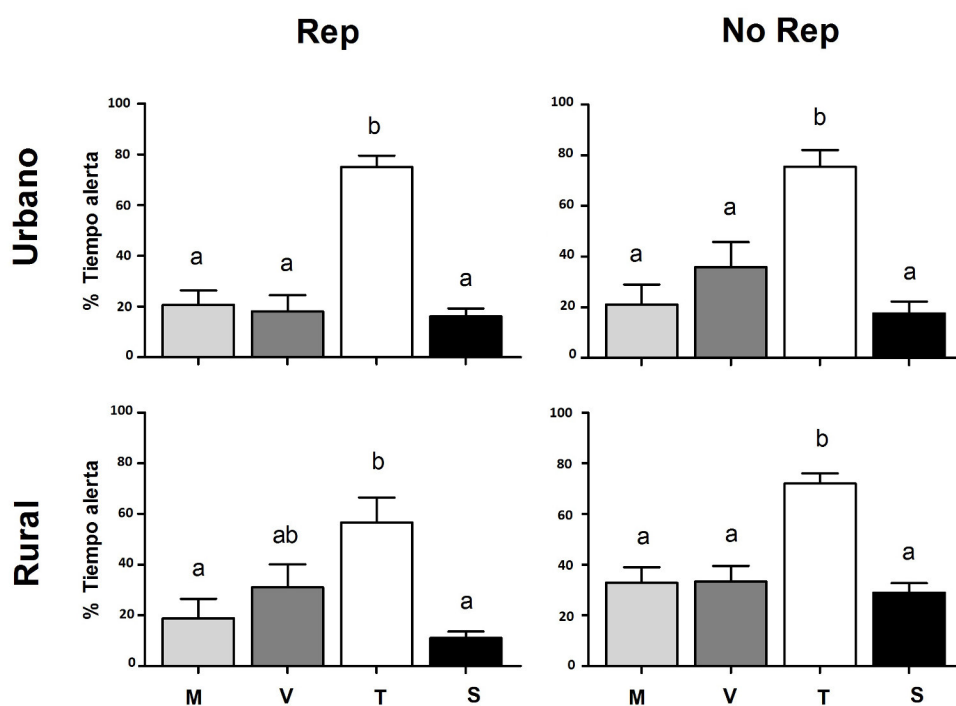


Figura 1. Valores promedios (\pm error estándar) de la proporción de tiempo alerta de Lechucitas Vizcacheras durante la reproducción de sonidos de M (moto), V (vacas), T (Teros) y S (silencio, control) en ambientes urbanos y rurales durante el periodo reproductivo (Rep) y fuera del mismo (No Rep). Letras diferentes indican diferencias significativas luego de los análisis estadísticos.

DISCUSIÓN

En este capítulo se estudió de manera experimental si la Lechucita Vizcachera reconoce los sonidos de alarma de una especie con las que comparte hábitat como indicadores de amenaza. En líneas generales, se observó un notable incremento en el comportamiento de alerta ante la reproducción de sonidos de alarma del Tero en comparación con la respuesta observada ante la exposición a otros sonidos. Esto demostraría que la Lechucita Vizcachera tiene la habilidad de utilizar información pública para prevenir amenazas, en correlato con lo reportado para el hemisferio norte con los mamíferos fosoriales y ardillas (Bryan y Wunder 2013, Henderson 2013), lo cual soportaría la hipótesis planteada en este capítulo.

En esta tesis se estudia por primera vez la asociación entre Lechucitas y Teros. Citando a Hudson (1984), los Teros *“En defensa de su territorio sostiene perpetuas guerras contra todas las criaturas vivientes; siendo los objetos de un aborrecimiento especial: el hombre, los perros, Ñandúes y aves de presa en general. Su ruidoso grito y temperamento irascible son comentados por muchos viajeros y naturalistas, pues nadie que cabalgue a través de las pampas podría pasar por alto al ave con sus chillantes protestas contra los transgresores resonando sin cesar en sus oídos”*. Al asociarse con los Teros las Lechucitas podrían relajar su comportamiento de vigilancia y beneficiarse de las vocalizaciones de alarma emitidas por los Teros, incrementando su vigilancia al oír sus vocalizaciones e invirtiendo el tiempo en realizar otras actividades (por ejemplo descanso o forrajeo) cuando estos se encuentran en silencio. El hecho de que las Lechucitas confíen en sonidos de alarma de otras especies con las que comparten hábitat y algunos de sus depredadores como indicadores de peligro sería ventajoso dado que se incrementaría la vigilancia a un costo relativamente menor (Magrath et al. 2014). Resultados similares se encontraron en la distribución norte de la especie donde la Lechucita utiliza las vocalizaciones de alarma de los perritos de las praderas como indicadores de riesgo (Bryan y Wunder 2013). Otros autores

encontraron también una asociación entre Lechucitas y Ardillas (*Spermophilus spp*) sugiriendo que las Lechucitas obtienen un beneficio de las vocalizaciones de alarma de estos animales ya que serían indicadoras de amenazas (Henderson 2013). Recientemente, se observó una asociación de este tipo entre Lechucitas y Urracas (*Cyanocorax cristatellus*), dónde la Lechucita reaccionaba incrementando su vigilancia en respuesta a las vocalizaciones de alarma de la Urraca. Sin embargo, en dicho estudio se sugiere que las Lechucitas incrementarían su vigilancia en respuesta a vocalizaciones de Urracas debido a la competencia por los recursos, dado que ambas especies son omnívoras, más que debido a su asociación con alguna amenaza (Austin et al. 2016).

Una de las predicciones de este capítulo postulaba que en respuesta a las vocalizaciones de alarma de los Teros, las Lechucita Vizcachera que habitan ambientes rurales demostrarían comportamientos de alerta mayores a las Lechucitas de ambientes urbanos frente al mismo estímulo y que esta diferencia de respuesta se debería a una habituación a los sonidos frecuentes de Teros en ambientes urbanos (similar al observado en el Capítulo 3, Sección 3). Sin embargo, los resultados no soportaron esta predicción ya que los comportamientos de alerta fueron similares para Lechucitas urbanas y rurales luego del tratamiento antes mencionado. Por otro lado, tampoco se cumplió la predicción de que ocurriría un aumento en el estado de vigilancia en respuesta a las vocalizaciones de Teros durante el periodo reproductivo.

En general, se ha planteado que las respuestas frente a sonidos de alarma inter-específicos podrían ser innatas o aprendidas (Magrath et al. 2014). Por un lado, la respuesta innata permitiría una respuesta de alerta frente al estímulo de Teros desde edades tempranas e intervendría en la supervivencia de los individuos más jóvenes. Sin embargo, dado que los dialectos de los animales pueden variar en periodos de tiempo cortos o geográficamente, las respuestas innatas en estos casos podrían ser limitadas (Lima y Dill 1990, Magrath y Bennett

2012). Por otro lado, se ha sugerido que la respuesta a sonidos de alarma inter-específicos pueden variar dependiendo de si las poblaciones que emiten los sonidos de alarma y los que hacen uso de ellas viven en simpatria (Magrath et al. 2009). En este sentido, los individuos obtendrían información del ambiente y adoptarían un determinado comportamiento como resultado de la observación e interacción con otros individuos de otra especie con la que comparten hábitat (Brown 2012). En nuestro estudio, la no diferencia de la respuesta entre Lechucitas urbanas y rurales y durante el periodo reproductivo y no reproductivo indica una respuesta consistente ante el llamado de alarma de Teros. Esto podría ser evidencia de que existe una respuesta innata frente al llamado de alarma del Tero, aunque deberían realizarse más estudios para sumar certeza a esta primera aproximación.

En resumen, en este capítulo se mostró que las Lechucitas Vizcacheras distinguen los sonidos de Teros y los utilizan como señales de alarma, volviéndose más alerta ante sus vocalizaciones. Las variaciones en el ambiente no serían un condicionante en el reconocimiento de estas señales y las Lechucitas responderían de igual manera frente a las vocalizaciones de Teros en ambientes urbanos y rurales. Reconocer las señales de alarma de otra especie como indicadora de una amenaza independientemente del ambiente representaría una ventaja adaptativa.

Apéndice I.

	B ±es	Z	p
Rep vs. No rep			
<i>Urbano</i>			
M	-0.26 ±0.83	-0.31	0.75
T	-0.13 ±0.78	-0.16	0.86
V	-1.28 ±0.77	-1.65	0.09
S	-0.35 ±0.66	-0.54	0.58
<i>Rural</i>			
M	-0.96±0.81	-1.11	0.23
T	-0.85±0.71	-1.19	0.23
V	-0.24±0.74	-0.33	0.73
S	-1.45±0.72	-1.99	0.05
Urbano vs. Rural			
<i>Rep</i>			
M	0.12±0.87	0.14	0.88
T	0.97±0.75	1.29	0.19
V	-0.76±0.84	-0.91	0.36
S	0.50±0.78	0.64	0.51
<i>No rep</i>			
M	-0.61±0.79	-0.77	0.43
T	0.19±0.76	0.25	0.80
V	0.16±0.69	0.23	0.81
S	-0.65±0.62	-1.06	0.28

CAPÍTULO 5

DISPERSIÓN Y ESTRUCTURACIÓN GENÉTICA POBLACIONAL DE LA LECHUCITA VIZCACHERA ENTRE POBLACIONES URBANAS Y RURALES



INTRODUCCIÓN

La dispersión es un proceso complejo e importante de la biología de las poblaciones (Greenwood 1980, Morrison y Bohal Wood 2009). Este comportamiento, se encuentra directamente relacionado con la conectividad, distribución espacial, dinámica, persistencia y estructura genética de las poblaciones (Greenwood 1980, Panteriani y Delgado 2009), por lo que tiene consecuencias significativas tanto ecológicas como evolutivas para las especies (Clobert et al. 2012).

En general, el concepto de dispersión en aves es utilizado para describir los movimientos de individuos sin dirección y distancia fija que favorecen el intercambio entre poblaciones (Greenwood 1980). Se considera que la dispersión es un proceso complejo que puede estar influenciado tanto por factores internos de cada individuo, como por ejemplo la condición física, el sexo y la personalidad o, por factores externos, como la calidad de hábitat, la densidad poblacional y la competencia inter e intraespecífica (Serrano et al. 2008, Chaine y Clobert 2012). En consecuencia, el comportamiento de dispersión de una especie puede variar entre poblaciones e individuos (Morrison y Bohal Wood 2009).

La evidencia es creciente en referencia a que las poblaciones de animales viviendo en ambientes urbanizados y rurales suelen diferenciarse en su comportamiento y en su biología. En este sentido, se ha reportado que algunas especies adelantan su temporada reproductiva, muestran niveles más bajos de neofobia en sitios urbanos, muestran niveles de miedo más bajos frente al hombre, tienen camadas más pequeñas, entre otros cambios (Partecke et al. 2004, Chace y Walsh 2006, Partecke et al. 2006a, Møller 2008a, 2009, Chamberlain et al. 2009, Minias et al. 2015, Biondi et al. 2015, Vinzce et al. 2016, esta tesis). Se ha propuesto que los cambios en las presiones de selección como resultado de las modificaciones en el ambiente pueden conducir a la selección de ciertas características en distintas poblaciones dentro de una misma especie (Sih et al. 2010, Rebolo-Ifrán et al. 2015). De verificarse esta

hipótesis de distribución espacial basada en la tolerancia diferencial de los individuos a los estímulos asociados a la urbanización (Møller 2008a, Carrete y Tella 2011, 2013, Vinzce et al. 2016), esto debería reflejarse en cambios en la estructuración genética de las poblaciones, dado que los individuos más tolerantes se agruparían espacialmente con individuos que se comporten de manera similar y los menos tolerantes se distribuirían fuera de zonas urbanas (Carrete y Tella 2010).

En la Región Pampeana, la Lechucita Vizcachera habita diversos ambientes como agroecosistemas, pastizales naturales de pastos cortos (Bellocq 1987, Narosky y Di Giacomo 1993, Comparatore et al. 1996) y ambientes urbanos - periurbanos (Sánchez et al. 2008, Baladrón 2010, Carrete y Tella 2011, Cavalli et al. 2014a, esta tesis). Esta especie, conspicua durante el día, es fácil de localizar dentro del área o rango de acción en relación a sus nidos (<600 m) (Haug y Oliphant 1990, del Hoyo et al. 1994, Baladrón et al. en prensa). Los movimientos de juveniles luego de su emancipación han sido descriptos para poblaciones migratorias (Belthoff et al. 1995, Haug et al. 1993, Todd 2001) y en menor medida para poblaciones estables o residentes en el sur de Estados Unidos (Rosenberg y Haley 1994, Haley 2006). En este sentido, se ha reportado para poblaciones no migratorias que las distancias de dispersión desde el nido luego de la emancipación varían de acuerdo al sexo de los dispersantes, siendo menores las distancias reportadas para machos que para hembras (Millsap y Bear 1992 en Haug et al. 1993, Catlin y Rosenberg 2014). En su distribución más austral las Lechucitas, una vez seleccionado su sitio de nidificación, son residentes y suelen permanecer en los mismos durante todo el año (König et al. 1999, Rodríguez- Martínez et al. 2015, Baladrón et al. en preparación). En líneas generales, se ha observado que los juveniles permanecen en el nido natal o en nidos satélites dentro del área del nido (<10 metros) hasta unos pocos meses antes del siguiente periodo reproductivo (datos no publicados). Finalmente, ha sido reportado que las Lechucitas que habitan sitios urbanos suelen diferenciarse en su

comportamiento y características de historia de vida de las que se encuentran en ambientes rurales (Carrete y Tella 2011, Rebolo- Ifrán et al. 2015, esta tesis).

Sobre la base de lo expuesto, el objetivo de este capítulo fue evaluar la dispersión postnatal y el nivel de estructuración genética de Lechucita Vizcachera en el marco de la comparación entre ambientes rurales y urbanos en el sudeste de la Región Pampeana Argentina. En este sentido, se predice que si se cumple la hipótesis de distribución espacial condicionada por el comportamiento, se esperaría observar que los individuos más tolerantes a los estímulos asociados a los ambientes urbanos, se dispersen y radiquen en los mismos. De manera contraria, si la respuesta de los individuos fuese producto de la habituación a las condiciones de los ambientes urbanos, no se esperaría encontrar evidencias de estructuración genética y se esperaría encontrar en ambientes rurales individuos nacidos en sitios urbanos y viceversa. Por otro lado, también podría suceder que el tiempo transcurrido desde la aparición de la urbanización y la manifestación de comportamientos diferenciales entre distintos individuos rurales y urbanos no fuera suficiente para detectar estructuración genética (Landguth et al. 2010).

METODOLOGÍA

Durante los años 2009 a 2014 se realizaron campañas de captura en sitios urbanos y rurales previamente descriptos en el capítulo 1 (Fig. 1). En cada sitio se capturaron y anillaron individuos de Lechucita Vizcacheras mediante diferentes técnicas de captura comúnmente usadas para la especie como trampas bal-chatri y trampas de lazos (Bub 1991, Bloom et al. 2007). Los sitios de capturas fueron geo-posicionados, a cada individuo capturado se le colocó un anillo plástico de color con numeración única para su posterior identificación (Fig. 2) y se le tomó una muestra de sangre de la vena braquial siguiendo los protocolos de Hoysak y Weatherhead (1991). Además, se recolectaron plumas en aquellos nidos dónde no pudieron

realizarse las capturas. Las muestras de sangre se conservaron a -20 C° hasta el momento de su procesamiento. Las plumas se rotularon y conservaron a temperatura ambiente hasta su análisis.



Figura 1. Mapa del sudeste bonaerense donde se indican los sitios de muestreo de Lechucita Vizcacheras. Las estrellas vacías indican los sitios de recolección de muestras en ambientes urbanos: Mar del Plata, Camet Norte, Mar de Cobo, Mar Chiquita. Las estrellas rojas indican la recolección de las muestras en ambientes rurales: Ea. San José, Ea. Aguas Brillantes, Ea. El Puma, Ea. Santa Sabina, Ea. Paititi, Ea. Los Alemanes

Dispersión y observación de movimientos de pichones/juveniles en el campo

Se realizaron relevamientos periódicos del área de muestreo con el fin de registrar el movimiento de los individuos capturados y anillados durante la etapa de pichones o juveniles. Las recorridas se realizaron desde fines de septiembre hasta febrero durante las temporadas reproductivas de 2009-2010, 2012-2013, 2013-2014, 2014-2015 y 2015-2016. Se registró si los individuos capturados la temporada anterior permanecieron en el sitio de captura o si se desplazaron. Se midió la distancia de movimiento tomando la distancia lineal desde el nido

natal u original dónde cada individuo fue capturado y el sitio de reavistaje del mismo individuo en las siguientes temporadas reproductivas. Las mediciones se realizaron utilizando cinta métrica cuando las mismas fueron menores a 100 m y utilizando el programa MapSource 6.13.7 de Garmin y la aplicación Mapear-Mapas electrónicos argentinos, versión 11.4 cuando las distancias excedieron los 100 m. En ambas situaciones se geoposicionó el nuevo sitio dónde los individuos fueron encontrados.



Figura 2. Individuo de Lechucita Vizcachera anillado, re-avistado cercano a su sitio de captura previo al siguiente periodo reproductivo y luego no volvió a ser re-avistado. Anillo amarillo n° 43, colocado en la pata derecha.

Estructuración genética

Se evaluó la estructuración genética como indicador indirecto de los movimientos de dispersión de los individuos entre los distintos sitios. Para esto se extrajo ADN nuclear a partir de las muestras de sangre y de las plumas de Lechucita Vizcachera. El ADN obtenido se utilizó para estimar la variabilidad genética de las poblaciones utilizando los marcadores de ADN microsatélites. Diez ADN microsatélites específicos para esta especie fueron seleccionados debido a su alto nivel de polimorfismo (Tabla 1). Los microsatélites de ADN nuclear son utilizados principalmente para estudios de variabilidad genética intra e interespecífica, análisis de linajes y de sistemas reproductivos. Los microsatélites o secuencias

simples repetidas (SSRs) son secuencias de ADN formadas por repeticiones sucesivas de 1 a 4 nucleótidos. Estos loci se encuentran tanto en regiones codificantes como no codificantes del ADN (Freeland 2007).

Tabla 1. Primers utilizados para las ampliaciones de loci de microsatélites en Lechucita Vizcacheras.

Marcador	Número	*Secuencia del primer 5'-3'	Secuencia que se repite	Rango tamaño (pb)	Referencia
1	BUOW4	F: TCCCCTGGGAGAACTCAC R: AAGACAGAGTACGGGAAG	ATCC	217-297	Korfanta et al. 2002
2	ATCU04	GU167941 F: TTCATGGGTTTATGATCTGACTTC R: AGCCATTCCCTTCAGTCTTC	(CA)3 TG(CA)18	349-367	Macías Duarte et al. 2010
3	ATCU13	GU167944 F: ACCCCGAGTGCTCTAGTCAG R: GTTGTGAAGCGAGGGATG	(GT)17	222-258	Macías Duarte et al. 2010
4	ATCU28	GU167946 F: CAGTGTGAGTCAAGACATGC R: TGGAGAGGTTTAGGGCTAGG	(GT)10 AT(GT)9	328-352	Macías Duarte et al. 2010
5	ATCU36	GU167947 F: TTGCACAGAAAATCCTGAGTC R: AACAAGAGTTACCTGAAGAGATGC	(GT)13	397-413	Macías Duarte et al. 2010
6	ATCU41	GU167949 F: AGAGATAGTAGTTTAGGGTAGGCTC R: ACGACACTTCTAGCACGTTG	(CA)12	201-223	Macías Duarte et al. 2010
7	ATCU45	GU167951 F: CTACCGAGCAGTGACAGTTTG R: GGGTGGACAGTTCCTCATTG	(GATA)8GGTA (GATA)2	242-282	Macías Duarte et al. 2010
8	BUOW- BM4-B12 U	GQ228871 F: GTTCTCTTAGGTTGGACTGGGACG R: TGCTAGCCGTATTCTCTACCC	(ATCT) ⁸ ...(AAT) ⁴	325-348	Faircloth et al. 2010
9	BUOW- BM4-D03 U	GQ228876 F: GTTTCAGTGAGAGTGGGTTAACAGGC R: AGGAAGATGGGTTTCAGGAACAG	(AAAT) ⁴	407-421	Faircloth et al. 2010
10	BUOW- RM3-1-C04 U	GQ228990 F: GTTTGCACTGGTGCCAAACCTC R: ACTCAGCTAATGCATCCAGTTCC	(AAAC) ⁵	300-309	Faircloth et al. 2010

*F y R indica primer *forward* y *revers* respectivamente.

Extracción de ADN de las muestras de sangre

A partir de las muestras de sangre de Lechucita Vizcachera se realizaron las extracciones de ADN utilizando una matriz de afinidad de Chelex 100. En tubos de 1.5 ml se colocaron entre 30-50µl de sangre agregando 1ml de agua estéril, se incubaron durante 30 min a temperatura ambiente. Se centrifugaron a 4000 rpm durante 5 min, luego de descartar los sobrenadantes el precipitado fue resuspendido en 200 µl de la matriz de Chelex 100 al 5%. Posteriormente, las muestras se incubaron por 20 min a 55°C y luego fueron expuestas durante 8 min a 100 °C.

Finalmente se centrifugaron durante 1.5 min a 14000 rpm y el sobrenadante enriquecido en ADN fue recuperado para ser utilizado como ADN templado en las reacciones de amplificación por PCR. Se realizaron diluciones 1/10 y se almacenaron hasta su utilización a -20° C (Desloire et al. 2006)

Extracción de ADN de plumas

A partir de las plumas de Lechucita Vizcachera se realizaron las extracciones de ADN utilizando la base del cálamo de la pluma en 200 µl de la matriz de Chelex 100 al 5% en presencia de 20 µl de Proteinasa K 10 mg/ml, se incubaron 24 hs a 37°C y posteriormente 1 hora a 55°C. Se llevó a ebullición durante 5-10 min, y se centrifugó 2 min a 14000 rpm. Se recuperó el sobrenadante, se realizaron diluciones 1/10, almacenadas hasta su utilización a -20°C.

Estudio de variabilidad del ADN

Se utilizaron 20 *primers* para amplificar el ADN correspondiente a diez microsatélites específicos para Lechucita Vizcachera (Tabla 1). Las reacciones de amplificación en el termociclador se realizaron utilizando el primer directo con un fluoróforo carboxifluoresceína FAM y el primer inverso sin marcar. El volumen final de la reacción de amplificación fue de 12.5 µl, el mismo contenía 10-50 ng de ADN genómico, 1X buffer de la enzima ADN Taq polimerasa, 0.2 mM de cada dNTP, 1 µM de primer directo, 1 µM primer inverso, 1.5 mM MgCl₂, 0.4 unidades de ADN *Taq*-polimerasa de Embiotech. El programa de temperaturas del termociclador fue modificado de acuerdo a la composición de G y C que presentaron los juegos de oligoprimers utilizados.

Los productos de amplificación de la PCR se confirmaron por electroforesis en un gel de Agarosa-TBE 1X al 1.5 %, cargando 6 µL de la reacción, previa adición de Syber gold para

teñir el ADN, y comparándolo con un marcador de peso molecular de 100 pb (Invitrogen®). Los productos de amplificación de PCR confirmados exitosamente fueron enviados a genotipificar a MACROGEN Inc. Korea o INTA Castelar. Los perfiles de genotipificación fueron analizados mediante el software Peak Scanner con el fin de estimar el tamaño de los fragmentos de ADN. A partir de estos se pudieron asignar los alelos representados en tamaño de pares de bases de cada alelo por locus y luego utilizarlos en software estadísticos específicos para el análisis de estructura genética poblacional.

Análisis de datos de variabilidad del ADN

La variabilidad genética entre los sitios de muestreo se midió como el número promedio de alelos para cada población (N_a), la diversidad alélica (N_e), la heterocigosidad observada (H_o) y esperada (H_e), el índice de fijación (F) y se testearon las desviaciones del equilibrio Hardy-Weinberg (HW). Se calcularon los índices F de Wright: coeficiente de diferenciación genética entre áreas de muestreo (F_{st}), coeficiente de endogamia de poblaciones (F_{is}) y coeficiente de endogamia total (F_{it}) (Wright 1951). En general, los valores de F_{st} entre 0-0.05 indican poca diferenciación genética, valores entre 0.05-0.25 indican diferenciación genética moderada y valores >0.25 indican diferenciación genética pronunciada. Los valores de F_{is} varían entre -1 y 1. Los valores negativos indican exceso de heterocigotos respecto al equilibrio HW, los valores cercanos a cero indican que la población se encuentra en equilibrio HW y los positivos cercanos a 1 indican deficiencia de heterocigotos o endogamia. El índice F_{it} representa la reducción media de heterocigosis de un individuo relativa al total (Freeland 2007). Finalmente y en base al valor de F_{st} se realizaron estimaciones del número de migrantes por generación (N_m) entre pares de localidades usando el algoritmo de Wright $[(1-F_{ST}) / (4 F_{ST}) - 1]$. Se considera que si $N_m > 1$, entonces predomina el flujo génico, mientras que

sí $N_m < 1$, predomina la deriva génica (Freeland 2007). Todos estos análisis fueron realizados utilizando el programa GenAlEx (Peakall y Smouse 2006).

RESULTADOS

Dispersión y observación de movimientos de individuos en el campo

Durante las estaciones reproductivas 2009-2010, 2010-2011, 2012-2013, 2013-2014 y 2014-2015 se capturaron 47 juveniles de Lechucita Vizcachera en ambientes urbanos (33 individuos) y rurales (14 individuos). Si bien el esfuerzo de captura fue similar para ambos sitios, fue evidente una mayor tendencia de Lechucitas a caer en las trampas en sitios urbanos. Durante las temporadas reproductivas siguientes a su captura fueron hallados sólo 9 individuos de los 47 pichones/juveniles que habían sido anillados durante la temporada reproductiva anterior. De estos 9 individuos 2 eran machos y 7 eran hembras y sólo un individuo perteneció a ambientes rurales. El individuo rural correspondió a un macho que dispersó 370 m. Todos los individuos que se observaron en la temporada reproductiva siguiente en el ambiente urbano se movieron dentro de la misma localidad. En Mar de Cobo se registró el movimiento de dos hembras, una que dispersó 1300 m y otra apenas 40 m desde su nido natal. En Camet Norte se registró dispersión para tres hembras, con distancias de 80, 89 y 100 m. El único registro de dispersión para Mar Chiquita fue de una hembra que se estableció a 67 m de su cueva natal. Los dos individuos restantes, un macho y una hembra, no dispersaron y continuaron en su nido natal a lo largo de varias temporadas reproductivas luego de su captura. En la Fig. 3 se muestra la proporción de pichones/juveniles dispersantes y la proporción de los que no fueron vistos en periodos reproductivos siguientes (NA).

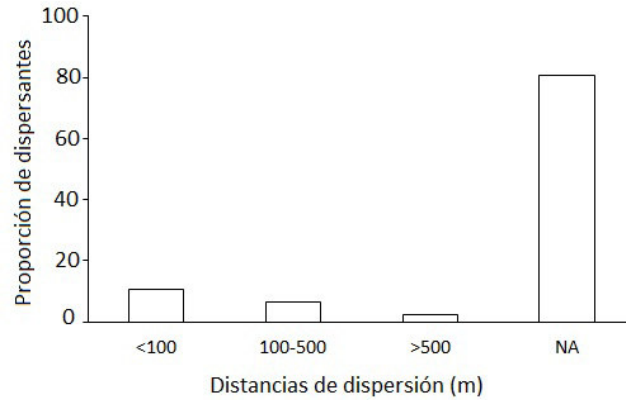


Figura 3. Proporción de individuos juveniles de Lechucita Vizcachera que dispersan a distintas distancias. Na: individuos que no fueron vistos nuevamente luego de su emancipación.

Estructuración genética

Se trabajó con 15 muestras de DNA pertenecientes a individuos adultos y juveniles no emparentados de ambientes urbanos y 11 de ambientes rurales que fueron exitosamente amplificadas utilizando los microsátelites (ATCU13, ATCU28, ATCU36, ATCU41, ATCU45 y BUOW-RM3-1-CO4). Luego de que su amplificación fue verificada en el gel de agarosa, se enviaron a INTA Castelar para su genotipificación. Se trabajó con los resultados de este set de muestras dado que las mismas fueron genotipificadas exitosamente. En la Fig. 4 se muestra un ejemplo de una muestra que fue genotipificada exitosamente.

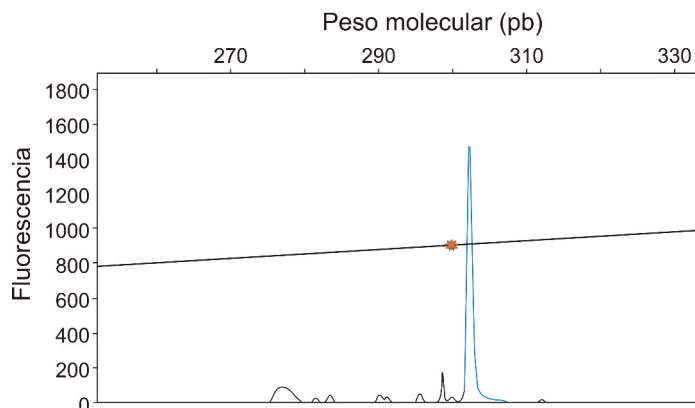


Figura 4. Visualización de fragmentos de diferente tamaño de pares de bases como picos utilizando el programa Peak Scanner. En este caso se muestra un individuo homocigota para el loci de microsatélite ATCU41.

Los loci de microsatélites mostraron una gran variabilidad, el número de alelos promedio para todos los locus en el ambiente rural fue de 12.8, mientras que para la población urbana fue de 9 (ver Tabla 2).

En general, la mayoría de los loci ajustaron al equilibrio de HW en la población rural, con la excepción de BUOW-RM3-1-CO4 y de ATCU41. En la población urbana ATCU36, BUOW-RM3-1-CO4, ATCU41 y ATCU45 no se ajustaron al equilibrio de HW (Tabla 3).

Tanto el valor del índice de estructuración genética ($F_{st}= 0.02$) como el índice de endogamia local fueron bajos ($F_{is}=0.28$). El índice de fijación conjunto fue $F_{it}= 0.31$. El número estimado de migrantes por generación (Nm) entre el ambiente urbano y el rural fue de 8 individuos.

Tabla 2. Parámetros genéticos promedio ($\pm EE$) para 6 microsatélites en poblaciones urbanas y rurales de Lechucitas Vizcacheras

Población	n° de individuos	n° de alelos promedio	Diversidad alélica	Heterocigosidad observada	Heterocigosidad esperada	Índice de fijación
	N	Na	Ne	Ho	He	F
Rural	11	12.83 \pm 0.79	9.86 \pm 0.77	0.69 \pm 0.09	0.89 \pm 0.01	0.22 \pm 0.09
Urbana	10	9.0 \pm 1.03	6.53 \pm 0.99	0.6 \pm 0.09	0.82 \pm 0.03	0.25 \pm 0.13

Tabla 3. Resumen de Tests de Chi-cuadrado del equilibrio Hardy-Weinberg. GL= grados de libertad, ns= no significativo, asterisco= diferencias significativas

Población	Locus	GL	Chi2	Prob	Signif
Rural	ATCU13	91	111.22	0.074	ns
Rural	ATCU28	45	47.36	0.376	ns
Rural	ATCU36	91	98.08	0.287	ns
Rural	BUOW-RM3-1-CO4	78	100.22	0.046	*
Rural	ATCU41	55	99.44	0.000	*
Rural	ATCU45	105	115.50	0.227	ns
Urbano	ATCU13	10	4.73	0.908	ns
Urbano	ATCU28	21	26.61	0.184	ns
Urbano	ATCU36	55	91.11	0.002	*
Urbano	BUOW-RM3-1-CO4	55	76.66	0.028	*
Urbano	ATCU41	55	90.40	0.002	*
Urbano	ATCU45	36	67.77	0.001	*

DISCUSIÓN

En este capítulo se estudiaron los movimientos de dispersión y los parámetros genéticos poblacionales de la Lechucita Vizcachera en dos contextos ambientales del sudeste bonaerense. Los resultados obtenidos, muestran que el movimiento de Lechucitas entre ambientes urbanos y rurales es probable. Asimismo, el análisis utilizando marcadores moleculares específicos indica que, los individuos muestreados en ambientes urbanos y rurales se comportarían como una única población en equilibrio.

En general, el porcentaje de reavistaje de individuos anillados fue bajo, como ocurre en otras especies de rapaces (Newton 1998). Los escasos datos de dispersión obtenidos fueron consistentes con reportes previos para las poblaciones no migratorias de la especie, mostrando distancias de dispersión relativamente acotadas (441.32 ± 156.03 m este estudio, 414 - 1.116 m en Norteamérica; Haug et al. 1993). Dado el bajo número de observaciones de individuos dispersantes, no fue posible establecer un patrón de dispersión diferencial entre machos y hembras como es propuesto en la literatura para aves en general (Greenwood 1980), ni tampoco fue posible establecer si hubo un efecto del ambiente en la distancia y decisión de dispersar. La mayor proporción de individuos reavistados permanecieron dentro del radio de 100 m del nido natal. Este patrón de distancias de dispersión acotadas fue observado principalmente en ambientes urbanos. En general, en ambientes urbanos las especies tienden a aumentar sus densidades poblacionales dado que, dentro del mismo, los individuos se agruparían en sitios de mejor calidad para emplazar el nido, sitios que suelen ser limitados en ambientes urbanos (Chace y Walsh 2006, Møller 2009). Esto no sería una excepción para la especie, ya que se ha sugerido que se encuentra en densidades elevadas en sitios urbanizados (Millsap y Bear 2000, Berardelli et al. 2010, Rodríguez- Martínez et al. 2014, Baladrón et al. 2016).

Por otro lado, el elevado número de juveniles anillados que no fueron re avistados en la siguiente temporada reproductiva (80.8 % del total de los individuos anillados) indicaría que una gran proporción de los individuos dispersan a grandes distancias o bien, que la tasa de mortalidad es muy elevada. Además al cruzar estos datos con los datos provenientes de los análisis genéticos, a partir de los cuales se evidencia un continuo flujo genético entre poblaciones urbanas y rurales, la primera opción parecería cobrar más relevancia. Sin embargo, el número de muestras provenientes de Lechucitas y microsatélites utilizados de manera exitosa fueron limitadas, estos resultados deben ser tomados con cautela.

Los resultados de los análisis genéticos, si bien provienen de un número restringido de individuos en cada ambiente, indicarían (basado en el bajo valor del índice F_{st}) que las Lechucitas de ambientes urbanos y rurales no presentarían estructuración genética y se comportarían como una sola población. La hipótesis de ocupación espacial de acuerdo a la tolerancia diferencial de los individuos frente a ambientes altamente disturbados por la presencia del hombre (Carrete y Tella 2010, Sih et al. 2010) sugiere que la ocupación diferencial del ambiente basada en el fenotipo podría tener consecuencias sobre parámetros genético poblacionales (Rebolo-Ifrán et al. 2015). Sin embargo, el bajo índice de endogamia reportado en este capítulo ($F_{is} = 0.28$), sumado a la baja diferenciación genética entre poblaciones para los loci estudiados (evidenciado por índices de heterocigocidad similares entre ambientes y el bajo valor de estructuración genética), indicarían que no habría evidencias de segregación espacial condicionada por la tolerancia diferencial a la urbanización. Es decir, las Lechucitas se estarían comportando como una población en equilibrio (Freeland 2007).

En síntesis, a través del uso de dos metodologías complementarias para evaluar el movimiento de individuos en una población, el método directo a través de captura, anillado y reavistaje y el método indirecto utilizando marcadores moleculares se sugiere que pese a las

diferencias comportamentales entre Lechucitas urbanas y rurales evidenciadas en esta tesis (Capítulos 2 y 3), las Lechucitas Vizcacheras del sudeste bonaerense no parecerían demostrar una segregación espacial condicionada por el comportamiento y se comportarían como una población continua.

CAPÍTULO 6

INDICADORES FISIOLÓGICOS DE ESTRÉS DE LECHUCITAS VIZCACHERAS EN AMBIENTES URBANOS Y RURALES



INTRODUCCIÓN

Las áreas naturales se encuentran en continuo decrecimiento a raíz del aumento de los ambientes alterados por la acción antrópica. Un ejemplo de esto es la expansión de las áreas urbanas como resultado del crecimiento en la población humana (Marzluff 2001). Mientras que algunas especies animales han logrado adaptarse a los ambientes urbanos, otras no logran sobrevivir en estos nuevos ambientes. Esto ha sido relacionado con la elevada velocidad a la que ocurren los cambios en el hábitat como resultado de la urbanización, lo que conduce a que solo aquellos individuos capaces de sobrellevar los desafíos asociados a la urbanización puedan ser exitosos en ambientes urbanos (Shanahan et al. 2014). Las especies que habitan ambientes urbanos se encuentran expuestas a una gran cantidad de fuentes de estrés novedosas, como por ejemplo una mayor frecuencia de encuentro con el hombre, una densidad elevada de depredadores no-nativos (por ejemplo: gatos y perros domésticos), niveles de ruido elevados, contaminación y tráfico vehicular, entre otras (Partecke et al. 2006b, Shanahan et al. 2014). Si bien los ambientes rurales presentan factores de estrés asociados tanto a la actividad del hombre como a una mayor carga de depredadores (Moller, Shanahan et al. 2014), el aumento en la cantidad de estresores asociados al ambiente urbano puede resultar en un incremento de las respuestas de estrés si los individuos no logran adaptarse a los mismos (Johnstone et al. 2012). Estos factores son clave en los estudios de ecología urbana dado que pueden ser importantes determinantes del *fitness* de una especie (Bókony et al. 2012).

La respuesta al estrés es uno de los mecanismos fisiológicos de los vertebrados que les permite sobrevivir bajo condiciones ambientales adversas. Estos mecanismos se caracterizan por la liberación de hormonas glucocorticoides al torrente sanguíneo en presencia de un estresor (Bonier 2012). Sin embargo, las respuestas prolongadas o muy frecuentes pueden resultar en que los individuos alcancen un estado de estrés crónico que conduce a la

disminución de la fecundidad y del potencial de supervivencia (Siegel 1980). En general, la medición del estrés fisiológico crónico en individuos capturados en el campo puede ser problemático dado que las mediciones de los niveles basales de hormona del estrés (glucocorticoides) son difíciles de obtener en el campo dado a que sus niveles aumentan en forma rápida inmediatamente después de la captura de un individuo (Davis et al. 2008). De manera alternativa, se ha sugerido que la utilización de parámetros hematológicos tales como el conteo relativo de leucocitos o células blancas medidos a través de extendidos sanguíneos representa un método complementario que permitiría tener una aproximación al estrés, dado que estos valores se encuentran relacionados con los niveles de la hormona corticosterona en sangre (Davis et al. 2008). El aumento prolongado en los niveles de corticosterona (de aquí en adelante Cort) causaría modificaciones en los números relativos de varios tipos de leucocitos presentes en el sistema inmune de los vertebrados. Por ejemplo, en respuesta a la liberación de Cort en la sangre, los linfocitos que circulan en el torrente sanguíneo tienden a adherirse a las paredes endoteliales celulares y, en consecuencia, disminuye el número de linfocitos circulando en sangre. Además, la Cort estimula el flujo de heterófilos desde la médula ósea hacia el torrente sanguíneo a la vez que atenúa la afluencia de heterófilos desde el torrente sanguíneo hacia otros compartimentos (ver Davis et al. 2008). Así, los perfiles leucocitarios y la relación heterófilos/linfocitos actúan como indicadores de la respuesta de estrés los individuos a distintos estresores, tales como temperatura, cansancio muscular, privación de alimento o bebida, cautiverio y contaminantes, entre otros (Siegel y Gross 2000, Davis et al. 2008). Además, a través de los conteos leucocitarios se pueden establecer estados normales o patológicos en una gran diversidad de especies de aves (Lobato et al. 2005, Davis et al. 2008). En este sentido, resulta interesante conocer la respuesta de la especie en estudio frente a diferentes fuentes de estrés operando en diferente magnitud y tiempo de exposición a las mismas. La documentación de los valores leucocitarios podrían proveer los niveles basales

que permitan monitorear los efectos de la respuesta fisiológica de los individuos frente a los cambios en el ambiente a través del tiempo y ofrecer valores de referencia para futuras comparaciones intraespecíficas.

En general, los individuos que habitan zonas urbanas se encuentran frecuentemente expuestos a causantes de estrés novedosos que pueden representar un desafío para los individuos que habitan este sitio. Se ha sugerido que estos estresores podrían causar reacciones en el comportamiento de los animales que incidirían sobre los niveles de estrés fisiológico (Bonier 2012). En base a lo expuesto, el objetivo de este capítulo fue establecer los perfiles leucocitarios basales de individuos de Lechucitas Vizcacheras que habitan ambientes urbanos y rurales como indicadores de estrés. Dado que a lo largo de esta tesis se observó que la Lechucita no presentaría limitaciones reproductivas y comportamentales para establecerse en ambientes urbanos, se plantea la hipótesis de que la Lechucita presenta una buena capacidad de adaptación a los ambientes urbanos. Por lo tanto, esperamos encontrar que los individuos de ambientes urbanos disminuyan su respuesta frente a los estresores frecuentes de este ambiente (por ejemplo: presencia de personas), lo cual se vería evidenciado en perfiles leucocitarios similares para los individuos de ambientes urbanos y rurales. Adicionalmente, se proveen datos basales del perfil leucocitario de la Lechucita Vizcachera, los cuales representan los primeros datos de base para el género *Athene*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño de muestreo y toma de datos

Este estudio fue realizado en el sudeste de la Región Pampeana de Argentina. Los datos para este capítulo fueron tomados de zonas urbanas y rurales de la provincia de Buenos Aires, para más detalle ver la sección área de estudio del Capítulo 1.

Se muestrearon adultos y pichones (~ 10 días de edad) de Lechucitas Vizcacheras durante enero de 2014 y 2015. Los individuos fueron capturados utilizando trampas de lazos (Bloom et al. 2007). El peso de cada individuo se midió utilizando una balanza de campo (precisión 0.1 g) y se tomaron como referencia los valores reportados por Baladrón et al. (2015) para la misma zona. Asimismo, para cada individuo se obtuvieron medidas corporales estándares (antebrazo, tarso) utilizando un calibre digital (precisión 0.01 mm). Se tomó una muestra de sangre de la vena braquial de cada individuo capturado utilizando jeringas de 0.5 mm. Las extracciones de sangre se realizaron dentro de los primeros cinco minutos que prosiguieron a la captura con el fin de minimizar el estrés debido a la manipulación (Davis 2005).

Se prepararon extendidos de sangre en portaobjetos individuales, los cuales fueron secados al aire y luego fijados durante 10 minutos con metanol. Posteriormente en el laboratorio los extendidos fueron teñidos con la tinción May-Grünwald y Giemsa (BIOPUR). Los extendidos fueron observados en microscopio óptico. Se observaron las capas finas que contenían densidades similares de eritrocitos (Campbell 1994) y se realizó la identificación y conteo de leucocitos (Fig. 1). Se obtuvo la proporción de los distintos tipos de leucocitos a partir del conteo de 100 leucocitos cuantificados utilizando un aumento de 1000x. Los leucocitos contados en cada extendido se expresaron como porcentaje de basófilos (B%), heterófilos (H%), eosinófilos (E%), linfocitos (L%) y monocitos (M%) (Campbell 1994). Se calculó la relación de heterófilos/linfocitos (H/L) con los valores de cada uno en un conteo total de 100 leucocitos por individuo. Esta relación fue utilizada como indicadora de estrés (Davis et al. 2008). En general, los valores más altos de la relación H/L indican niveles elevados de estrés individual, mientras que valores bajos indican lo contrario. Se realizó el conteo total de leucocitos cada 10 000 eritrocitos (CTL). Esto se realizó contando el número total de eritrocitos en un campo de visión del microscopio y luego multiplicado por el número

de campos que fueron escaneados en el preparado para alcanzar 100 leucocitos (Lobato et al. 2005).

A partir de los valores de peso corporal (g) y largo de tarso (mm) calculamos el índice de masa escalado para las Lechucitas de ambientes urbanos y rurales siguiendo los procedimientos descritos por Bókony et al. (2012). Dado que se ha visto que estas variables no varían entre sexos (Baladrón et al. 2015), se utilizaron datos de ambos sexos conjuntamente. El índice de masa escalado fue calculado como: masa corporal * media de largo de tarso/largo de tarso individual (Bókony et al. 2012).

Análisis de datos

Se realizaron comparaciones de los valores de leucocitos entre individuos de ambientes urbanos y rurales (solo para adultos) y entre edades (pichones y adultos), mediante pruebas *t*-student y pruebas no paramétricas *U* de Mann-Whitney cuando los datos no mostraron una distribución normal. Se comparó el CTL entre ambientes (solo para adultos) y entre edades (pichones y adultos) a través de pruebas *U* de Mann-Whitney. Se compararon los valores del Índice de Masa Corporal Escalado entre individuos de ambientes urbanos y rurales con pruebas *U* de Mann-Whitney (Zar 2010). Se tomaron al azar 4 frotis sanguíneos y fueron escaneados dos veces para evaluar la precisión de la observación, el valor de repetitividad de la medición entre escaneos fue elevado ($r = 0.93$, $P < 0.05$). La repetitividad de las mediciones se evaluó utilizando la función `rpt.remLMM` (paquete `rptR`) del software R, Versión 3.0.1 (R Development Core Team 2015).

RESULTADOS

Los conteos leucocitarios relativos, la relación H/L y el CTL no mostraron diferencias entre Lechucitas de ambientes urbanos y rurales ($P > 0.05$, Tabla 1). Por este motivo, se

tomaron de manera conjunta los datos provenientes de ambos ambientes para realizar las comparaciones entre edades. Los conteos leucocitarios relativos fueron más altos para los pichones que para los adultos, mientras que la relación H/L y los valores de %E fueron mayores para adultos que para pichones. No se registraron diferencias entre edades para %H, %M, %B y para CLT (Tabla 2). Los valores de los conteos relativos de leucocitos, las relaciones H/L, los CLT y los estadísticos se presentan en la Tabla 2. No se detectaron diferencias en el Índice de Masa Corporal Escalado de las Lechucitas entre ambientes (urbano: promedio = 202.5, rango: 177.9- 233.1, n = 42; rural: promedio = 195.7, rango = 147.9-268.2, n = 9; $U = 212.0$, $P = 0.62$). En la Fig. 1 se observan distintos tipos de células sanguíneas.

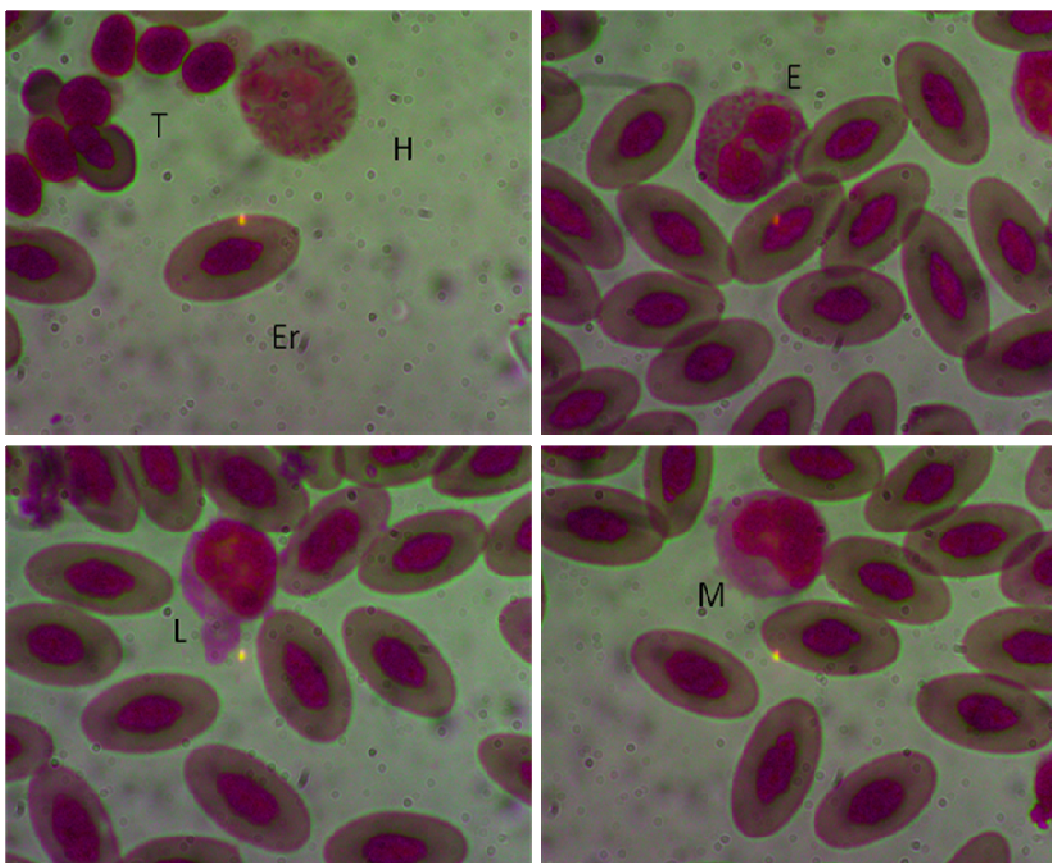


Figura 1. Foto de extendido sanguíneo de *Athene cucularia*. Se observan los eritrocitos nucleados (Er), trombocitos (T), heterófilos (H), linfocitos (L), eosinófilos (E) y monocitos (M).

Tabla 1. Valores promedio (\pm error estándar) y rangos de los perfiles leucocitarios, conteo de leucocitos totales (CLT), y relación heterófilos/linfocitos (H/L) de individuos adultos de Lechucita Vizcachera pertenecientes a ambientes rurales y urbanos. El tamaño muestral (n) se indica entre paréntesis. Los tipos de leucocitos se expresan como porcentaje de heterófilos (H%), linfocitos (L%), monocitos (M%), basófilos (B%) y eosinófilos (E%).

	Rural (n = 4)		Urbano (n = 11)		Prueba de Mediana/Media	P
	Media \pm SE	Rango	Media \pm SE	Rango		
H%	36.1 \pm 0.4	33.6 - 37.1	37.5 \pm 3.6	19.0 - 61.4	$t = -0.2$	0.81
L%	40.3 \pm 0.7	38.9 - 42.0	35.7 \pm 1.9	25.8 - 47.6	$t = 1.3$	0.13
M%	1.0 \pm 0.7	0.88 - 3.1	0.9 \pm 0.3	0.75 - 3.3	$U = 21$	0.94
B%	0.2 \pm 0.2	0.0 - 0.7	0.1 \pm 0.1	0.00 - 1.65	$U = 19$	0.58
E%	22.3 \pm 1.9	18.1 - 27.2	25.5 \pm 2.6	15.3 - 37.1	$U = 27$	0.55
H/L	0.9 \pm 0.02	0.8 - 0.9	1.1 \pm 0.1	0.4 - 1.5	$U = 29$	0.39
CLT	94.5 \pm 25.2	121.0 - 160.0	91.0 \pm 9.5	59.0 - 132.0	$U = 23.5$	1.00

Tabla 2. Valores promedio (\pm error estándar) y rangos de los perfiles leucocitarios, conteo de leucocitos totales (CLT), y relación heterófilos/linfocitos (H/L) de individuos adultos y pichones de Lechucita Vizcachera. El tamaño muestral (n) se indica entre paréntesis. Los tipos de leucocitos se expresan como porcentaje de heterófilos (H%), linfocitos (L%), monocitos (M%), basófilos (B%) y eosinófilos (E%).

	Pichones (n = 10)		Adultos (n = 15)		Prueba de Medianas/Medias	Valores de P
	Media \pm SE	Rango	Media \pm SE	Rango		
H%	34.3 \pm 2.2	27.3 - 46.4	37.2 \pm 2.5	19.0 - 61.4	$U = 91$	0.36
L%	51.9 \pm 2.3	39.5 - 63.0	36.9 \pm 1.5	25.8 - 47.6	$t = -5.6$	<0.001
M%	0.5 \pm 0.2	0.0 - 1.4	0.9 \pm 0.3	0.0 - 3.3	$U = 82$	0.69
B%	0.0 \pm 0.0	0.0 - 0.0	0.2 \pm 0.1	0.0 - 1.6	$U = 85$	0.26
E%	13.3 \pm 2.3	6.0 - 27.2	24.7 \pm 1.9	12.9 - 37.1	$t = 3.7$	0.001
H/L	0.6 \pm 0.1	0.5 - 1.0	1.1 \pm 0.1	0.4 - 2.4	$U = 120$	0.01
CLT	76.6 \pm 7.1	48.0 - 127.0	92.0 \pm 9.3	39.0 - 160.0	$U = 96.5$	0.24

DISCUSIÓN

En este capítulo, no se encontraron diferencias en el perfil de leucocitos y la relación H/L de los individuos de Lechucita Vizcachera que habitan en ambientes urbanos en comparación con los de ambientes con menor intervención antrópica, como son los rurales. Estos resultados, combinados con la ausencia de variación en el Índice de Masa Corporal Escalado entre poblaciones urbanas y rurales, evidenciarían que los factores causantes de estrés asociados al ambiente urbano no afectarían significativamente a la Lechucita, al menos

a nivel fisiológico. Sin embargo, a pesar de que los errores estándares de nuestros datos fueron estrechos, indicando una baja dispersión de datos, cabe señalar que los resultados provienen de un tamaño muestral relativamente pequeño (especialmente para el ambiente rural) por lo que deberían ser tomados con cautela.

. Si bien los recuentos de células blancas y el índice H/L son utilizados con frecuencia como estimadores de estrés basal, se ha sugerido es una medida que debe ser tomada con reserva dado que los leucocitos en el torrente sanguíneo varían en respuesta a situaciones de inflamación o infección. Además, se sugiere que la relación H/L debe ser considerada una medida complementaria a la medición de Cort en sangre y que ambas no son reemplazables entre sí (Müller et al. 2011). En este sentido, sería interesante incorporar esta información a futuros estudios comparativos del estado fisiológico entre situaciones ambientales. Recientemente, Rebolo-Ifrán et al. (2015) reportaron que plumas provenientes de individuos de Lechucitas de zonas urbanas y rurales presentaron valores similares de corticosterona, sugiriendo que la vida en ambientes urbanos no constituyen una fuente adicional de estrés para los individuos que viven en este ambiente. En este sentido, la no variación entre valores leucocitarios y relación H/L observada en este capítulo daría soporte y complementaría la sugerencia de Rebolo-Ifrán et al. (2015).

En cuanto a los recuentos relativos de leucocitos (linfocitos, neutrófilos, eosinófilos, monocitos y basófilos) para la Lechucita fueron, en general, más bajos que los reportados para otras especies de rapaces (por ejemplo: Hernández et al. 1990, Powers et al. 1994, Black et al. 2011, Szabo et al. 2014). Sin embargo, las diferencias entre los trabajos mencionados y nuestro estudio podrían estar asociados al hecho de que la mayoría de esos reportes son de aves mantenidas en cautiverio, mientras que nuestros resultados provienen de individuos capturados *in situ* para la toma de sangre y luego liberados en el campo.

El porcentaje de eosinófilos que circula en sangre fue similar entre de individuos de ambientes urbanos y rurales. Los valores obtenidos en nuestro estudio (%E = 22-25) fueron mayores a lo reportado para otras aves no rapaces (E% = 2.5 - 5.6; Davis et al. 2008). Este tipo de leucocito se encuentra estrechamente asociado a la carga parasitaria y su actividad (Johnstone et al. 2012). Sin embargo, se ha reportado que las aves rapaces tienden a presentar valores relativos de eosinófilos por encima de los valores registrados para otras especies de aves no rapaces (Copete-Sierra 2013).

Los monocitos, que están asociados con la defensa contra infecciones y bacterias, y los basófilos, que están involucrados en los procesos de inflamación (Campbell 1994), estuvieron presentes en porcentajes bajos en las muestras de Lechucita con relación a otros tipos de leucocitos (menos de 1% en ambos hábitats).

En este trabajo se encontró que los conteos relativos de linfocitos fueron distintos para adultos y pichones de Lechucita Vizcachera. Esto podría estar relacionado con el estado de maduración y el sistema linfático de los pichones. En las aves, el timo y la bolsa de Fabricio son hasta 10 veces mayores en pichones que en adultos, y los linfocitos suelen ser más abundantes en las etapas más tempranas del desarrollo, ya que son más vulnerables a las infecciones (Maxwell y Robertson 1998). A medida que los pichones crecen, el número de linfocitos disminuye, así como también decrecen los órganos linfoides (Maxwell y Robertson 1998, Dunbar et al. 2005). Por este motivo, a pesar de que la relación H/L ha sido un parámetro importante de la condición física y un indicador de estrés confiable (Maxwell y Robertson 1998, Dunbar et al. 2005), las diferencias de esta relación entre edades se debería principalmente al estado madurativo de los pichones más que a una diferencia explicada por variaciones en situaciones de estrés. Si bien la comparación del perfil de leucocitos entre grupos etarios no representan el objetivo de este capítulo ni el objetivo general de esta tesis, dado que se trata de un primer reporte para la especie, se considera que es importante ya que

resalta la necesidad de considerar la edad de los individuos al realizar comparaciones entre distintas situaciones.

En resumen, si bien los datos obtenidos en este capítulo son limitados, sientan base sobre el conocimiento sobre el perfil leucocitario de la especie en dos contextos ambientales. En líneas generales, dada la no diferencia en los parámetros hematológicos el índice de masa corporal escalada entre Lechucitas de ambientes urbanos y rurales, podría sugerirse que la vida en el ambiente urbano no afectaría de forma significativa el estado corporal de Lechucita Vizcachera. Sin embargo, sería interesante ampliar este trabajo para poder responder preguntas de manera más concreta.

CAPÍTULO 7

INTEGRACIÓN Y CONCLUSIONES FINALES DE LA TESIS



INTEGRACIÓN Y CONCLUSIONES FINALES DE LA TESIS

El objetivo general de esta tesis fue estudiar las estrategias adaptativas que le permiten a la Lechucita Vizcachera colonizar y reproducirse en ambientes urbanos. En líneas generales esta tesis abordó este objetivo desde diferentes aristas. De esta manera, se caracterizó la cronología reproductiva, el éxito reproductivo, la productividad, el comportamiento reproductivo, la respuesta de defensa a lo largo del periodo reproductivo, la percepción del riesgo y la respuesta de defensa frente a humanos y animales domésticos y, durante la exposición repetida a una persona comparando poblaciones de Lechucitas urbanas y rurales. Se estudió la utilización de sonidos de alarma inter-específicos, la condición fisiológica y corporal y finalmente, se estudiaron parámetros genéticos poblacionales de Lechucitas Vizcacheras que habitan ambientes urbano y rurales. Entre los principales hallazgos de esta tesis se destaca la variación en el éxito reproductivo entre parejas reproduciendo en ambientes urbanos y rurales, las variaciones en cuidado parental, las variaciones de comportamiento de defensa en respuesta a estímulos asociados a los ambientes urbanos como la presencia de personas y animales domésticos, la similitud en condiciones corporales y estado fisiológico entre Lechucitas urbanas y rurales.

Si bien se ha sugerido que los ambientes urbanos representan un desafío para las especies que intenten establecerse en ellos, queda en evidencia en esta tesis que las Lechucitas Vizcacheras no tendría limitaciones para colonizar y reproducirse tanto en ambientes rurales como en ambientes periurbanos y urbanos. Esta aseveración es respaldada por el mayor éxito reproductivo y el menor porcentaje de pérdida de nidada en parejas urbanas comparadas con las rurales. Por otro lado, antecedentes de trabajos comparativos de reproducción en ambientes urbanos y rurales sugieren que el tamaño de camada suele ser menor en sitios urbanos comparado con rurales (revisado en Chamberlein et al. 2009). Sin embargo, en esta tesis, tanto el tamaño de puesta, como el número promedio de pichones por pareja exitosa fue

similar entre ambientes, sugiriendo que ambos sitios serían aptos para que nidifique exitosamente la Lechucita. En concordancia con reportes previos para aves nidificando en sitios urbanos, se observó que una mayor proporción de Lechucitas urbanas, comparadas con las rurales, comenzaron su temporada reproductiva más temprano en el año (mediados de octubre *vs.* principios de noviembre en urbano y rural respectivamente). En general, las Lechucitas rurales tendieron a estar más alertas durante el periodo reproductivo que las urbanas. Este comportamiento fue registrado principalmente en los machos durante la etapa de incubación, y evidenciaría una mayor carga de depredadores en dicho ambiente.

Es esperable que las Lechucitas que logran colonizar ambientes urbanos perciban el riesgo de manera diferente a las Lechucitas que habitan ambientes rurales. Esto se explica principalmente por la relación entre los costos y beneficios del comportamiento de vigilancia. Si bien mantenerse alerta representaría un beneficio, dado que este comportamiento se encuentra directamente relacionado con una disminución del riesgo de depredación, mantenerse alerta frente a los estímulos constantes asociados a los ambientes urbanos puede representar un costo energético demasiado alto. En este sentido, en esta tesis a través de los análisis de las distancias de iniciación de vuelo, de agresividad y comportamiento de retorno al nido de individuos urbanos y rurales pudimos establecer que existe una percepción diferencial del riesgo entre individuos de ambos sitios.

Más aún, el conjunto de resultados sobre percepción del riesgo y comportamiento de defensa obtenidos para Lechucitas urbanas y rurales demostraría que rasgos que han sido considerados invariables y que constituyen la personalidad de un animal (por ejemplo: FID o nivel de agresividad) pueden modificarse en respuesta a las demandas reproductivas, al tipo de estímulo (por ejemplo: humano o animal doméstico), o la frecuencia del mismo. Esto también indicaría que las estrategias comportamentales de las Lechuzas permitirían cierto nivel de plasticidad que le permitiría colonizar ambientes urbanos. En relación a la percepción

del riesgo en ambientes urbanos y rurales se han planteado dos hipótesis centrales que explicarían la presencia de esta especie en sitios urbanos: por un lado se ha planteado que la urbanización podría estar actuando como una fuerza selectiva, de modo que dentro de una población solamente aquellos individuos con temperamentos o personalidades más tolerantes serían capaces de vivir y ser exitosos en áreas urbanas (es decir, hipótesis de selección de hábitat condicionada por el comportamiento, Carrete y Tella 2010). Por el otro, se plantea que los individuos podrían habituarse a estímulos frecuentes asociados a la urbanización (como por ejemplo, humanos y animales domésticos) (Blumstein 2016). Sin embargo, ambas hipótesis podrían ser válidas si los ambientes urbanos seleccionaran individuos plásticos en su comportamiento capaces de afrontar tanto las condiciones de este ambiente como las de los sitios rurales. En relación a la primera hipótesis, la distribución no aleatoria de los individuos en sitios rurales y urbanos basada en su temperamento podría generar cambios en los parámetros genéticos poblacionales y generar una estructuración genética poblacional. Sin embargo, si bien en esta tesis se evidenció un patrón diferencial de comportamiento entre Lechucitas urbanas y rurales, esta hipótesis no fue validada indicando que las Lechucitas en el área de estudio no presentarían una segregación espacial condicionada por el comportamiento y se comportarían como una población continua. Por otro lado, los resultados provenientes de la Sección 3 del Capítulo 3 serían concordantes con la segunda hipótesis dado que deja en evidencia que las Lechucitas rurales son capaces de diferenciar cuando un estímulo no representa una amenaza y de habituarse al mismo.

Asimismo, se evidenció en esta tesis que la relación de la Lechucita Vizcachera con el Tero común, una especie con la cual comparte hábitat, se mantiene independientemente del contexto ambiental. En este sentido, se demostró que tanto las Lechucitas Vizcacheras urbanas y rurales distinguen y responden de manera similar frente a vocalizaciones de Teros y los utilizan como señales de alarma, volviéndose más alerta ante sus vocalizaciones. Esta

asociación es ventajosa para la Lechucita dado que se beneficiaría de las vocalizaciones de alarma de los Teros, pudiendo reducir de esta manera el tiempo invertido en vigilancia e invertirlo en otra actividad como por ejemplo, búsqueda de alimento. Reconocer las señales de alarma de otra especie como indicadora de una amenaza, independientemente del ambiente, representaría una ventaja adaptativa.

Finalmente, dejo asentada una línea de base del perfil leucocitario para la Lechucita Vizcachera para ser considerada en futuros trabajos donde se compare entre distintas situaciones ambientales. Se observó que los valores medios de dicho perfil fue similar entre Lechucitas de ambientes urbanos y rurales al igual que índice de condición corporal (Índice de masa escalado).

La sumatoria de los resultados obtenidos en el transcurso de esta tesis, demuestran que la Lechucita Vizcachera es una especie capaz de responder de manera adaptativa a las modificaciones en el ambiente asociados al proceso de urbanización Sin embargo aún quedan interrogantes por responder.

PREGUNTAS POR RESPONDER

Durante esta tesis se han podido responder varias de las interrogantes planteadas, pero también han dado pie a la generación de nuevos interrogantes.

Resultaría interesante determinar si los patrones de movimiento diario de las Lechucitas que habitan ambientes urbanos y rurales varían en relación a la disponibilidad de recursos asociadas a cada tipo de ambiente. En este sentido, si bien la teoría de colonización de ambientes urbanos asume que en estos sitios la disponibilidad de recursos es mayor debido a su heterogeneidad ambiental, sería importante determinar las fuentes potenciales de obtención de recursos alimentarios y los movimientos en relación a estas fuentes. Esta información podría ser cruzada con características de historia de vida como inversión parental, defensa del nido, entre otras. Por otro lado sería interesante profundizar en el estudio

de las características fisiológicas y sanitarias de las Lechucitas urbanas y rurales (Por ejemplo: parásitos, nivel de glucosa en sangre, frotis sanguíneos, hematocrito). Esto complementaría los datos ya existentes dándole mayor consistencia a los resultados y podría brindar información sobre el efecto del ambiente y los estresores asociados sobre la condición individual de cada organismo. Sería interesante también poder realizar estudios comparativos dónde se evalúe la capacidad de resolución de problemas y asociar estos resultados con la capacidad de vivir en ambientes urbanos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andersen DE. 1990. Nest-defense behavior of Red-tailed Hawks. *Condor* 92: 991-997.
- Andersson M, Wiklund CG y Rundgren H. 1980. Parental defense of offspring: a model and an example. *Animal Behaviour* 28: 536-542.
- Austin V, Savary J y Smith P. 2016. Burrowing Owls *Athene cunicularia* (Strigidae) respond with increased vigilance to calls of the Curl-crested Jay *Cyanocorax cristatellus* (Corvidae) in the Paraguayan Cerrado. *Revista Brasileira de Ornitologia* 24: 1-8.
- Azpiros AC, Isacch JP, Dias RA, Di Giacomo A, Suertegaray Fontana C y Palarea CM. 2012. Ecology and conservation of grassland birds in southeastern South America: a review. *Journal of Field Ornithology* 83:217-246.
- Baladrón AV, Bó MS, Bechard MJ y Malizia AI. Relative abundance, habitat use, and seasonal variability of raptor assemblages in the Flooding Pampas of Argentina. *Journal of Raptor Research* (en prensa).
- Baladrón AV, Cavalli M, Bó MS, Isacch JP y Madrid EA. 2015. Body size and sexual dimorphism in the southernmost subspecies of the Burrowing Owl (*Athene cunicularia cunicularia*). *Journal of Raptor Research* 49:479-485.
- Baladrón AV, Isacch JP, Cavalli MC y Bó MS. 2016. Multiple-scale nest-site selection by Burrowing Owls in the Pampas of Argentina. *Acta Ornithologica* 51:137-150
- Banks PB, Bryant JV. 2007. Four-legged friend or foe? Dog walking displaces native birds from natural areas. *Biological Letters* 3: 611-613.
- Bates D, Maechler M y Bolker B. 2013. lme4: Linear mixed-effects models using S4 classes. R package version 0.999999-2. <http://CRAN.R-project.org/package=lme4>.
- Bechard M. 1981. DDT and hexachlorobenzene residues in southeastern Washington Swainson's Hawks (*Buteo swainsoni*). *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 26: 248-253.

- Beck NR y Heinsoh R. 2006. Group composition and reproductive success of cooperatively breeding white-winged choughs (*Corcorax melanorhamphos*) in urban and non urban habitat. *Austral ecology* 1: 1-6.
- Bell A, Hankison SJ, Laskowski KL. 2009. The repeatability of behaviour: a meta- analysis. *Animal Behaviour*. 1-13.
- Belloq MI. 1987. Selección de hábitat de caza y depredación diferencial de *Athene cunicularia* sobre roedores en ecosistemas agrarios. *Revista Chilena de Historia Natural* 60: 81-86.
- Belloq MI. 1993. Reproducción, crecimiento y mortalidad de la Lechucita Vizcachera (*Speotyto cunicularia*) en agrosistemas pampeanos. *Hornero* 13: 272-276.
- Belloq MI. 1997. Ecology of the burrowing owl in the agroecosystems of central Argentina. *Journal of Raptor Research* 9: 52-57.
- Belthoff JR, King AR, Doremus J y Smith T. 1995. Monitoring post-fledging Burrowing owls in the southern Idaho. Idaho Bureau of land management. Technical Bulletin 95: 8.
- Berardelli D, Desmond MJ y Murray L. 2010. Reproductive success of Burrowing Owls in urban and grassland habitats in Southern New Mexico. *Wilson Journal of Ornithology* 122:51-59.
- Bernardos J y Zaccagnini ME. 2011. El uso de insecticidas en cultivos agrícolas y su riesgo potencial para las aves en la Región Pampeana. *Hornero* 26: 055-064.
- Bilenca DN y Miñarro F. 2004. Identificación de áreas valiosas de pastizal en las pampas y campos de Argentina, Uruguay y Sur de Brasil. Fundación Vida silvestre Argentina, Argentina.
- Biondi LM, Medina A, Fuentes GM, Córdoba RS, Bó MS, Vassallo, AI, Muzio R. 2015. Flexibilidad de aprendizaje en Milvago Chimango: Implicancias para su adaptación a ambientes urbanizados. XV Reunión Nacional y IV Encuentro Internacional AACC.

- 2° Congreso Nacional de Biología del Comportamiento COMPORTA. San Miguel de Tucumán, Argentina.
- Black PA, McRuer DL y Horne LA. 2011. Hematologic parameters in raptor species in a rehabilitation setting before release. *Journal of Avian Medicine and Surgery* 25:192-198.
- Blair RB. 1996. Land use and avian species diversity along an urban gradient. *Ecological applications* 6: 506-519.
- Bloom PH, Clark WS y Kidd JW. 2007. Capture techniques. En: *Raptor research and management techniques* (Editores: Bird DM. y Bildstein KL). Hancock House Publishers. Canada.
- Blumstein DT. 2006. Developing an evolutionary ecology of fear: how life history and natural history traits affect disturbance tolerance in birds. *Animal Behaviour*. 71: 389-399.
- Blumstein DT. 2014. Attention, habituation, and antipredator behaviour: implications for urban birds. En: *Avian Urban Ecology. Behavioural and Physiological adaptations* (Editores: Gil D y Brumm H). Oxford University Press, Oxford. Reino Unido.
- Blumstein DT. 2016. Habituation and sensitization: new thoughts about old ideas. *Animal Behaviour* 120: 255-262.
- Bókony V, Seress G, Nagy S, Lendvai AZ y Liker A. 2012. Multiple indices of body condition reveal no negative effect of urbanization in adult house sparrows. *Landscape and Urban Planning* 104: 75-84.
- Bonier F. 2012. Hormones in the city: Endocrine ecology of urban birds. *Hormones and behaviour* 61: 763-772.
- Botelho ES y Arrowood PC. 1998. The effect of burrow site use on the reproductive success of partially migratory population of western burrowing owls (*Speotyto cunicularia hipogea*). *Journal of raptor research* 32: 233-240.

- Brown C. 2012. Experience and learning in changing environments. En: Behavioural response to a changing world (Editores: Candolin U y Wong BBM). Editorial de la Universidad de Oxford. Reino Unido.
- Brown GE, Demers EE, Joyce BJ, Ferrari MC y Chivers DP. 2015. Retention of neophobic predator recognition in juvenile convict cichlids: effects of background risk and recent experience. *Animal Cognition* 18: 1331-1338.
- Brown GE, Ferrari MC, Elvidge CK, Ramnarine I, Chivers DP. 2013. Phenotypically plastic neophobia: a response to variable predation risk. *Proceedings of the Royal Society B.* 280: 20122712.
- Bryan RD y Wunder MB. 2013. Western Burrowing Owls (*Athene cunicularia hypugaea*) Eavesdrop on Alarm Calls of Black-Tailed Prairie Dogs (*Cynomys ludovicianus*). *Ethology* 119: 1-9
- Bub H. 1991. Bird trapping and bird banding: a handbook of trapping methods all over the world. Editorial de la Universidad de Cornell. Estados Unidos
- Campbell T. 1994. Hematology. En: Avian Medicine: Principles and Application (Editores: Ritchie BW, Harrison GJ y Harrison LR). Wingers Publishing. Estados Unidos.
- Candolin U y Wong B. 2012. Sexual selection in changing environments: consequences for individuals and populations. En: Behavioural responses to a changing world. (Candolin U y Wong B Editores). Oxford University Press. Reino Unido
- Canevari M, Canevari P, Carrizo R, Harris G, Rodríguez Mata J y Straneck RJ. 1991. Nueva guía de las aves argentinas. Fundación Acindar. Argentina.
- Cardoni DA, Favero M, y Isacch JP. 2008. Recreational activities affecting the habitat use by birds in Pampa's wetlands, Argentina: implications for waterbird conservation. *Biological conservation* 141: 797-806.

- Caro T. 2005. Antipredator defences in birds and mammals. Editorial de la Universidad de Chicago. Estados Unidos.
- Carrete M y Tella JL. 2010. Individual consistency in flight initiation distances in burrowing owls: a new hypothesis on disturbance-induced habitat selection. *Biology letters* 6: 167-170.
- Carrete M y Tella JL. 2011. Inter-individual variability in fear of humans and relative brain size of the species are related to contemporary urban invasion in birds. *PLoS One* 6:18859.
- Carrete M y Tella JL. 2013. High individual consistency in fear of humans throughout the adult lifespan of rural and urban burrowing owls. *Scientific reports* 3: 3524-3524.
- Carrete M, Martínez-Padilla J, Rodríguez- Martínez S, Rebolo- Ifrán N, Palma A y Tella JL. 2016. Heritability of fear of humans in urban and rural populations of a bird species. *Scientific Reports* 6: 31060.
- Catlin DH y Rosenberg DK. 2014. Association of sex, fledging date, and sibling relationships with post-fledging movements of Burrowing owls in a nonmigratory population in the Imperial Valley, California. *Journal of Raptor Research*. 48:106-117
- Cavalli M, Baladrón AV, Isacch JP, Bó MS y Martínez G. 2014b. Social networks and ornithology studies: an innovative method for rapidly accessing data on conspicuous bird species. *Biodiversity and Conservation* 23: 2127-2134.
- Cavalli M, Baladrón AV, Isacch JP, Martínez G y Bó MS. 2014a. Prey selection and food habits of breeding Burrowing Owls (*Athene cunicularia*) in natural and modified habitats of Argentine pampas. *Emu* 114: 184-188.
- Chace JF y Walsh JJ. 2006. Urban effects on native avifauna: a review. *Landscape and urban planning*. 74: 46-69.

- Chaine AS y Clobert J. Dispersal. En: Behavioural responses to a changing world (Editores: Candolin U y Wong B). Editorial Oxford. Reino Unido
- Chamberlain DE, Cannon AR, Toms MP, Leech DI, Hatchwell BJ y Gaston KJ. 2009. Avian productivity in urban landscapes: a review and meta-analysis. *Ibis* 151: 1-18.
- Christensen RHB. 2012. Regression Models for Ordinal Data R package version 2015.6-28. <https://cran.r-project.org/web/packages/ordinal/index.html>.
- Clobert AS, Baguette M, Benton T y Bullock J. 2012. Dispersal ecology and evolution. Editorial Oxford. Reino Unido.
- Codesido M, Gonzalez-Fischer C y Bilenca D. 2011. Distributional changes of landbird species in agroecosystems of central Argentina. *Condor* 113: 266-273.
- Coloumbe NH. 1971. Behavior and population ecology of the Burrowing Owl, *Speotyto cunicularia*, in the Imperial Valley of California. *Condor* 73: 162-176.
- Comparatore V, Martinez MM, Vasallo AI, Barg M e Isacch JP. 1996. Abundancia y relaciones con el habitat de aves y mamíferos en pastizales de *Paspalum quadrifarium* (Paja colorada) manejados con fuego (Provincia de Buenos Aires, Argentina). *Interciencia* 21: 228-237.
- Conway CJ, Garcia V, Smith MD y Hughes K. 2008. Factors affecting detection of burrowing owl nests during standardized surveys. *Journal of Wildlife Management* 72: 688-696.
- Conway CJ, Garcia V, Smith MD, Ellis LA y Whitney JL. 2006. Comparative demography of Burrowing Owls in agricultural and urban landscapes in southeastern Washington. *Journal of Field Ornithology* 77: 280-290.
- Copete-Sierra M. 2013. Aspectos Generales de la Evaluación Hematológica en Fauna Silvestre y no Convencional. Memorias de la Conferencia Interna en Medicina y Aprovechamiento de Fauna Silvestre, Exótica y no Convencional 9: 17-55.
- Crawley MJ. 2007. The R Book. Wiley. Reino Unido.

- Danchin E, Giraldeau LA, Valone TJ y Wagner RH. 2004. Public information: from noisy neighbours to cultural evolution. *Science* 305: 487-491.
- Davis AK, Maney DL y Maerz JC. 2008. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists. *Functional Ecology* 22:760-772.
- Davis AK. 2005. Effect of handling time and repeated sampling on avian white blood cell counts. *Journal of Field Ornithology* 76: 334-338.
- del Hoyo J, Elliot A, Sargatal J. 1994. Handbook of the Birds of the World. Vol. 2. Ediciones Lynx. España.
- Delibes M, Travaini A, Zapata SC y Palomares F. 2003. Alien mammals and the trophic position of the lesser grison (*Galictis cuja*) in Argentinean Patagonia. *Canadian Journal of Zoology* 81: 157-162.
- Desloire S, Valiente Moro C, Chauve C y Zenner L. 2006. Comparison of four methods of extracting DNA from *D. gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *Veterinary Research* 37: 725-732
- Desmond M y Savidge J. 1996. Factors Influencing Burrowing Owl (*Speotyto cunicularia*) Nest Densities and Numbers in Western Nebraska. *American Midland Naturalist*. 136: 143-148.
- Deviche P y Davies S. 2014. Reproductive phenology of urban birds Environmental cues and mechanisms. En: *Avian Urban ecology* (Editores: Gil D y Brumm H.). Editorial Oxford. Reino Unido.
- Dingemanse NJ, Kazem AJ, Réale D, Wright J. 2010. Behavioural reaction norms: animal personality meets individual plasticity. *Trends in Ecology and Evolution*. 25: 81-89
- Ditchkoff SS, Saalfeld ST y Gibson CJ. 2006. Animal behavior in urban ecosystems: modifications due to human-induced stress. *Urban Ecosystems* 9: 5-12.

- Dominoni DM y Partecke J. 2015. Does light pollution alter daylength? A test using light loggers on free-ranging European blackbirds (*Turdus merula*). Philosophical Transactions of the Royal Society B. DOI:10.1098/rstb.2014.0118.
- Ducatez S, Audet JN, Rodriguez JR Kayello L y Lefebvre L. 2016. Innovativeness and the effects of urbanization on risk-taking behaviors in wild Barbados birds. Animal Cognition 1-10.
- Dunbar MR, Greg MA, Crawford JA, Giordano MR y Tornquist SJ. 2005. Normal hematologic and biochemical values for pre-laying greater sage grouse (*Centrocercus urophasianus*) and their influence on chick survival. Journal of Zoo and Wildlife Medicine 36: 422-429.
- Echeverria AI, Vassallo AI y Isacch JP. 2006. Experimental analysis of novelty responses in a bird assemblage inhabiting a suburban marsh. Canadian Journal of Zoology 84: 974-980.
- Eggers S, Griesser M y Ekman J. 2005. Predator-induced plasticity in nest visitation rates in the Siberian jay (*Perisoreus infaustus*). Behavioral Ecology 16: 309-315.
- Ensminger AL y Westneat DF. 2012. Individual and sex differences in habituation and neophobia in house sparrows (*Passer domesticus*). Ethology 118: 1085-1095.
- Epp KJ y Gabor R. 2008. Innate and Learned Predator Recognition Mediated by Chemical Signals in *Eurycea nana*. 114: 607-615.
- Evans J, Boudreau K y Hyman J. 2010. Behavioural syndromes in urban and rural populations of song sparrows. Ethology 116: 588-595.
- Evans KL, Chamberlain DE, Hatchwell BJ, Gregory RD y Gaston KJ. 2011. What makes an urban bird? Global Change Biology 17: 32-44.

- Fasano JL, Hernandez MA, Isla FI y Schnak EJ. 1982. Aspectos evolutivos y ambientales de la Laguna Mar Chiquita, Provincia de Buenos Aires, Argentina. *Oceanologica Acta* 4: 282-285.
- Fernández-Juricic E, Sallent A, Sanz R y Rodríguez-Prieto I. 2003. Testing the risk-disturbance hypothesis in a fragmented landscape: nonlinear responses of house sparrows to humans. *Condor* 105: 316-326.
- Fillooy J y Bellocq MI. 2007. Respuesta de las aves rapaces al uso de la tierra: un enfoque regional. *Hornero* 22: 131-140.
- Fisher RJ, Poulin RG, Todd LD y Brigham RM. 2004. Nest stage, wind speed, and air temperature affect the nest defence behaviours of Burrowing Owls. *Canadian Journal of Zoology* 82: 707-713.
- Fokidis HB, Greiner EC y Deviche P. 2008. Interspecific variation in avian blood parasites and haematology associated with urbanization in a desert habitat. *Journal of Avian Biology* 39: 300-310.
- Freeland J. 2005. *Molecular Ecology*. Editorial: Wiley e hijos. Reino Unido.
- Friard O y Gamba M. 2016. BORIS: a free, versatile open-source event-logging software for video/audio coding and live observations. *Methods in Ecology and Evolution*.
- Frid A y Dill LM. 2002. Human-caused disturbance stimuli as a form of predation risk. *Conservation Ecology* 6: 11.
- Gaibani G y Csermely D. 2007. Behavioural Studies. En: *Raptor Research and Management Techniques* (Editores: Bird D y Bildstein K). Editorial Hancock House Publishers. Estados Unidos.
- Galeotti P, Tavecchia G y Bonetti A. 2000. Parental defence in Long-eared Owls *Asio otus*: effects of breeding stage, parent sex and human persecution. *Journal of Avian Biology* 31: 431-440.

- García V y Conway CJ. 2009. Use of video probe does not affect Burrowing Owl reproductive parameters or return rates. *Journal of Wildlife Management* 73: 154-157.
- Ghersa CM y León RJC. 2001. Ecología del paisaje pampeano: consideraciones para su manejo y conservación. *Ecología de Paisajes*. Editorial: Facultad de Agronomía de Buenos Aires. Argentina.
- Greenwood PJ. 1980. Mating systems, philopatry and dispersal in birds and mammals. *Animal behavior* 28:1140-1162
- Grissom N y Bhatnagar S. 2009. Habituation to repeated stress: Get used to it. *Neurobiology of Learning and Memory*. 92: 215-224.
- Haley K. 2006. Burrowing owl conservation and management. Florida Fish and Wildlife Conservation Commission. Conserve Wildlife Grant 0506-03. Reporte final- 30 de Junio.
- Halfwerk W y Slabbekoorn H. 2014. The impact of anthropogenic noise on avian communication and fitness. En: *Avian Urban ecology, Behavioural and physiological adaptations* (Editores: Gil D y Brumm H.). Editorial Oxford. Editorial de la Universidad de Oxford. Reino Unido.
- Haug EA y Oliphant LW. 1990. Movements, Activity Patterns, and Habitat Use of Burrowing Owls in Saskatchewan. *Journal of Wildlife Management* 54: 27-35
- Haug EA, Millsap BA y Martell MS. 1993. Burrowing Owl (*Speotyto cunicularia*). En: *The Birds of North America*. Number 61 (Editores: Poole A y Gill F). Philadelphia PA y American Ornithologists' Union. Estados Unidos
- Hedrick, PW. 2000. *Genetics of Populations* 2nd Ed. Boston: Jones and Bartlett.
- Henderson LA. 2013. Western Burrowing Owl Predation in an Urban Setting in California: Do California Ground Squirrel Calls Reduce Risk? San Jose State University. Tesis de maestría.

- Hernández M, Martin S y Fores P. 1990. Clinical hematology and blood chemistry values for the Common Buzzard. *Journal of Raptor Research* 24: 113-119.
- Hernández-Brito D, Carrete M, Popa-Lisseanu A, Ibáñez C y Tella JL. 2014. Crowding in the city: losing and winning competitors of an invasive bird. *PLoS One* 9: e100593.
- Hoysak DJ y Weatherhead PJ. 1991. Sampling blood from birds: a technique and assessment of its effect. *Condor* 93:746-752
- Hudson GE. 1984. *Aves del Plata*. Libros de Hispanoamérica, Buenos Aires, Argentina.
- Idoeta FM y Roesler I. 2012. Presas consumidas por el Carancho (*Caracara plancus*) durante el período reproductivo, en el noreste de la provincia de Buenos Aires. *Nuestras Aves* 57: 79-82.
- Jackson JE, Branch LC y Villarreal D. 1996. *Lagostomus maximus*. American Society of Mammal. *Mammalian Species* 543: 1-6.
- Jiménez G, Meléndez L, Blanco G, Laiolo P. 2013. Dampened behavioral responses mediate birds' association with humans. *Biological Conservation* 159: 477-483.
- Johnstone CP, Lill A y Reina RD. 2012. Does habitat fragmentation cause stress in the *Agile antechinus*? An haematological approach. *Journal of Comparative Physiology B* 182:139-155.
- Jones P, Page R, Hartbauer M y Siemers B. 2011. Behavioral evidence for eavesdropping on prey song in two Palearctic sibling bat species. *Behaviour Ecology and Sociobiology*. 65: 333-340.
- Kenney SP, Knight RL. 1992. Flight distances of black-billed magpies in different regimes of human density and persecution. *Condor* 94: 545-547.
- Knight RL, Andersen DE, Bechard MJ y Marr NV. 1989. Geographic variation in nest-defence behaviour of the Red-tailed Hawk *Buteo jamaicensis*. *Ibis* 131: 22-26.

- König C, F Wieck y JH Becking. 1999. Owls: a guide to the owls of the world. Editorial Pica, The Banks. Reino Unido.
- Landguth EL, Cushman SA, Schwartz MK, McKelvey KS, Murphy M y Luikart G. 2010. Quantifying the lag time to detect barriers in landscape genetics. *Molecular Ecology* 19: 4179-4191.
- Lee WY, Lee S, Choe JC y Jablonski PG. 2011. Wild birds recognize individual humans: experiments on magpies, *Pica pica*. *Animal Cognition* 14: 817-825
- Lefebvre L, Whittle P, Lascaris E y Finkelstein A. 1997. Feeding innovations and forebrain size in birds. *Animal Behaviour* 53: 549-560.
- Leveau LM, Isla FI y Bellocq MI. 2015. Urbanization and the temporal homogenization of bird communities: a case study in central Argentina. *Urban Ecosystems* 18: 1461-1476.
- Levey DJ, Londoño GA, Ungvari-Martin J, Hiersoux MR, Jankowski JE, Poulsen JR, Stracey CM y Robinson SK. 2009. Urban mockingbirds quickly learn to identify individual humans. *PNAS* 106: 8959-8962.
- Lima SL y Dill LM. 1990. Behavioral decisions made under the risk of predation: a review and prospectus. *Canadian Journal of Zoology* 68: 619-640.
- Lima SL. 2009. Predators and the breeding bird: behavioral and reproductive flexibility under the risk of predation. *Biological reviews* 84: 485-513.
- Lobato E, Moreno J, Merino S, Sanz JJ y Arriero E. 2005. Haematological variables are good predictors of recruitment in nestling pied flycatchers (*Ficedula hypoleuca*). *Ecoscience* 12: 27-34.
- Machicote M, Branch LC y Villarreal D. 2004. Burrowing owls and burrowing mammals: are ecosystem engineers interchangeable as facilitators? *Oikos* 106: 527-535.

- Magrath RD y Bennett TH. 2012. A micro-geography of fear: learning to eavesdrop on alarm calls of neighbouring heterospecifics. *Proceedings of the Royal Society B*. 279: 902-909.
- Magrath RD, Haff T, Fallow P y Radford AN. 2014. Eavesdropping on heterospecific alarm calls: from mechanism to consequences. *Biological Reviews* 90: 560-586.
- Magrath RD, Pitcher BJ y Gardneret JL. 2009. An avian eavesdropping network: alarm signal reliability and heterospecific response. *Behavioural Ecology* 20: 745-752.
- Mainini B, Neuhaus P, Ingold P. 1993. Behaviour of marmots *Marmota marmota* under the influence of different hiking activities. *Biological Conservation* 64: 161-164.
- Manning JA y Kaler RSA. 2011: Effects of survey methods on burrowing owl behaviors. *Journal of Wildlife Management*. 75: 525-530.
- Marks JS, Canning RJ, Mikkola H. 1994. Family Strigidae (Typical Owls). En: *Handbook of the birds of the world*. Vol 5: Barn-owls to Hummingbirds (Editores: del Hoyo J, Elliot A, Sargatal). Ediciones Lynx. España.
- Martin DJ. 1973. Selected aspects of Burrowing Owl ecology and behavior. *Condor* 75: 446-456.
- Martin JG y Réale D. 2008. Temperament, risk assessment and habituation to novelty in eastern chipmunks, *Tamias striatus*. *Animal Behaviour* 75: 309-318.
- Martin P y Bateson P. 1993. *La medición del comportamiento*. Editorial Alianza. España
- Martin TE y Roper JJ. 1988. Nest predation and nest-site selection of a western population of the Hermit Thrush. *Condor* 90: 51-57.
- Martínez G, Baladrón A, Cavalli M, Bó MS e Isacch JP. 2017. Microscale nest-site selection by the Burrowing Owl (*Athene cunicularia*) in the Pampas of Argentina. *Wilson Journal of Ornithology*.

- Martínez G. 2013. Selección del sitio de nidificación y éxito de nidificación de la Lechucita Vizcachera: importancia de las variables a microescala. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional de Mar del Plata. Mar del Plata. Argentina
- Martínez M. 2001. Avifauna de Mar Chiquita. Síntesis del trabajo de Mariano Manuel Martínez. En: Reserva de Biósfera Mar Chiquita: Características Físicas, Biológicas y Ecológicas. (Editor: Iribarne OO). Editorial Martin. Argentina.
- Marzluff JM, Walls J, Cornell HN, Withey JC y Craig DP. 2010. Lasting recognition of threatening people by wild American crows. *Animal Behaviour* 79: 699-707.
- Marzluff JM. 2001. Worldwide urbanization and its effects on birds. En: *Avian ecology and conservation in an urbanizing worlds*. (Editores: Marzluff J, Bowman R y Donnelly R). Editorial: Springer. Estados Unidos.
- Maxwell MH y Robertson GW. 1998. The avian heterophil leucocyte: A review. *World's Poultry Science Journal* 54: 155-178.
- McCrary MD y Bloom PH. 1984. Lethal effects of introduced grasses on red-shouldered hawks. *Journal of wildlife management* 48: 1005-1008.
- McKinney ML. 2006. Urbanization as a major cause of biotic homogenization. *Biological Conservation* 127:247-260.
- Mikula P. 2014. Pedestrian density influences flight distances of urban birds. *Ardea* 102: 53-60.
- Millsap BA y Bear C. 2000. Density and reproduction of burrowing owls along an urban development gradient. *Journal of wildlife management* 33-41.
- Millsap BA. 1993. Florida Burrowing Owls. En: *Rare and endangered biota of Florida*. (Editores: Rogers A y Kale HW). Editorial de la Universidad de Florida. EEUU.
- Minias P. 2015. Successful Colonization of a Novel Urban Environment is Associated with an Urban Behavioural Syndrome in a Reed-Nesting Waterbird. *Ethology* 121: 1178-1190.

- Møller 2012. Reproductive behaviour. En: Behavioural responses to a changing world (Editores Candolin U y Wong B) . Editorial Oxford. Reino Unido.
- Møller AP e Ibáñez-Álamo JD. 2012. Escape behaviour of birds provides evidence of predation being involved in urbanization. *Animal Behaviour* 84: 341-348.
- Møller AP. 2008a. Flight distance of urban birds, predation and selection for urban life. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 63: 63-75.
- Møller AP. 2008b. Flight distance and population trends in European breeding birds. *Behavioral Ecology* 19: 1095-1102.
- Møller AP. 2009. Successful city dwellers: a comparative study of ecological characteristics of urban birds in the Western Palearctic. *Oecologia* 159: 849-858.
- Møller AP. 2010. Interspecific variation in fear responses predicts urbanization in birds. *Behavioural Ecology*. 21: 365-371.
- Montgomerie RD y Weatherhead PJ. 1988 Risks and rewards of nest defence by parent birds. *Quarterly Review of Biology* 63: 167-187.
- Morrison JL y Bohall Wood P. 2009. Broadening our approaches to study dispersal in raptors. *Journal of raptor research* 43: 81-89.
- Morrison JL, Terry M y Kennedy PL. 2006. Potential factors influencing nest defense in diurnal North American raptors. *Journal of Raptor Research* 40: 98-110.
- Müller C, Jenni-Eiermann S y Jenni L. 2011. Heterophils/Lymphocytes ratio and circulating corticosterone do not indicate the same stress imposed on Eurasian kestrel nestlings. *Functional Ecology* 25: 566-576.
- Nakagawa S y Schielzeth H. 2010. Repeatability for Gaussian and non-Gaussian data: a practical guide for biologists. *Biological Reviews* 85: 935-956.

- Narosky T y Di Giácomo A. 1993. Las aves de la provincia de Buenos Aires: distribución y estatus. Editorial: Asociación Ornitológica del Plata, Vázquez Massini y L.O.L.A. Argentina.
- Nazar FN y Marin RH. 2013. Efecto del estrés y del enriquecimiento ambiental temprano sobre parámetros de inmunidad celular de codornices japonesas juveniles. Revista Argentina de Producción Animal 31:63-69.
- Neufeld-Cohen A, Tsoory MM, Evans AK, Getselter D, Gil S, Lowry CA y Chen A. 2010. A triple urocortin knockout mouse model reveals an essential role for urocortins in stress recovery. Proceedings of the National Academy of Sciences 107: 19020-19025.
- Newton I. 1979. Population ecology of raptors. Buteo Books. Estados Unidos.
- Newton I. 1998. Population Limitation in Birds. Academic Press. Reino Unido.
- Partecke J, Gwinner E y Bensch S. 2006a. Is urbanisation of European blackbirds (*Turdus merula*) associated with genetic differentiation? Journal of Ornithology 147: 549-552.
- Partecke J, Schwabl I y Gwinner E. 2006b. Stress and the city: Urbanization and its effects on the stress physiology in European blackbirds. Ecology 87: 1945-1952.
- Partecke J, Van't Hof T, Gwinner E. 2004. Differences in the timing of reproduction between urban and forest European blackbirds (*Turdus merula*): result of phenotypic flexibility or genetic differences? Proceedings of the Royal Society of London B 271: 1995-2001.
- Pedrana J, Isacch JP y Bó MS. 2008. Habitat relationships of diurnal raptors at local and landscape scales in southern temperate grasslands of Argentina. Emu 108: 301-310.
- Penteriani V y Delgado MM. 2009. Thoughts on natal dispersal. Journal of raptor research 43: 90-98.
- Pinheiro JC, Bates DM. 2000. Mixed-Effects Models in S and S-PLUS. Editorial Springer. Estados Unidos.

- Poulin RG, Todd LD, Dohms, KM, Brigham RM y Wellicome TI. 2005. Factors associated with nest- and roost-burrow selection by Burrowing Owls (*Athene cunicularia*) on the Canadian prairies. *Canadian Journal of Zoology* 83: 1373-1380.
- Powers LV, Pokras M, Rio K, Viverette C y Goodrich L. 1994. Hematology and occurrence of hemoparasites in migrating sharp-shinned hawks. *Journal of Raptor Research* 28: 178-185.
- R Development Core Team. 2016. R: A Language and Environment for Statistical Computing (R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria.) Available at <http://www.R-project.org>
- Rainey HJ, Zuberbuhler K y Slater PJB. 2004. Hornbills can distinguish between primate alarm calls. *Proceedings of the Royal Society London B*. 271:755-759.
- Randler C. 2006. Disturbances by dog barking increase vigilance in Coots *Fulica atra*. *Eur. J. Wildlife Research*. 52: 265-270.
- Rankin CH, Abrams T, Barry RJ, Bhatnagar S, Clayton DF, Colombo J, Coppola G, Geyer MA, Glanzman DL, Marsland S, McSweeney FK, Wilson DA, Wu CF y Thompson RF. 2009. Habituation revisited: an updated and revised description of the behavioral characteristics of habituation. *Neurobiology of learning and memory* 92: 135-138.
- Rebolo-Ifrán N, Carrete M, Sanz-Aguilar A, Rodríguez-Martínez S, Cabezas S, Marchant TA y Tella JL. 2015. Links between fear of humans, stress and survival support a non-random distribution of birds among urban and rural habitats. *Scientific Reports* 5:e13723.
- Redford KH, Eisenberg JF. 1992. *Mammals of the Neotropics, The Southern Cone: Chile, Argentina, Uruguay, Paraguay*, volume 2. Editorial de la Universidad de Chicago. Estados Unidos.

- Restani M, Rau LR, Flath DL. 2001, Nesting ecology of burrowing owls occupying black-tailed prairie dog towns in southeastern Montana. *Journal of Raptor Research* 35: 296-303.
- Ricklefs RE, y Wikelski M. 2002. The physiology/life-history nexus. *Trends in Ecology and Evolution* 17: 462-468.
- Ricklefs RE. 1969. An analysis of nesting mortality in birds. *Smithsonian Contributions in Zoology* 9: 1-48.
- Rodríguez-Martínez S, Carrete M, Roques S, Reboló-Ifrán N y Tella JL. 2014. High Urban Breeding Densities Do Not Disrupt Genetic Monogamy in a Bird Species. *PloS one* 9: 91314.
- Rodríguez-Prieto I, Fernández-Juricic E, Martín J y Regis Y. 2009. Antipredator behavior in blackbirds: habituation complements risk allocation. *Behavioral Ecology* 20: 371-377.
- Rosenberg DK y Haley KL. 2004. The ecology of burrowing owls in the agroecosystem of the Imperial Valley, California. *Studies in Avian Biology* 27: 120-135.
- Sade S, Rau JR y Orellana JI. 2012. Dieta del quique (*Galictis cuja*, Molina 1782) en un remanente de bosque valdiviano fragmentado del sur de Chile. *Gayana* 76: 112-116.
- Sánchez KB, Malizia AI y Bó MS. 2008. Trophic ecology of the burrowing owl (*Athene cunicularia*) in urban environments of Mar Chiquita Biosphere Reserve (Buenos Aires Province, Argentina). *Ornitología Neotropical* 19: 71-80.
- Sánchez-Zapata JA, Carrete M, Sklyarenko S, Gravilov A, Donázar JA, Ceballos O y Hiraldo F. 2003. Land use changes and raptor conservation in steppe habitats of eastern Kazakhstan. *Biological Conservation* 111: 74-79.
- Sarasola JH, Galmes MA y Santillán MA. 2007. Ecología y conservación del Aguilucho Langostero (*Buteo swainsoni*) en Argentina. *Hornero* 22 : 173-184

- Serrano D, Carrete M y Tella JL. 2008. Describing dispersal under habitat constraints: A randomization approach in lesser kestrels. *Basic and Applied Ecology* 9: 771-778.
- Shanahan DF, Strohbach MW, Warren PS, Fuller RA. 2014. The challenges of urban living. En: *Avian urban ecology. Behavioural and physiological adaptations* (Editores: Gil D y Brumm H). Editorial de la Universidad de Oxford. Reino Unido.
- Siegel HS. 1980. Physiological Stress in Birds. *BioScience* 30: 529-534
- Siegel PB y Gross WB. 2000. General principles of stress and well-being. En: *Livestock handling and transport* .(Editora: Grandlin T). Editorial CABI. Reino Unido.
- Sih A, Cote J, Evans M, Fogarty S y Pruitt J. 2012. Ecological implications of behavioural syndromes. *Ecology Letters* 15: 278-289.
- Sih A, Ferrari MC y Harris DJ. 2010. Evolution and behavioural responses to human-induced rapid environmental change. *Evolutionary Applications* 4: 367-387.
- Sol D, Lapiedra O, González-Lagos C. 2013. Behavioural adjustments for a life in the city. *Animal Behaviour* 85: 1101-1112
- Sol D, Timmermans S y Lefebvre L. 2002. Behavioural flexibility and invasion success in birds. *Animal behaviour* 63: 495-502.
- Soriano A, León RJ, Sala OE, Lavado RS, Deregibus VA, Cauhépe MA, Scaglia OA, Velásquez CA y Lemcoff JH. 1991. Río de la Plata grasslands. En: *Natural Grasslands* (Editor: Coupland RT). Editorial Elsevier. Estados Unidos.
- Sproat TM, Ritchison G. 1993. The nest defense behavior of eastern screech-owls: effects of nest stage, sex, nest type and predator location. *Condor* 95: 288-296.
- Steenhof K y Newton I. 2007. Assessing nesting success and productivity. En: *Raptor Research and Management Techniques* (Editores: Bird DM y Bildstein KL). Editorial Hancock House. Estados Unidos.

- Steven R, Pickering C y Castley JG. 2011. A review of the impacts of nature based recreation on birds. *J. Environ. Manage.* 92: 2287-2294.
- Szabo Z, Klein A y Jakab C. 2014. Hematologic and plasma biochemistry reference intervals of healthy adult Barn Owls (*Tyto alba*). *Avian Disease* 58: 228-231.
- Thomsen L. 1971. Behavioural ecology of burrowing owls in the Oakland municipal airport. *Condor* 73:177-192.
- Tigas LA, Van Vuren DH y Sauvajot RM. 2002. Behavioral responses of bobcats and coyotes to habitat fragmentation and corridors in an urban environment. *Biological Conservation* 108: 299-306.
- Todd D. 2001. Dispersal patterns and post-fledging mortality of juvenile Burrowing owls in Saskatchewan. *Journal of Raptor Research* 35:282-287.
- Trulio L. 1997. Burrowing Owl demography and habitat use at two urban sites in Santa Clara County, California. *Journal of Raptor Research* 9: 84-89.
- Tuomainen U y Candolin U. 2011. Behavioural responses to human-induced environmental change. *Biological Reviews* 86: 640-657.
- Van der Merwe M, Borwn JS y Jackson WM .2005. The coexistence of Fox (*Sciurus niger*) and gray (*S. caroliniensis*) squirrels in the Chicago metropolitan area. *Urban Ecosystems* 8: 335-347
- Vargas RJ, Bó MS y Favero M. 2007. Diet of the Southern Caracara (*Caracara plancus*) in Mar Chiquita Reserve, Southern Argentina. *Journal of Raptor Research* 41: 113-121
- Villareal D, Machicote M, Branch LC, Martinez JJ y Gopar A. 2005. Habitat patch size and local distribution of burrowing owls (*Athene cunicularia*) in Argentina. *Ornitologia Neotropical* 16: 529-537.

- Vincze E, Papp S, Preiszner B, Seress G, Bókony V y Liker A. 2016. Habituation to human disturbance is faster in urban than rural house sparrows. Behavioral Ecology DOI: 10.1093.
- Vitousek PM, Mooney HA, Lubchenco J y Melillo JM. 1997. Human domination of Earth's ecosystems. Science 277: 494-499.
- Wallin K. 1987. Defense as parental care in Tawny Owls (*Strix aluco*). Behaviour 102: 213-230.
- Wright, S. 1951. The genetical structure of populations. Annals of Eugenics 15: 323-354
- Zar JH. 2010. Biostatistical analysis. Fifth Edition. Editorial Prentice Hall. Estados Unidos.
- Zelaya K, Van Vliet J y Verburg PH. 2016. Characterization and analysis of farm system changes in the Mar Chiquita basin, Argentina. Applied Geography 68: 95-103.
- Zuur A, Ieno EN, Walker N, Saveliev AA, Smith GM. 2009. Mixed effects models and extensions in ecology with R. Editorial: Springer Science and Business Media. Estados Unidos.

Lic. Matilde Cavalli
Doctorando

Dr. Juan Pablo Isacch
Director