



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

**CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIÓN PARA EL
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL UNIDAD OAXACA**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS EN CONSERVACIÓN Y APROVECHAMIENTO DE RECURSOS NATURALES
(BIODIVERSIDAD DEL NEOTRÓPICO)**

**EFFECTOS DE LA INFECCIÓN PARASITARIA EN LA CONDICIÓN Y EN
EL COMPORTAMIENTO VOCAL DE LA MATRACA NUQUIRRUFA
(*Campylorhynchus rufinucha*)**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS**

**PRESENTA:
ESTEFANIA MEZA MONTES**

**DIRECTOR:
DR. JOSÉ ROBERTO SOSA LÓPEZ**

Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, México
Junio de 2019





INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de Oaxaca siendo las 14:00 horas del día 17 del mes de mayo del 2019 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CIIDIR OAXACA

para examinar la tesis titulada:
"Efectos de la infección parasitaria sobre la condición y el comportamiento vocal de la Matraca Nuquirrufa (*Campylorhynchus rufinucha*)"

Presentada por el alumno:

Meza Montes
Apellido paterno Apellido materno
Nombre(s) Estefanía

Con registro:

A	1	7	0	3	9	5
---	---	---	---	---	---	---

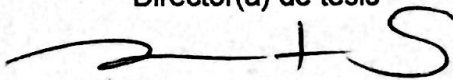
aspirante de:

Maestría en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales

Después de intercambiar opiniones, los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

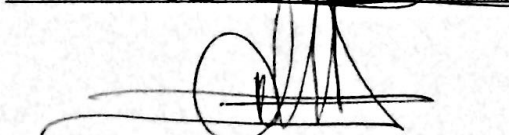
LA COMISIÓN REVISORA


Director(a) de tesis


Dr. José Roberto Sosa López.

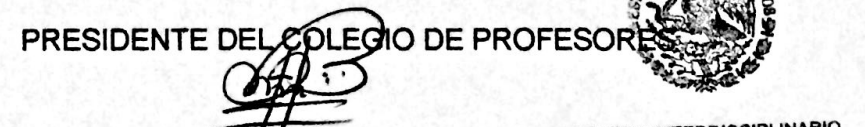

Dr. Diego Santiago Alarcón


Dr. Miguel Ángel Briones Salas


Dr. Marcelo Ulises García Guerrero


M. en C. Gladys Isabel Manzanero Medina

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES


Dr. Salvador Isidro Belmonte Jiménez





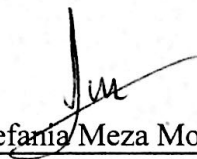
INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESION DE DERECHOS

En la Ciudad de Oaxaca el día 30 del mes de mayo del año 2019, el (la) que suscribe **Estefania Meza Montes** alumno(a) del Programa de Maestría en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales con número de registro A170395, adscrito al Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Oaxaca, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del Dr. José Roberto Sosa López y cede los derechos del trabajo intitulado **“Efectos de la infección parasitaria sobre la condición y el comportamiento vocal de la Matraca Nuquirrufa (*Campylorhynchus rufinucha*)”**, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección emezamontes89@gmail.com. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.




Estefania Meza Montes

Nombre y firma

CENTRO INTERDISCIPLINARIO
DE INVESTIGACIÓN PARA EL
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
C.I.I.D.I.R.
UNIDAD OAXACA
I.P.N.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada (CVU 621876) a Estefania Meza Montes. Al Proyecto de Ciencia Básica CONACyT-SEP No. 250910 y al Apoyo al Fortalecimiento y Desarrollo de la Infraestructura (CONACyT) No. 251526 otorgados al Dr. José Roberto Sosa López, ya que gracias a estos apoyos fue posible el desarrollo de este proyecto.

Al Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Oaxaca (CIIDIR) y al Instituto de Ecología, A. C. por las facilidades otorgadas para la realización de este proyecto.

A mis directores de tesis Dr. José Roberto Sosa López y Dr. Diego Santiago Alarcón, por la paciencia, enseñanzas y apoyo recibido durante la elaboración de este trabajo; y a los miembros del comité revisor y jurado: Dr. Marcelo García Guerrero, M. en C. Gladys Isabel Manzanero Medina, Dr. Miguel Ángel Briones Salas y Dr. Gabriel Ramos Fernández, por su disposición y observaciones para mejorar mi tesis.

A los propietarios de los sitios de muestreo del Rancho Tres Reyes, de los ejidos Alberto Cruz, Unión y Progreso y la Polka, especialmente a Doña Lupita, Don Jorge y familia por su gran hospitalidad la cual fue muy importante durante el trabajo en campo.

A los compañeros de campo y laboratorio (LABEC y LEVIP) por todas las aportaciones al proyecto y los buenos momentos juntos.

A mis amigos: Erika, Daniel, Mariela, Gladis, Víctor, Magaly, Josúe, Mariana y José Luis, por su gran amistad y apoyo incondicional a lo largo del posgrado.

A mi familia Meza-Montes y Hernández-León, por su apoyo constante, sin él nada de esto hubiera sido posible, no tengo palabras para describir el enorme agradecimiento y cariño que siento por ustedes. Especialmente a mis hijos Oliver y Tonatiuh por ser el mayor y más importante soporte en mi vida.

**A mis amados hijos Oli y Toni,
y a la memoria de mi abuelo Nacho.**

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	1
ABSTRACT.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
ANTECEDENTES.....	10
Variación geográfica y taxonomía de la Matraca Nuquirrufa	10
OBJETIVOS.....	11
Objetivo general	11
Objetivos específicos	11
HIPÓTESIS Y PREDICCIONES	11
Predicciones	12
METODOLOGÍA	13
Especie y área de estudio	13
Determinación del sexo	14
Índice de condición corporal	15
Identificación de parásitos y cálculo del índice del estrés crónico	17
Muestreo acústico	19
Análisis acústicos	19
Análisis estadístico	24
RESULTADOS	24
DISCUSIÓN.....	26

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Mapa que muestra la distribución de la Matraca Nuquirrufa y las localidades donde se realizó el muestreo. Las regiones sombreadas indican los rangos de distribución de los tres grupos dentro del complejo: *rufinucha*, *humilis* y *capistratus*. En el recuadro con el mapa amplificado se muestran las localidades muestreadas, las cuales se ubican dentro de la zona de contacto: (a) Rancho Tres Reyes; (b) La Polka, Esmeralda; (c) La Polka, Carretera; (d) La Polka, Panteón; (e) Ejido Alberto Cruz; y (f) Ejido Unión y Progreso. 13
- Figura 2.** Espectrograma de un canto de la Matraca Nuquirrufa. La imagen muestra los elementos encontrados en el canto como notas y frases. Una nota se define como un trazo continuo y distinto en un espectrograma, mientras que una frase es la combinación de notas en un orden estereotipado (Catchpole y Slater, 2008). Además, se ilustran algunas variables obtenidas durante el estudio como la frecuencia máxima (Fmax), frecuencia mínima (Fmin) y el ancho de banda (AB). 20
- Figura 3.** Gráfica mostrando el tamaño del repertorio en función de los cantos grabados. En la gráfica se observa que es necesario grabar alrededor de 40 cantos (momento en el que se comienza a alcanzar la asíntota) para obtener una estimación confiable del tamaño del para un individuo de Matraca Nuquirrufa.....21
- Figura 4.** Cantos de cinco individuos de la Matraca Nuquirrufa. Los cinco cantos corresponden al mismo canto tipo, el cual es definido en base a la frase. Las líneas negras indican las frases, en este caso la frase esta compuesta de cuatro elementos. 23

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Estudios relacionados a la infección y carga parasitaria con los caracteres vocales. En esta tabla se reportan los estudios incluidos en Garamszegi (2005) además de todos los trabajos publicados del 2005 a la fecha.	7
Tabla 2. Datos morfológicos obtenidos en campo. El peso y la cuerda alar fueron utilizados para calcular el Índice de Masa Escalado (\hat{M}_i) para cada uno de los individuos	15
Tabla 3. Valores de la correlación de Pearson de cada variable con el peso de los individuos de la Matraca Nuquirrufa. La cuerda alar es la que se encuentra mayormente correlacionada, por la cual fue utilizada para terminar el Índice de Masa Escalado (\hat{M}_i) de cada uno de los individuos.	17
Tabla 4. Comparación de perfiles diferenciales hematológicos, estrés y carga parasitaria entre los miembros por territorios.	18
Tabla 5. Cargas de los dos componentes principales que resumen seis variables acústicas medidas de 16 individuos. Los eigenvalores y el porcentaje de variación explicada se presentan para cada componente, y las variables con la carga más fuerte para cada componente están en negrita. Los valores corresponden a componentes rotados usando varimax.	24
Tabla 6. Resultados de GLM para: estatus de infección, carga parasitaria, complejidad del canto, características finas estructurales del canto, y desempeño vocal. En negritas se resalta los valores significativos de $P < 0.05$	25
Tabla 7. Correlación de Spearman que indica que el estatus de infección y la carga parasitaria se encuentran correlacionadas positivamente entre los individuos de una pareja (i.e. un mismo territorio). El tamaño de muestra fue $n = 16$. En negritas se resalta los valores significativos de $P < 0.05$	26

ANEXOS

Anexo.1. Scripts utilizados en los GLM para analizar la asociación entre la infección parasitaria, el estrés crónico, la condición corporal, el sexo y la conducta vocal de los individuos de la Matraca Nuquirrufa en el programa R. 40

Anexo.2. Información detallada de los datos tomados en campo de cada uno de los individuos. La tabla muestra la identificación, coordenadas de GPS, sexo, estatus de infección (0=no infectado, 1=infectado) y las variables vocales..... 41

RESUMEN

La infección por parásitos en aves está asociada a la pérdida de vigor, produciendo cambios en caracteres sexuales e influyendo negativamente en el éxito reproductivo y en la habilidad de los individuos para proteger el territorio. De acuerdo con la teoría de selección sexual, los machos resistentes a parásitos deberían expresar rasgos sexuales secundarios que indiquen cierta resistencia. Bajo este contexto, las hembras que prefieren rasgos sexuales secundarios más elaborados estarán eligiendo machos menos parasitados y/o en mejores condiciones, procreando descendencia con mayores posibilidades de sobrevivir. Existen estudios que demuestran una relación entre la expresión de caracteres sexuales secundarios y la conducta vocal en aves, pero el número de estudios es reducido. Además, los resultados sobre las variables físicas y conductuales que podrían estar implicadas son inconsistentes, aportando poca información sobre los mecanismos de selección que los individuos podrían estar utilizando para discriminar entre individuos sanos y con diferentes grados de infección. El presente estudio pretende analizar los efectos que el estado de infección (infectado vs. no infectado), la carga hemoparasitaria, el estrés crónico (Heterófilo: Linfocito) y la condición corporal tienen sobre la conducta vocal de la Matraca Nuquirrufa (*Campylorhynchus rufinucha*). Específicamente (1) se determinó el estado de infección y se cuantificó la carga de hemoparásitos en los individuos infectados; (2) se realizó el conteo diferencial leucocitario de cada individuo para calcular el estrés crónico; (3) se utilizó el Índice de masa escalado para obtener la condición corporal, (4) se recolectaron grabaciones de las vocalizaciones de los individuos marcados durante la época reproductiva; (5) se analizaron las características estructurales finas de los cantos y se evaluaron las variables que describen el desempeño de los individuos al vocalizar; y (6) se evaluó la relación entre el estado de infección, la carga parasitaria, el estrés crónico y la condición corporal con las características estructurales finas de los cantos y el desempeño al vocalizar. Los resultados sugieren que los individuos parasitados tienen una probabilidad más alta de emitir una tasa mayor de canto en comparación con los individuos no infectados. No se encontró asociación con ninguna otra variable fisiológica o de conducta vocal.

ABSTRACT

In birds, infection by parasites is associated with vigor's loss, producing changes in sexual traits and influencing negatively both reproductive success and the ability of individuals for protecting their territory. According to the theory of sexual selection, males resistant to parasites should express secondary sexual traits associated to such resistance. In this context, females that prefer elaborated secondary sexual traits will choose males that are less parasitized and/or have a better condition, producing offspring with greater chances of survival. There are studies that show a relationship between the expression of secondary sexual characteristics and vocal behavior in birds, but the number of studies is low. In addition, the results on the physical and behavioral variables measured in many studies are inconsistent, providing little information on the mechanisms that individuals could be using to discriminate between healthy individuals with different degrees of infection. The present study aims to analyze the effects that the state of infection (infected vs. uninfected), hemoparasitic load, chronic stress (Heterophilic: Lymphocyte) and body condition have on the vocal behavior of the Rufous Naped wren (*Campylorhynchus rufinucha*). Specifically, in this study I assessed (1) both the state of infection and the burden of hemoparasites in the infected individuals; (2) evaluated chronic stress using the leukocyte differential count for each individual; and (3) calculated corporal condition using the Scaled mass index. Then, I collected recordings of the vocalizations of colour-banded individuals during the reproductive season to (5) evaluated the structure, performance and complexity of the individuals' songs. In the last part of the analysis, (6) I evaluated the relationship between infection status, parasitic load, chronic stress, and body condition with the fine structural characteristics of the songs and vocal performance. The results suggest that parasitized individuals have a higher probability of producing a higher paced song compared to non-infected individuals. No association was found with any other physiological or vocal behavior variable.

INTRODUCCIÓN

Una gran variedad de animales produce sonidos para comunicarse con miembros de la misma especie (Bradbury y Vehrencamp 2011). Entre los grupos de animales que producen sonidos, las aves resaltan por la complejidad de sus señales acústicas (Catchpole y Slater 2008). Estas señales cumplen varios propósitos incluyendo la delimitación y defensa del territorio, atracción de pareja y reconocimiento de especies (Catchpole y Slater 2008). Como consecuencia, las señales acústicas se encuentran bajo varias presiones de selección (Searcy y Andersson 1986, Eriksson y Wallin 1986, Catchpole 1987, Gibson 1989, Mountjoy y Lemon 1991, Bradbury y Vehrencamp 2011). Diversos estudios enfocados a entender el efecto de la selección sexual en los cantos sugieren que las hembras prefieren rasgos específicos en las vocalizaciones de los machos. Generalmente los rasgos que las hembras prefieren están asociados a cantos complejos como la rápida modulación de la frecuencia de los elementos del canto, silencios cortos, repertorios grandes, una mayor tasa de canto, la tonalidad y una mayor amplitud (Catchpole 1986, Mountjoy y Lemon 1991, Wasserman y Cigliano 1991, Vallet y Kreutzer 1995, Johnson y Searcy 1996). Por ejemplo, los machos del Cacerrín Común (*Acrocephalus schoenobaenus*) con repertorios grandes atraen pareja antes que aquellos machos con repertorios más pequeños (Catchpole 1980, Buchanan y Catchpole 1997, Airey *et al.* 2000).

Existen varios mecanismos relacionados a la variación en la estructura y despliegue de las vocalizaciones de las aves como resultado de la selección sexual (Hamilton y Zuk 1982, Searcy y Andersson 1986, Catchpole y Slater 2008). Específicamente, la teoría de selección sexual mediada por parásitos sugiere que las hembras prefieren machos con despliegues más vigorosos, debido a que los machos más vigorosos tienen una resistencia relativamente alta a los parásitos (Hamilton y Zuk 1982). De acuerdo a esta teoría, los cantos de las aves como rasgos secundarios sexuales pudieron haber evolucionado como un medio para transmitir información del estado de salud del macho (Garamszegi 2005). Dentro de la teoría existen cuatro hipótesis que tratan de explicar la asociación entre la expresión de caracteres secundarios sexuales y la carga parasitaria: (1) la hipótesis de genes de resistencia, (2) la hipótesis de indicador de contagio, (3) la hipótesis de los padres eficientes y (4) la hipótesis de la evasión de parásitos.

La hipótesis de genes de resistencia—también conocida como la hipótesis de Hamilton y Zuk—sugiere que la preferencia de las hembras está mediada por genes de resistencia, en donde los hospederos coevolucionan con los parásitos y como resultado generan una resistencia heredable (Hamilton y Zuk 1982). Como consecuencia las hembras se podrían beneficiar produciendo descendencia con parcial resistencia a los parásitos—minimizando el contagio de parásitos—y eligiendo a un macho sano que podría proporcionar mejores recursos (Borgia y Collis 1989; Hamilton 1990). La hipótesis de indicador de contagio establece que las hembras que prefieren a los machos

con caracteres sexuales elaborados evitarán los daños causados por los parásitos que pudieran ser transmisibles entre individuos (Able 1996). La hipótesis de los padres eficientes sugiere que las hembras que eligen machos con ornamentos elaborados se podrían beneficiar debido a que estos podrían proporcionar mayores recursos para el cuidado parental en comparación a los machos parasitados (Hamilton 1990). Mientras que la hipótesis de la evasión de parásitos sugiere que las hembras pueden reducir la probabilidad de contraer parásitos ya sea de transmisión directa o indirecta (e. g. vía vectores) si eligen machos libres de parásitos (Borgia 1986; Borgia y Collis 1989).

Aunque estas cuatro hipótesis no son mutuamente excluyentes, cada una de ellas tiene múltiples supuestos que deben ser cumplidos para su total respaldo (Hamilton y Zuk 1982; Borgia 1986, Borgia y Collis 1989; Hamilton 1990, Price *et al.* 1993; Able 1996). Varios de estos supuestos aplican a algunas de ellas—pero no a todas—, por ejemplo, el apoyo total para las tres primeras hipótesis requiere que los parásitos afecten la expresión del canto, que los receptores deberían ajustar su respuesta de acuerdo con la información que perciben sobre la carga parasitaria del emisor, y que los parásitos deberían afectar la supervivencia del hospedero y/o el éxito reproductivo (Garamszegi 2005). Sin embargo, existen supuestos que difieren entre hipótesis; por ejemplo, la hipótesis de genes de resistencia requiere que ambas, la resistencia al parásito y la expresión del canto, sean heredables (Hamilton y Zuk 1982). Por el contrario, la hipótesis de la evasión de parásitos no predice una relación entre la expresión de los caracteres sexuales y el grado de la carga parasitaria (Borgia 1986, Borgia y Collis 1989). Dos hipótesis, la hipótesis de indicador de contagio y la hipótesis de evasión de parásitos, predicen que las hembras deberían estar bajo una alta presión a ser parasitadas si se emparejan con machos infectados, resultando en una correlación entre el estatus de infección y las cargas parasitarias de las parejas (Able 1996). Mientras que la hipótesis de los padres eficientes predice que la carga parasitaria debería estar asociada al esfuerzo parental de los machos, en donde los machos infectados deberían suministrar un cuidado inferior a las crías (Hamilton 1990, Price *et al.* 1993).

Los estudios realizados sobre los efectos de la infección parasitaria en la conducta vocal de aves indican que existe una relación entre la carga y la estructura de las vocalizaciones (e.g., longitud de el canto, Bischoff *et al.* 2009; longitud de los llamados, Redpath *et al.* 2000; y frecuencia máxima, Redpath *et al.* 2000), y entre la carga y las conductas asociadas a las vocalizaciones (e.g., reducción de la tasa de vocalización, Garamszegi *et al.* 2004, Gilman *et al.* 2007; menor tiempo de dedicación al canto Møller 1991, Buchanan *et al.* 1999; y tamaño del repertorio, Garamszegi *et al.* 2004, Spencer *et al.* 2005). Por ejemplo, Møller (1991) estudió los efectos de la presencia del ácaro hematófago *Ornithonyssus bursa* en los nidos de la Golondrina Común (*Hirundo rustica*) en Dinamarca y encontró que los machos propietarios de nidos con una mayor intensidad de carga de ácaros tenían

una baja tasa de producción del canto. Buchanan *et al.* (1999) estudiaron el Carricerín Común (*Acrocephalus schoenobaenus*), encontrando que la presencia de parásitos protozoarios (*Haemoproteus sp.*, *Trypanosoma sp.* y *Plasmodium sp.*) están asociados a la disminución del tiempo dedicado a producir cantos de vuelo y generando un bajo peso de los machos, afectando el éxito reproductivo. Appleby y Redpath (1997) estudiaron el Cárabo Común (*Strix aluco*), encontrando que conforme aumenta la intensidad de la infección parasitaria (con infecciones de *Leucozytozoon ziemanii*, *Haemoproteus syrnii*, *H. noctuae* y *Trypanosoma sp.*) la duración del llamado se reduce; sin embargo, en un estudio posterior Redpath *et al.* (2000) encontraron resultados opuestos: las frecuencias de los llamados aumentaban conforme la carga parasitaria se elevaba. En otro estudio, Spencer *et al.*, (2005) demostraron que los Canarios (*Serinus canaria*) infectados de manera controlada con malaria (*Plasmodium relictum*) durante la etapa juvenil desarrollan cantos más simples al alcanzar la madurez sexual, en comparación con individuos no infectados. Además, los canarios presentaron una reducción en el desarrollo del núcleo del canto en el centro vocal superior (HVC) del cerebro. En otro estudio, Gilman *et al.* (2007) concluyó que las infecciones con *Leucozytozoon sp.* y *Plasmodium sp.* tienen efecto en el comportamiento vocal en el Gorrión de Corona Blanca (*Zonotrichia leucophrys oriantha*), reduciendo la tasa y la variabilidad de su canto. Müller *et al.*, (2013) llevaron a cabo un estudio en laboratorio en donde infectaron con ninfas de *Ixodes ricinus* a 36 Canarios (*S. canaria*), encontrando una asociación entre el grado de infestación por garrapatas con la reducción de los niveles de testosterona en el plasma sanguíneo, resultando en una reducción en la consistencia del canto y el número de trinos producidos. Pang-Ching *et al.* (2018) estudiaron poblaciones del Mielero hawaiano (*Chlorodrepanis virens*) y encontraron una menor complejidad en el canto de las poblaciones que se encuentran distribuidas en áreas de un gradiente altitudinal donde existe mayor riesgo de infección por malaria aviar (*P. relictum*). Estos resultados concuerdan con la idea de que la conducta vocal refleja la condición de los individuos en relación a su estado de infección por parásitos.

Aunque existe evidencia que sugiere que el efecto de los parásitos puede afectar la conducta vocal en diversas formas, el número y los rasgos vocales utilizados varían entre estudios. En una revisión, Garamszegi (2005) encontró que los diferentes estudios no usaron todos los rasgos vocales disponibles, concluyendo que los resultados entre estudios son inconsistentes. Además, el número de estudios publicados en el tema es bajo, con 13 artículos a la fecha, indicando que son necesarios estudios adicionales para entender la relación entre los parásitos y la conducta vocal en las aves (Tabla 1).

El objetivo de este estudio fue determinar el efecto del estatus de infección sobre la condición corporal y el comportamiento vocal de la Matraca Nuquirrufa (*Campylorhynchus rufinucha*). La Matraca Nuquirrufa es un ave mediana, insectívora, territorial y altamente vocal que reside en las selvas secas neotropicales. Se distribuye

desde Colima en México hasta el noroeste de Costa Rica en la vertiente del Pacífico, con una población aislada en el centro de Veracruz (Howell y Webb 1995). Vive en parejas, pero es común encontrar grupos familiares con más individuos (Howell y Webb 1995). La especie es conocida por sus despliegues vocales, pudiendo llegar a vocalizar llamados, cantos solos y duetos simples, antifonales o simultáneos (Skutch 1935, 1960; Sosa-López *et al.* 2013).

Específicamente, este estudio se enfocó en tratar de responder tres preguntas: (1) ¿El estatus de infección y la carga parasitaria en individuos de la Matraca Nuquirrufa está asociada a la condición corporal y el estrés crónico?; (2) ¿El estatus de infección, la carga parasitaria, el estrés crónico y la condición corporal se encuentran asociados a la expresión de los cantos de la Matraca Nuquirrufa? Y (3) ¿El estatus de infección y la carga parasitaria están correlacionados entre los miembros de una pareja? Para la primera pregunta se determinó el estatus de infección y carga parasitaria de varios individuos de la Matraca Nuquirrufa, luego se calculó el índice de condición corporal y se estimó el índice de estrés crónico utilizando la proporción heterófilo/linfocito (H:L). En la segunda pregunta, se cuantificó la conducta vocal en tres niveles: (1) variables relacionadas a la complejidad de los cantos (i.e. tamaño del repertorio), (2) variables describiendo las características estructurales finas de los cantos, y (3) variables relacionadas al desempeño vocal de los individuos. En la tercera pregunta analicé la asociación del estatus de infección y la carga parasitaria entre los miembros de una pareja. Las dos primeras preguntas se enfocan en las hipótesis de genes de resistencia, indicador de contagio y padres eficientes, las cuales requieren prueba de la relación entre los parásitos, condición de los individuos y la expresión del canto. Mientras que la tercer pregunta se enfoca en las hipótesis de indicador de contagio y de evasión de parásitos, las cuales requieren prueba de correlación entre el estatus de infección y la carga parasitarias de las parejas. Este estudio provee información adicional acerca de las relaciones entre los parásitos y la expresión de rasgos sexuales e incrementa nuestro conocimiento sobre las variables conductuales potencialmente afectadas por parásitos sanguíneos.

Tabla 1. Estudios relacionados a la infección y carga parasitaria con los caracteres vocales. En esta tabla se reportan los estudios incluidos en Garamszegi (2005) además de todos los trabajos publicados del 2005 a la fecha.

Especie	Parásitos o respuesta inmune analizados	Variables vocales	Resultados	Cita
<i>Hirundo rustica</i>	• <i>Ornithonyssus bursa</i>	• Tasa de canto	• Menor tiempo de dedicación al canto y presencia de anemia	Møller 1991
<i>Agelaius phoeniceus</i>	• <i>Dermanyssus sp.</i> , <i>Haemoproteus quisqualis</i> , <i>Leucocytozoon spp.</i> , <i>Plasmodium vaughani</i> , <i>Eufilaria hibler</i> , <i>Splendidofilaria quisquali</i> , <i>Plagiorchis sp.</i> , <i>Conspieuum sp.</i>	• Tamaño del repertorio • Tasa de cambio de cantos	• Machos con más canto tipo se encontraban infectados con más tipos de parásitos • La tasa de cambio no difirió entre machos parasitados y no parasitados.	Weatherhead <i>et al.</i> 1993
<i>Hirundo rustica</i>	• Variables hematológicas (concentración de leucocitos en sangre periférica, relación de gammaglobulinas frente a proteínas plasmáticas totales, velocidad de sedimentación de células humorales y hematocrito)	• Tasa del canto	• La tasa de canto se correlacionó negativamente con la concentración de linfocitos	Saino <i>et al.</i> 1997
<i>Taeniopygia guttata</i>	• Relación granulocito: linfocito (G: L)	• Tasa del canto	• Individuos en mejores condiciones tenían una mayor frecuencia de canto	Birkhead <i>et al.</i> 1998
<i>Acrocephalus schoenobaenus</i>	• <i>Haemoproteus sp.</i> , <i>Trypanosoma sp.</i> y <i>Plasmodium</i>	• Tamaño del repertorio	• Menor tiempo de dedicación al canto de vuelo y bajo peso • Menor tamaño del repertorio	Buchanan <i>et al.</i> 1999
<i>Strix aluco</i>	• <i>Leucozytozoon ziemanii</i> , <i>Haemoproteus syrnii</i> , <i>H. noctuae</i> y <i>Trypanosoma</i>	• Duración del llamado • Frecuencia de los llamados (ululaciones)	• Aumento en la frecuencia de las llamadas al aumentar la carga parasitaria • Disminución de la duración de las llamadas a medida que aumenta la carga parasitaria	Appleby y Redpath 1997
<i>Strix aluco</i>	• <i>Leucozytozoon ziemanii</i> , <i>Haemoproteus syrnii</i> , <i>H. noctuae</i> y <i>Trypanosoma</i>	• Longitud del llamado • Número de frecuencias del llamado	• Respuesta lenta al llamado de un intruso • Disminución en la frecuencia de las llamadas al aumentar la carga parasitaria	Redpath <i>et al.</i> 2000
<i>Sturnus vulgaris</i>	• Se realizó desafío inmunológico con la fitohemaglutinina (PHA) mitogénica	• Tasa y duración del canto	• Relación positiva entre la tasa de canto y la función inmune	Duffy y Ball 2002

Infección Parasitaria, condición corporal y cantos de células T y el antígeno hemocianina de lapa californiana (KLH)

Meza Montes, E.

<i>Ficedula albicollis</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Simulación parasitaria con glóbulos rojos de oveja (SRBC) 	<ul style="list-style-type: none"> • Tasa de canto, tamaño del repertorio • Características estructurales de la estrofa 	<ul style="list-style-type: none"> • Longitud del canto positivamente correlacionado con el HVC (núcleo de la canción del centro vocal superior) y el RA (núcleo robusto de la amígdala) • Tasa de canto disminuida • Tamaño de repertorio, complejidad y tamaño de las estrofas sin efecto • Masa corporal reducida 	Garamszegi <i>et al.</i> 2004
<i>Hirundo rustica</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Hirundoecus malleus</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • Estructuras finas del canto 	<ul style="list-style-type: none"> • Machos no infestados emiten cantos más largos 	Garamszegi <i>et al.</i> 2005
<i>Serinus canaria</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Plasmodium relictum</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • Tamaño del repertorio • Complejidad en el canto 	<ul style="list-style-type: none"> • Menor tamaño del repertorio • Cantos más simples y menor desarrollo del HVC en el cerebro 	Spencer <i>et al.</i> 2005
<i>Acrocephalus arundinaceus</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Haemoproteus</i> y <i>Plasmodium</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • Tamaño del repertorio 	<ul style="list-style-type: none"> • No hubo diferencia entre machos parasitados y no parasitados 	Bensch <i>et al.</i> 2007
<i>Melospiza melodia</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Relación heterófilo: linfocito 	<ul style="list-style-type: none"> • Tamaño del repertorio 	<ul style="list-style-type: none"> • Machos con mayor tamaño de repertorio tenían menores proporciones de H: L y una mejor condición corporal 	Pfaff <i>et al.</i> 2007
<i>Zonotrichia leucophrys oriantha</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Leucocytozoon</i> y <i>Plasmodium</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • Tasa de canto, consistencia y estructura del canto 	<ul style="list-style-type: none"> • Reducción de la tasa y variabilidad del canto 	Gilman <i>et al.</i> 2007
<i>Parus major</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Ceratophyllus gallinae</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • Longitud del canto • Tiempo de respuesta a intruso • Tamaño del repertorio 	<ul style="list-style-type: none"> • Menor longitud del canto • Mayor tiempo de respuesta al playback • No hay cambios en el repertorio 	Bischoff <i>et al.</i> 2009

	<i>Infección Parasitaria, condición corporal y cantos</i>		<i>Meza Montes, E.</i>	
<i>Serinus canaria</i>	• <i>Ixodes ricinus</i>	• Consistencia del canto y trinos	• Reducción en la consistencia del canto y el número de trinos producidos	Müller <i>et al.</i> 2013
			• Bajos niveles de testosterona en el plasma y efecto negativo en el estado de salud	
<i>Chlorodrepanis virens</i>	• <i>Plasmodium relictum</i>	• Complejidad en el canto	• Menor complejidad, menos cambios de frecuencia, cantos más cortos, menos notas por sílaba	Pang-Ching <i>et al.</i> 2018

ANTECEDENTES

Variación geográfica y taxonomía de la Matraca Nuquirrufa

La Matraca Nuquirrufa está conformada por tres grandes grupos con base en su morfología, variación de sus cantos y genes (Selander 1965; Vázquez-Miranda *et al.*, 2009; Sosa-López *et al.*, 2013). Selander (1965) clasificó morfológicamente a los cuatro grupos como pequeñas, medianas y grandes. La forma pequeña—*humilis*—tiene una coloración café castaño uniforme en la cabeza y la nuca, con la corona café y línea malar negra, la cola es barrada de color café-negrusco y gris claro, no presenta manchas en el pecho, sólo en los lados que se convierten en pequeñas barras en los flancos. La forma media—*rufinucha*—tiene una corona negra que contrasta con el café-castaño de la nuca, en la cabeza presenta una línea superciliar blanca muy marcada desde el pico hasta las cobertoras del oído, la barbilla y garganta son blancas, mientras que el pecho es blanco y moteado con pequeños putos negros-parduscos, el color de su espalda es café claro que se va degradando hacia la parte baja del dorso presentando barras longitudinales blancas y negras muy marcadas en la parte superior, las cobertoras del ala son barradas con un color grisáceo-negro y rojizo, las plumas cobertoras inferiores de la cola presentan barras negras y blancas. La forma grande—*nigracaudatus* y *capistratus*—tienen una corona negra, nuca y miembros anteriores de coloración café castaño, la región ventral es blanquizca, la presenta una variación irregular, además las infracobertoras caudales no presentan ningún patrón (Selander, 1964).

No existe aislamiento geográfico entre la distribución de las dos últimas formas y la delimitación se realiza por características morfológicas, *nigracaudatus* se distribuye desde Chiapas, Mexico, *capistratus* se encuentra desde el noroeste de Guatemala hasta el noroeste de Costa Rica (Selander 1964). En línea con la variación morfológica, la variación geográfica en los cantos y genética de la Matraca Nuquirrufa es atribuible a las diferencias entre los tres grupos *rufinucha*, *humilis* y *capistratus*, sugiriendo aislamiento histórico entre las formas debido a las barreras físicas (Vázquez-Miranda *et al.*, 2009; Sosa-López *et al.*, 2013). Se ha sugerido que el aislamiento prolongado de esta especie ha promovido las diferencias en morfología y plumaje (Selander 1964), genética (Vázquez-Miranda *et al.*, 2009) y caracteres vocales (Sosa-López *et al.*, 2013), explicando el patrón consistente de variación en estos rasgos.

JUSTIFICACIÓN

Las aves albergar una gran variedad y número de ectoparásitos, incluyendo piojos y garrapatas (Boyd 1951). Entre los endoparásitos, las coccidias (especialmente de los géneros *Eimeria* e *Isospora*) y del orden Haemosporida son

los más comunes y existe evidencia que sugiere que pueden afectar la conducta vocal de los individuos infectados (Møller 1991, Weatherhead *et al.* 1993, Buchanan *et al.* 1999, Appleby y Redpath 1997, Redpath *et al.* 2000, Spencer *et al.* 2005, Garamszegi *et al.* 2005, Gilman *et al.* 2007, Bischoff *et al.* 2009, Müller *et al.* 2013 y Pang-Ching *et al.* 2018). Aunque existe evidencia que sugiere que el efecto de los parásitos puede afectar la conducta vocal en diversas formas, el número y los rasgos vocales utilizados varían entre estudios (Tabla 1).

En México no se han realizado estudios que exploren la relación entre el estatus de infección y la carga parasitaria con caracteres conductuales. Específicamente, para la especie de la Matraca Nuquirrufa, el único reporte de parásitos se llevó a cabo en nidos, registrando la presencia de los ácaros *Hemicheyetia bakeri*, *Dermantophagoides pteronyssinus* y *Cheyletus eruditus* en el municipio de Miltepec, Oaxaca (Estébanes 1997). Entonces, los estudios con los que se cuentan actualmente a nivel mundial son pocos y con resultados inconsistentes en cuanto a la identificación de las variables susceptible a los efectos de la infección parasitaria.

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar los efectos de parásitos sanguíneos sobre el estrés crónico, la condición corporal y la conducta vocal de la Matraca Nuquirrufa.

Objetivos específicos

1. Analizar la asociación entre el estatus de infección y la carga parasitaria con el estrés crónico y con la condición corporal de los individuos de la Matraca Nuquirrufa.
2. Analizar la asociación entre el estatus de infección, la carga parasitaria, el estrés crónico y la condición corporal con la variación de la conducta vocal en tres niveles: (1) la variación en la complejidad de los cantos (i.e. tamaño del repertorio), (2) la variación presente en las características finas estructurales de los cantos, y (3) la variación del desempeño vocal de los individuos de la Matraca Nuquirrufa.
3. Analizar si existe una asociación entre el estatus de infección y la carga parasitaria entre los miembros de las parejas o familiares que habitan en un mismo territorio de la Matraca Nuquirrufa.

HIPÓTESIS Y PREDICCIONES

Este estudio se basa en tres hipótesis:

- a) hipótesis de genes de resistencia, en donde los hospederos coevolucionan con los parásitos y como resultado generan una resistencia heredable.
- b) hipótesis de indicador de contagio, establece que las hembras prefieren a machos con caracteres sexuales ostentosos para evitar la transmisión de parásitos entre individuos.
- c) hipótesis de los padres eficientes, sugiere que las hembras eligen machos con ornamentos elaborados que podrían beneficiar a través del provisionamiento de mayores recursos en el cuidado paternal.
- d) hipótesis de la evasión de parásitos, hembras que eligen machos no infectados para reducir la probabilidad de contagiarse.

Predicciones

Se ha hipotetizado que el canto del ave, como un rasgo sexualmente seleccionado, es indicador del estado de salud y el vigor del individuo (Hamilton y Zuk 1982; Andersson 1994). Entonces, si la presencia de hemoparásitos repercute en el vigor y salud del individuo—afectando sus habilidades vocales—, esperaríamos una relación negativa entre el parasitismo (estatus de infección y la carga parasitaria) y el desempeño vocal en los individuos infectados (i.e. a mayor carga parasitaria, menor desempeño vocal). Se espera que el efecto del estatus de infección y de la carga parasitaria se refleje en la expresión de caracteres sexuales secundarios y en la condición física de los individuos (Møller *et al.* 1999).

Si las características espectro-temporales (i.e. frecuencias y duración de los cantos) y desempeño del canto (i.e. tasa del canto y tamaño del repertorio) refleja la carga parasitaria y la condición corporal, se espera que:

- 1) Los individuos no infectados o infectados pero con baja carga parasitaria (< 0.01% parasitaemia) tendrán repertorios más complejos (i.e. mayor número de cantos tipo) en comparación a los individuos más parasitados (Spencer *et al.* 2005).
- 2) Debido a que la condición corporal es un indicador del estado fisiológico de las aves, se espera encontrar diferencias en los individuos infectados, con altos niveles de estrés y/o con bajo desempeño en el canto, que tengan una menor condición corporal (Buchanan *et al.* 1999; Dawson y Bortolotti 2000; Garamszegi *et al.* 2004; Norte *et al.* 2009; Coultier *et al.* 2011).
- 3) La repetición de las notas de los cantos será más lenta en individuos infectados y con mayor carga parasitaria en comparación con individuos no infectados o con carga parasitaria baja. Esta predicción se basa en evidencia que sugiere una relación entre la velocidad con la que los trinos son emitidos y la calidad del individuo, debido a limitaciones físicas en la coordinación de movimientos rápidos y precisos del tracto vocal (Podos 1997, Vallet *et al.*, 1998, Draganoiu *et al.*, 2002, Ballentine *et al.*, 2004, Podos *et al.*, 2009).

En la tercera parte del estudio se analizó la asociación del estatus de infección y la carga parasitaria entre los miembros de una pareja o familiares que habitan en un mismo territorio. De acuerdo a las hipótesis de indicador de contagio y a la hipótesis de evasión de parásitos, se espera que el estatus de infección y la carga parasitaria de alguno de los individuos sea un predictor del estado del segundo individuo con el que comparte el territorio.

METODOLOGÍA

Especie y área de estudio

Se estudió la conducta vocal de 50 individuos de la Matraca Nuquirrufa del 18 de abril al 5 de julio del 2017. De acuerdo a estudios morfológicos, genéticos y conductuales (Barker 2007, Vazquéz-Miranda *et al.* 2009, Sosa-López *et al.* 2013, Ku-Peralta y Sosa-López 2019) existen tres grupos taxonómicos: *rufinucha*, *humilis* y *capistratus*. El área de estudio se encuentra en la zona de contacto entre los grupos *humilis* y *capistratus*, la cual se produce en un área restringida a lo largo de 30 km en el oeste de Chiapas, entre Tonalá y Tres Picos (Selander 1965; Fig. 1).

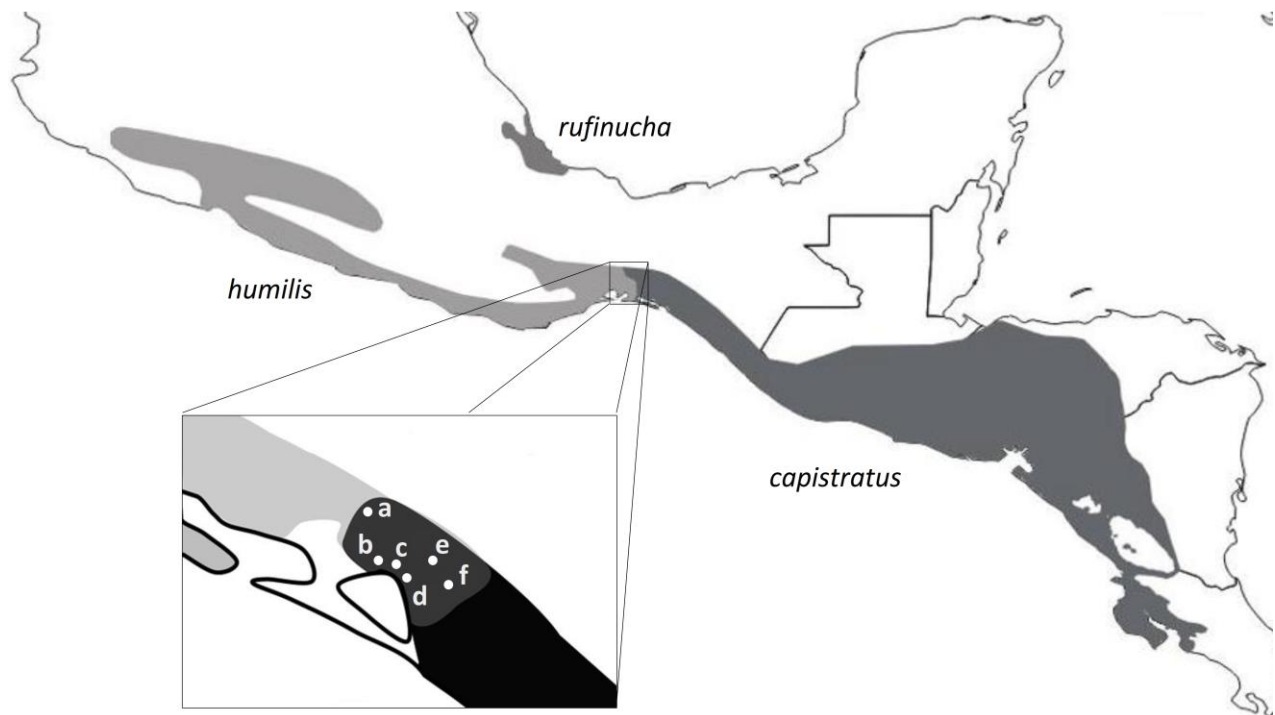


Figura 1. Mapa que muestra la distribución de la Matraca Nuquirrufa y las localidades donde se realizó el muestreo. Las regiones sombreadas indican los rangos de distribución de los tres grupos dentro del complejo: *rufinucha*, *humilis* y *capistratus*. En el recuadro con el mapa amplificado se muestran las localidades muestreadas, las cuales se ubican dentro de la zona de contacto: (a) Rancho Tres Reyes; (b) La Polka, Esmeralda; (c) La Polka, Carretera; (d) La Polka, Panteón; (e) Ejido Alberto Cruz; y (f) Ejido Unión y Progreso.

El área de estudio está ubicada en las localidades cercanas a La Joya, Municipio de Tonalá en el Estado de Chiapas, México. La localidad se encuentra a una altura promedio de 10 metros sobre el nivel del mar entre las coordenadas 15° 48' y 15° 59' de latitud norte y 93° 32' y 93° 47' de longitud oeste. Tiene un clima caluroso, subhúmedo y con lluvias en verano, pero con un periodo de sequía en medio de la estación de lluvias (García, 1981). La vegetación original es selva seca caducifolia, selva semicaducifolia y manglares (Miranda, 1952; Breedlove, 1981), aunque actualmente la vegetación dominante es pastizal inducido para ganadería (Otero-Aranaiz *et al.* 1999).

Identificación de individuos y obtención de datos morfométricos

Para identificar individualmente a las aves estudiadas se utilizaron redes de niebla para capturar y marcar con anillos de color a 50 individuos de Matraca Nuquirrufa. Cada individuo fue anillado con una combinación única de colores y un anillo metálico con un número único (siguiendo la metodología propuesta por Sosa-López y Mennill 2014). La identificación del sexo se llevó a cabo mediante una prueba basada en ADN (Griffiths *et al.*, 1998), debido a que esta especie no cuenta con caracteres de plumaje o coloración con dimorfismo sexual (ver información detallada abajo). Se obtuvieron medidas morfológicas y muestras sanguíneas para la preparación de frotis usados en los análisis de parásitos (Santiago-Alarcon y Carbó-Ramírez 2015). Las variables morfológicas fueron: (1) peso del ave en gramos, (2) cuerda alar, estimada desde el punto más prominente del carpo, hasta el punto más prominente de la pluma primaria más larga; (3) longitud de la cola, estimada como la distancia entre la punta de la rectriz más larga y el punto de inserción de las dos rectrices centrales; (4) tamaño del tarso, estimada como la longitud entre la articulación intertarsal y el extremo distal de la última escala de la pata antes de que surjan los dedos; (5) longitud del pico, estimada como la distancia entre el extremo anterior de los nostrilos y la punta del pico; (6) culmen expuesto, estimada como la longitud entre la base del pico y la punta del pico; (7) profundidad del pico, estimada como la longitud de la parte inferior de la mandíbula hasta la parte superior del maxilar a nivel de las narinas; y (8) ancho del pico, estimada como la longitud tomada de un lado al otro, al nivel de la base del pico (Pyle *et al.*, 1997).

Determinación del sexo

La determinar el sexo mediante análisis moleculares fue realizada en 32 ejemplares; el sexo de los 18 individuos restantes se identificaron en campo, mediante la inspección del parche de cría para las hembras y la protuberancia cloacal para los machos (Ralph *et al.* 1993). Para el análisis molecular se realizó la extracción del ADN utilizando el kit de extracción de sangre y tejido DNeasy de QIAGEN. Se utilizaron 2 mm cúbicos de coágulo incubándolo en PBS (Phosphate-buffered saline buffer), el resto del protocolo se continuó siguiendo las instrucciones del fabricante y el protocolo modificado de Griffiths *et al.* 1998. Para mejorar el rendimiento de la

prueba se llevó a cabo las siguientes modificaciones: se emplearon los primers P8/P2 y la amplificación por PCR se realizó en un volumen total de 15 μ L con una desnaturalización inicial a 94°C durante 1 minuto y 30 segundos. Posteriormente se efectuaron 30 ciclos de 94°C por 45 segundos, 45°C por 1 minuto, 72°C por 1 minuto y 45°C por un minuto, la extensión final a 72°C durante 5 minutos. Los productos finales se separaron por electroforesis en un gel de agarosa al 3% teñido con SYBR Save. Todos los PCR se realizaron bajo las siguientes condiciones: mezcla 4 μ l DNA: 4 μ l de buffer de carga, voltaje: 60 V, intensidad: 400 A, potencia: libre, tiempo de corrida: 50 minutos - 1 hora.

Índice de condición corporal

Para calcular el índice de condición corporal se utilizó el modelo de Índice de Masa Escalado (\widehat{M}_i) para cada individuo (Peig y Green, 2009):

$$\widehat{M}_i = M_i \left[\frac{L_0}{L_i} \right]^{b_{SMA}}$$

En donde M_i es la masa corporal, L_i es el valor de la medida morfológica a utilizarse –en este caso la cuerda alar–, L_0 es el promedio de la longitud de la cuerda alar para la población de estudio, y el exponente alométrico b_{SMA} es la pendiente de la recta que mejor se ajusta a los datos en una regresión estandarizada de eje principal (SMA por sus siglas en Inglés) entre las variables utilizadas (Peig y Green, 2009, 2010; Tabla 2). Las medidas del pico tienden a mostrar una alta variación a pesar de que hayan sido tomadas por la misma persona, y aunque también presentaron una alta correlación ($r = 0.6$), se considero descartarlas para evitar un error en la estimación fiable de la condición corporal. Entonces, se utilizó la cuerda alar para calcular el índice de masa corporal debido a que esta variable presenta una alta correlación con la masa corporal de los individuos, además es una medida fácil de obtener y que presenta alta repetibilidad aun cuando es medida por diferentes personas. (Pascual y Senar, 1997; Tabla 3).

Tabla 2. Datos morfológicos obtenidos en campo. El peso y la cuerda alar fueron utilizados para calcular el Índice de Masa Escalado (\widehat{M}_i) para cada uno de los individuos

ID	Peso	Cuerda alar	Longitud de la cola	Tarso	Culmen L	Culmen D	Culmen con narinas	Ancho del culmen	\widehat{M}_i
5901	27.5	73	67.5	24	4.5	5.6	15.7	21.1	27.45
5904	32	76	74	25.6	5.3	5.7	15.8	21.7	29.32
5905	31	76	68.4	25.8	4.9	5.5	16.1	22.3	28.40
5906	28	71	65	24.3	4.1	5.2	14.7	19.3	29.65
5907	31.15	76	65	25.1	4.3	5.2	17.2	24.9	28.54
5908	27	70	65.5	23.3	4.1	5	14.5	21.4	29.47
5910	33.02	76	73.2	26.4	4.4	5.4	17.4	24.6	30.25

5911	28.41	69	63.7	24.4	4.3	5.3	15.4	20.7	31.98
5912	26.05	70	63.5	24.1	3.7	4.9	13.9	19.9	28.44
5913	29.96	76	67.1	25.5	4.4	5.3	15.5	24	27.45
5914	30.18	77	70.9	24.3	4.5	5.6	15.5	22.4	26.89
5915	29.4	72	67	23.4	4	5.1	14.7	20.8	30.22
5916	39.62	77	71.8	25.6	4.8	5.7	17.3	22.9	35.30
5917	32.96	71	66.2	24.8	4.5	5.1	14.5	20.4	34.91
5918	29.14	71	67.3	25.7	4.9	5.2	15.1	21.8	30.86
5919	25.83	68	65.9	25.3	4.2	4.9	14.7	19.7	29.99
5920	32.26	73	68.5	25.4	5.1	5.6	16.2	22.2	32.20
5921	35.51	77	73.2	25.5	4.8	5.7	17	24.3	31.64
5922	31.53	72	65.2	25.4	4.6	5.2	15.5	22.3	32.41
5923	26.06	71	65.4	24.5	4.7	5.2	14.6	21.3	27.60
5924	30.78	78	70.5	25.9	4.7	5.5	16	22.9	26.68
5925	30.99	76	70.6	25.5	4.8	5.3	15.3	22.4	28.39
5926	26.64	68	64.2	24	4.4	5.2	14.1	21.3	30.93
5927	24.47	70	61.8	23.6	4.5	5	13.9	20.6	26.71
5928	29.83	78	68.1	25.7	4.5	5.4	16.2	22.6	25.86
5929	30.68	77	67	26.1	4.7	5.4	15.5	22.3	27.34
5930	24.12	69	60.3	23.4	4.4	5.1	14.6	20.5	27.15
5931	26.36	70	64.6	23.6	4.3	5.6	13.4	19.7	28.77
5932	30.7	72	63.3	23.4	4.2	4.8	15.2	21.2	31.56
5933	25.94	71	68.6	24.4	4.1	4.9	15.2	20.1	27.47
5934	31.89	79	77.3	23.9	4.7	5.5	17.5	23	26.90
5935	26.74	70	69.3	24.6	4.1	4.9	14.6	19.2	29.19
5936	33.13	79	67	25.4	4.4	5.6	16.2	22.2	27.95
5938	31.58	77	61	27.3	3.9	5	15.3	22.6	28.14
5939	29.54	72	65	25.5	4.1	4.5	14.7	21.3	30.37
5940	29.94	70	61	23.4	3.9	4.4	13.3	20.2	32.68
ZH05	26.6	69	61	23.5	4	4.6	15.2	22.3	29.94
5941	28.34	75	68	25.2	3.8	4.9	15.2	21.1	26.71
5942	27.44	70	62	23.2	3.9	5	15.2	20.3	29.95
5943	32.59	74	66	25	4.7	5.1	17	22.2	31.60
5944	32.3	69	59	23.7	4	4.4	15.6	21.3	36.36
ZH13	30.93	72	67	24.4	4.1	5.2	16.1	23.3	31.80
501	31.19	74	65	26	4.4	5.1	15.7	24.1	30.25
502	26.45	69	59	23.5	3.7	4.7	15	22	29.77
503	30.89	80	69	25.6	4.9	5.2	16.8	22.4	25.37
504	34.52	77	68	26.8	4	5	16.8	22.6	30.76
505	30.26	70	55	25.1	4.2	4.7	16.1	20.7	33.03
506	32.76	70	61	24.3	3.7	4.6	14.1	20.5	35.76

507	28.43	70	62	26.7	4.1	4.7	15.3	21.5	31.03
508	27.51	70	62	25.4	4.4	4.9	14.6	21.6	30.03

Tabla 3. Valores de la correlación de Pearson de cada variable con el peso de los individuos de la Matraca Nuquirrufa. La cuerda alar es la que se encuentra mayormente correlacionada, por la cual fue utilizada para terminar el Índice de Masa Escalado (\widehat{M}_i) de cada uno de los individuos. Se aplicó una corrección de Bonferroni utilizando los siete términos del modelo, lo que resultó en una significación estadística que se aceptó cuando $p \leq .007$, los valores significativos están en negrita.

Variables	Correlación de Pearson	P
Peso*Cuerda alar	0.6	< .0005
Peso*Longitud de la cola	0.4	.002
Peso*Tarso	0.5	< .0005
Peso*Longitud del pico	0.3	.015
Peso*Profundidad del pico	0.3	.017
Peso*Culmen expuesto	0.6	< .0005
Peso*Ancho del pico	0.6	< .0005

Identificación de parásitos y cálculo del índice del estrés crónico

Para realizar la cuantificación de hemoparásitos, se prepararon cuatro frotis sanguíneos de cada ave capturada siguiendo las recomendaciones metodológicas de Santiago-Alarcón y Carbó-Ramírez (2015). Para la preparación de cada frotis se utilizó una gota de sangre y el resto de la muestra se guardó en tubos plásticos (1.5mL) en etanol al 100% para posteriores análisis moleculares. Una vez que los frotis sanguíneos estuvieron secos, se fijaron en metanol al 100% en cajas Coplin durante 4 minutos. Posteriormente, los frotis se secaron y se colocaron en una caja para almacenar portaobjetos. En el laboratorio, los frotis se tiñeron con Giemsa histológico diluido en un buffer salino (Santiago-Alarcón y Carbó-Ramírez 2015).

Para determinar el estatus de infección, la intensidad de infección o carga parasitaria y realizar un conteo diferencial de células blancas (leucocitos) de las aves muestreadas se utilizó un microscopio óptico. Se identificaron parásitos de los géneros *Plasmodium*, *Haemoproteus*, *Leucocytozoon*, *Trypanosoma* y microfilarias. A partir de la información obtenida se determinaron dos parámetros poblacionales parasitológicos: (1) prevalencia, calculado como el número de hospedadores infectados por hemoparásitos dividido por el número total de hospedadores examinados (expresado en porcentaje); y (2) intensidad, calculada como el número de eritrocitos infectados por Haemosporida o el número de parásitos del género *Trypanosoma* y/o microfilarias en un conteo total de 10,000 eritrocitos para cada muestra. En adición, se realizó un PCR con primers específicos para parásitos haemosporidios (Beadell *et al.* 2004) y un PCR anidado (Hellgren *et al.* 2004, Pacheco 2018), para

determinar el estado de la infección y amplificar un fragmento del gen del citocromo b del ADNmt (~ 480 pb) de los parásitos de los géneros *Plasmodium*, *Haemoproteus* y *Leucocytozoon*.

El conteo diferencial de leucocitos y el conteo de parásitos se realizaron en 100 campos ópticos a un aumento de 1000x (Valkiūnas *et al.* 2008, Santiago-Alarcón y Carbó-Ramírez 2015). La identificación y conteo del número de células leucocitarias (linfocitos, monocitos, trombocitos, eosinófilos, heterófilos y basófilos) se basó en los criterios establecidos por Campbell y Ellis (2007). Esta evaluación permitió el cálculo de la relación heterófilos/linfocitos (H: L), un valor que se utiliza como índice del estrés crónico del individuo (Davis y Maerz 2008; Vleck *et al.*, 2000; Tabla 4).

Tabla 4. Comparación de perfiles diferenciales hematológicos, estrés y carga parasitaria entre los miembros por territorios.

Territorio	Sexo ^a	Leucocitos ^b	Linfocitos	Heterófilos	Eosinófilos	Monocitos	Basófilos	CP ^c
T06	H	46000	77	6	8	9	0	0
T06	M	48000	64	16	11	8	1	1
T07	H	54000	50	27	19	3	1	0
T07	H	16000	76	12	6	5	1	0
T08	H	38000	90	3	3	4	0	2
T04	ND	64000	78	6	9	7	0	10
T13	M	36000	78	10	4	7	1	0
T13	H	28000	83	11	1	5	0	0
T12	M	12000	90	1	1	8	0	0
T12	M	16000	87	6	1	5	1	0
T11	M	32000	81	9	1	8	1	5
T11	H	22000	85	4	2	8	1	488
T14	M	32000	82	8	1	9	0	0
T14	H	32000	60	21	9	8	2	0
T17	H	46000	92	4	0	4	0	0
T17	H	30000	80	7	3	9	1	0
T18	M	24000	84	10	3	3	0	0
T21	M	12000	92	2	0	5	1	0
T21	H	56000	75	19	2	4	0	0
T23	H	26000	91	5	1	3	0	0
T23	M	36000	77	9	5	8	1	0
T24	M	80000	62	13	8	17	0	218
T24	M	34000	80	8	3	6	3	363
T25	H	10000	79	9	5	7	1	0
T25	H	14000	79	17	2	2	0	0
T25	H	32000	75	14	4	7	0	0
T25	M	44000	73	13	3	11	0	0

T30	H	16000	64	18	6	12	0	0
T31	H	36000	81	12	1	5	1	1
T32	H	26000	87	7	1	4	1	0
T32	M	28000	84	4	1	10	1	0
T33	H	22000	89	7	3	1	0	0
T34	H	24000	81	6	3	8	2	0
T36	M	24000	87	4	2	6	1	0
T36	H	14000	86	7	1	5	1	0
T39	H	42000	70	14	7	7	2	26
T38	H	20000	86	7	1	5	1	0
T40	M	54000	60	20	16	2	2	4
T41	M	34000	90	4	2	2	2	6
T42	M	50000	84	7	1	8	0	0
T42	H	136000	49	37	7	5	2	0
T43	M	6000	92	2	0	5	1	3
T45	H	6000	80	10	3	7	0	0
T48	H	10000	82	9	1	8	0	0
T44	M	16000	81	10	3	6	0	0
T44	H	32000	78	9	1	11	1	0
T50	H	34000	74	15	4	5	2	0
T49	H	8000	81	10	3	5	1	0
T51	H	14000	78	10	4	7	0	0

^a H = hembra; M = macho

^b Total de leucocitos/ μ L

^c Carga parasitaria

Muestreo acústico

Para obtener grabaciones de las aves bajo estudio se utilizó la metodología descrita en Sosa-López y Mennill (2014). Después de marcar con anillos de color a las aves, y con la ayuda de dos asistentes en campo, se colectaron cantos y datos conductuales siguiendo a las parejas capturadas y realizando grabaciones focales entre las 0645 y las 1100 horas (CST). Durante las grabaciones se identificó la identidad del ave mediante la combinación de anillos. Las grabaciones fueron realizadas con grabadoras digitales Foxtex DV-R302 en combinación con un micrófono Sennheiser ME67 o una parábola Telinga Universal con un micrófono Sennheiser ME67, o usando una grabadora Tascam DR-70D en combinación con un micrófono Sennheiser ME67. En promedio se obtuvieron 05.43 (± 0.14) horas de grabación focal realizadas en 2.84 (± 1.34) días en promedio. Todas las grabaciones fueron realizadas en formato WAV (44.1 kHz y 16 bits).

Análisis acústicos

Para el análisis acústico se obtuvieron tres categorías de variables: (1) variables relacionadas a la complejidad de los cantos (i.e. tamaño del repertorio), (2) variables describiendo las características estructurales finas de los

cantos (i.e. variable de resistencia vocal), y (3) variables que describen el desempeño vocal de las aves. Para representar la complejidad de la conducta vocal se calculó el repertorio de cantos. El tamaño del repertorio se define como el número de diferentes versiones de los cantos de un individuo o el número de cantos tipo que posee un individuo (Buchanan *et al.* 1999, Catchpole y Slater, 2008). Esta variable se calculó usando todas las grabaciones realizadas para cada uno de los individuos bajo estudio. Siguiendo la metodología propuesta por Sosa-López y Mennill (2014) se catalogaron visualmente todos los cantos obtenidos por canto tipo, generando espectrogramas en el software Syrinx-PC (J. Burt, Seattle, WA, EE.UU.). El canto de la Matraca Nuquirrufa se compone de sílabas melódicas con frecuencia modulada combinadas y frases tonales distintivas, las cuales se repiten a lo largo del canto (Bradley y Mennill, 2009). Por lo tanto, las frases son la unidad que definen los tipos de cantos, por lo que la clasificación fue basada en la frase y no el número de sílabas totales dentro de los cantos. La anotación de los cantos consistió en la clasificación de dos cantos como el mismo tipo si ambos cantos tenían la misma frase (i.e. unidades que se repiten a lo largo del canto con el mismo orden y tipo de sílabas; Fig. 2). Cada vez que un nuevo canto fue anotado, este se incluyó como un nuevo tipo canto y se le asignó un número único. Al final se creó un catálogo de cantos tipos de cada una de las aves analizadas, el cual contiene la identidad del individuo, el tipo canto, fecha, hora y sitio de la grabación. Para determinar si durante las sesiones de grabación

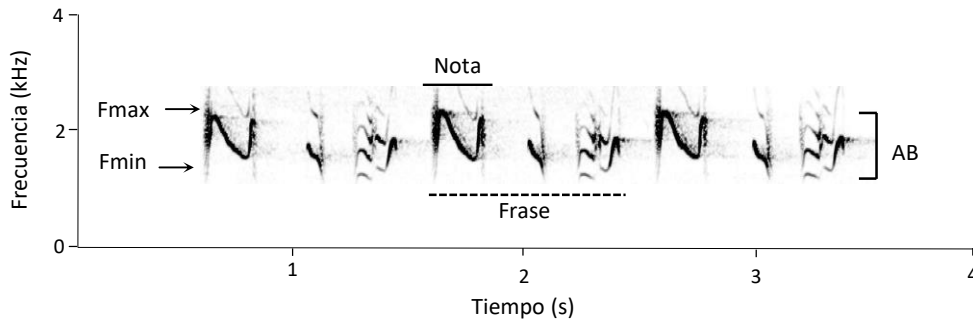


Figura 2. Espectrograma de un canto de la Matraca Nuquirrufa. La imagen muestra los elementos encontrados en el canto como notas y frases. Una nota se define como un trazo continuo y distinto en un espectrograma, mientras que una frase es la combinación de notas en un orden estereotipado (Catchpole y Slater 2008). Además, se ilustran algunas variables obtenidas durante el estudio como la frecuencia máxima (Fmax), frecuencia mínima (Fmin) y el ancho de banda (AB).

se registraron la mayoría del repertorio de los individuos, comparamos el número de cantos grabados contra el tamaño del repertorio. El análisis sugiere que es necesario grabar aproximadamente 40 cantos para obtener una representación cercana al repertorio real de las aves (Fig. 3). Como resultado colectamos la mayoría del repertorio para 10 individuos grabados en campo.

Debido a que en aves territoriales con repertorios que contienen más de un canto tipo es común encontrar cantos que se comparten entre dos o más individuos, se eligió el canto tipo cantado por el mayor número de aves

para el análisis estructural. El canto tipo seleccionado se encontró en el repertorio de 16 aves (Fig. 4). Previo al análisis, los cantos se visualizaron usando espectrogramas con el objetivo de elegir solo grabaciones de alta calidad (i.e. alta relación señal/ruido y sin sonidos de fondo traslapados en el mismo rango de frecuencia del canto focal) usando el software Syrinx-PC (J. Burt, Seattle, WA, EE.UU.). Las variables fueron: (1) longitud del canto, definido como la duración desde el inicio de la primera nota hasta el final de la última nota del canto; (2) duración de la frase, definido como el tiempo desde el comienzo de la primera nota hasta el final de la última nota de la frase; (3) frecuencia mínima, definido como el valor mínimo de la frecuencia de todas las notas de una frase; (4) ancho de banda de frecuencia, definido como la frecuencia máxima menos la mínima, (5) frecuencia pico, definido como la frecuencia con mayor energía; (6) número de notas en el canto, una nota es un sonido de frecuencia modulada que contiene energía de manera continua—se observa en el espectrograma como un trazo continuo—e incluye sus

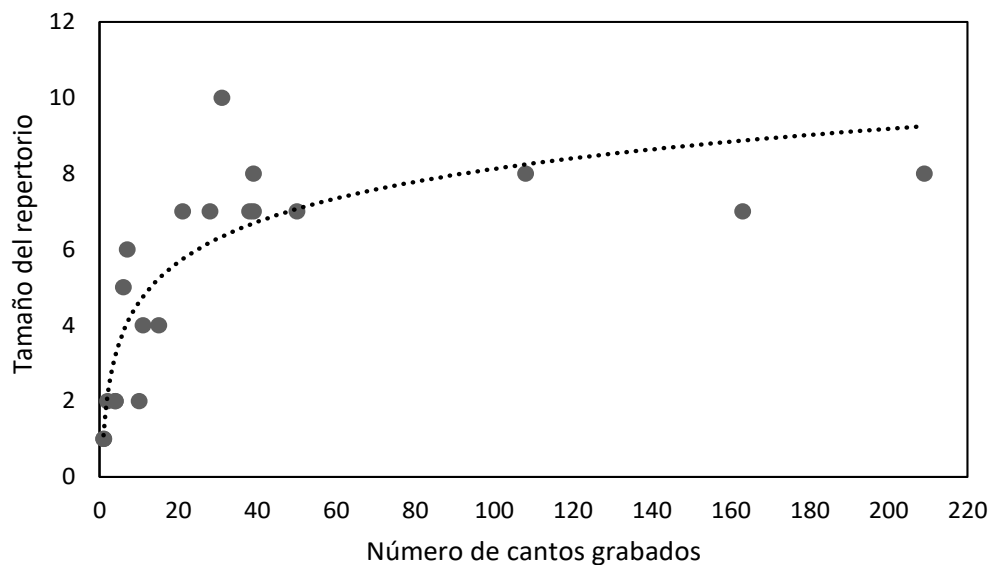


Figura 3. Gráfica mostrando el tamaño del repertorio en función de los cantos grabados. En la gráfica se observa que es necesario grabar alrededor de 40 cantos (momento en el que se comienza a alcanzar la asíntota) para obtener una estimación confiable del tamaño del para un individuo de *Matraca Nuquirrufa*.

armónicos; y (7) ritmo, definida como el número de notas vocalizadas por tiempo dentro del canto (i.e. número de notas dentro de la duración del canto). Los espectrogramas para el análisis estructural se realizaron usando una ventana Hamming, con una resolución de 64 ms, una transformación de Fourier rápida (FFT) de 1024 puntos y un traslape de 80% en el software Raven Pro1.4 (Ithaca, NY: The Cornell Lab of Ornithology).

Para disminuir el número de variables y evitar un problema de multicolinealidad entre las variables estructurales de los cantos, se realizó un análisis de componentes principales (PCA). En el análisis de componentes principales se incluyeron las seis variables estructurales (i.e. longitud del canto, longitud promedio de las frases,

bajas frecuencias, ancho de banda, frecuencia pico y ritmo). Los factores fueron rotados usando la función Varimax. El análisis de componentes principales se realizó usando la matriz de correlaciones, la cual mostró que todas las variables tenían al menos un coeficiente de correlación mayor que 0.3. Se extrajeron componentes con eigenvalores > 1 . El análisis de componentes principales resultó en dos componentes que juntos explicaron el 66.54% de la varianza total (Tabla 5). El primer componente se asoció positivamente con el ancho de banda y la frecuencia pico, y negativamente con las bajas frecuencias, sugiriendo que el ancho de banda y la frecuencia pico aumentan cuando las frecuencias bajas disminuyen. El segundo factor se asoció positivamente a la longitud de la frase, el ritmo (i.e. consistencia) y longitud del canto, sugiriendo que mientras más larga es la frase, ésta aumenta su ritmo y la duración del canto.

Tabla 5. Cargas de los dos componentes principales que resumen seis variables acústicas medidas de 16 individuos. Los eigenvalores y el porcentaje de variación explicada se presentan para cada componente, y las variables con la carga más fuerte para cada componente están en negrita. Los valores corresponden a componentes rotados usando varimax.

	Componente 1	Componente 2
Eigenvalores	2.25	1.74
Varianza explicada (%)	37.52	29.02
Variables		
Ancho de Banda	0.92	0.04
Bajas frecuencias	-0.80	0.17
Frecuencia Pico	0.75	0.12
Longitud de las frases	0.34	0.80
Consistencia	-0.23	0.79
Longitud del canto	-0.01	0.65

* El análisis de componentes principales fue basado sobre la matriz de correlaciones. Los componentes con eigenvalores > 1 fueron extraídos. Los valores de los componentes fueron calculados con el método de regresión. La hipótesis de que todas las correlaciones en la matriz de correlación son cero fue rechazada (Bartlett's: χ^2 : 26.147, DF: 15, $p < 0.037$; KMO: 0.493).

Para el análisis de desempeño vocal de las aves se calculó la tasa del canto. Para calcular esta variable se usaron grabaciones realizadas entre las 0645 y las 1100 horas (CTS). Las observaciones en campo sugieren que los coros del amanecer de la Matraca Nuquirrufa ocurren dentro de este periodo del día (con el primer canto ocurriendo aproximadamente a las 0645 horas). Primero se generaron espectrogramas de las grabaciones de estos periodos con el fin de detectar secciones de las grabaciones con vocalizaciones continuas. Se registró la hora de inicio, la hora de finalización, y el número de cantos emitidos. Posteriormente se calculó la tasa del canto la cual se define como el número de veces que el ave cantó por unidad de tiempo (Møller 1991; Saino *et al.*, 1997; Garamszegi *et al.*, 2004; Gilman *et al.*, 2007). Esta variable se calculó por día y se calcula el promedio de los valores de todos los días de grabación para cada ave. Los espectrogramas se generaron usando una ventana Hanning, con una resolución de 64 ms y una transformación de Fourier rápida (FFT) de 1024 puntos en el software Syrinx-PC (J. Burt, Seattle, WA, EE.UU.).

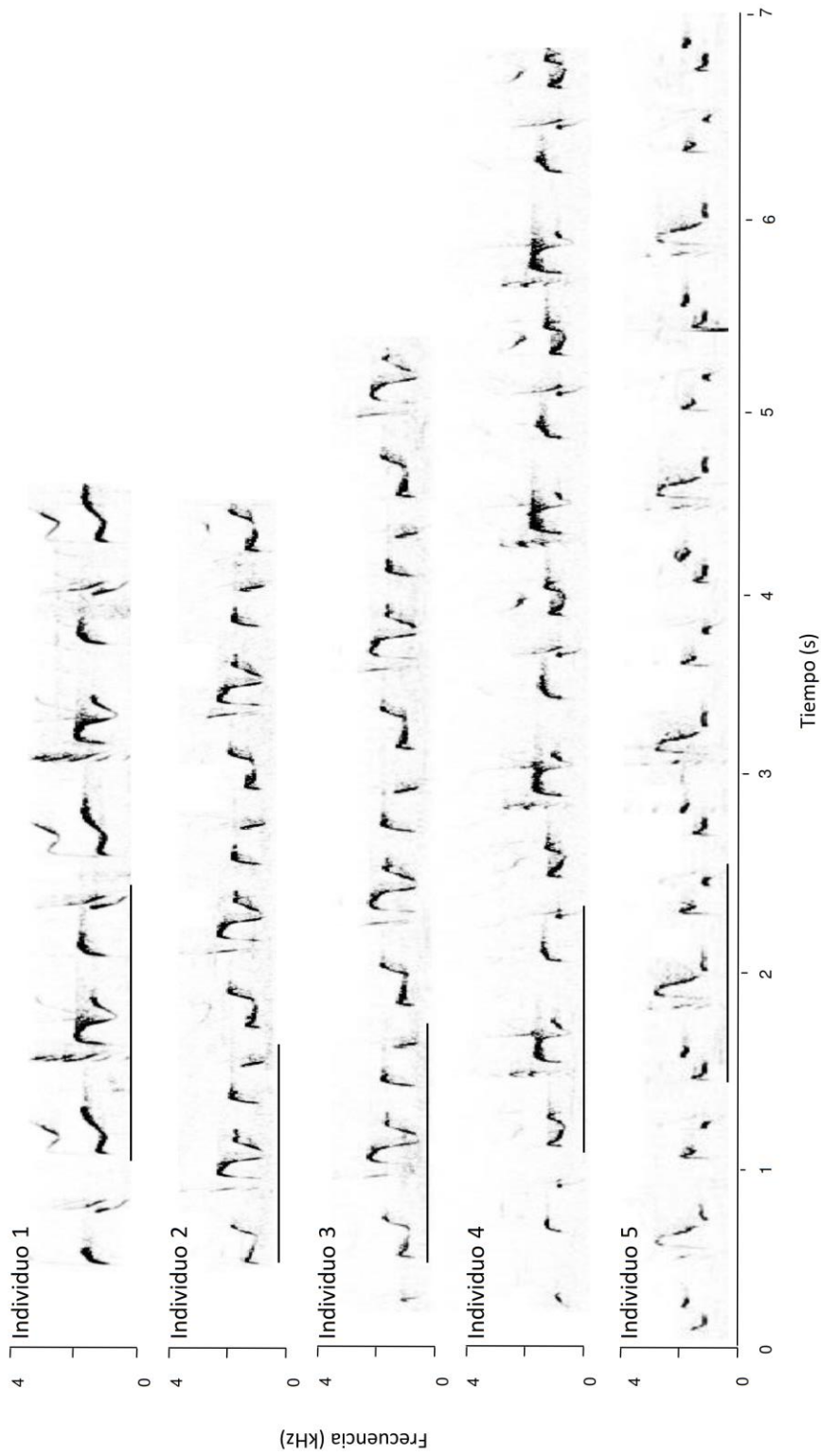


Figura 4. Cantos de cinco individuos de la Matraca Nuquirrufa. Los cinco cantos corresponden al mismo canto tipo, el cual es definido en base a la frase. Las líneas negras indican las frases, en este caso la frase está compuesta de cuatro elementos.

Análisis estadístico

Se realizaron seis Modelos lineales Generalizados (GLM por sus siglas en inglés) para analizar la asociación entre la infección parasitaria, el estrés crónico, la condición corporal y la conducta vocal de los individuos de la Matraca Nuquirrufa. En el primer análisis se incluyó como variable dependiente el estatus de infección (1 = infectado, 0 = no infectado) y como factores fijos el estrés crónico, condición corporal y sexo (0 = macho, 1 = hembra) usando una distribución cuasibinomial. En el segundo análisis se incluyó como variable dependiente la carga parasitaria y como factores fijos estrés crónico, condición corporal y sexo usando una distribución binomial negativa. En el tercer análisis se incluyó como variable dependiente el tamaño del repertorio y como factores fijos el estatus de infección, condición corporal, estrés crónico y sexo usando una distribución gaussiana. En el cuarto análisis se incluyó como variable dependiente el primer componente principal (i.e., PC1, componente asociado a las variables ancho de banda, la frecuencia pico y las bajas frecuencias) y como factores fijos estatus de infección, condición corporal, estrés crónico y sexo usando una distribución gaussiana. En el quinto análisis se incluyó como variable dependiente el segundo componente principal (i.e., PC2: variable que incluye la longitud de la frase, el ritmo y la longitud del canto) y como factores fijos el estatus de infección, condición corporal, estrés crónico y sexo usando una distribución gaussiana. Finalmente, en el sexto análisis se incluyó como variable dependiente la tasa de canto y como factores fijos el estatus de infección, condición corporal, estrés crónico y sexo usando una distribución gaussiana. Para analizar si existe una relación entre la carga parasitaria entre los miembros de las parejas territoriales se utilizó un análisis de correlación de Spearman utilizando las variables estatus de infección y carga parasitaria. El análisis de componentes principales y las correlaciones fueron realizados en los softwares IBM SPSS STATISTICS 21.0, mientras que los GLMs fueron realizados en R, utilizando el paquete MASS para la distribución binomial negativa (v 3.3.3, <http://www.R-project.org>; los scripts de R se encuentran en el Anexo 1).

RESULTADOS

En este estudio se analizó la conducta vocal y su relación con el estatus de infección y la carga parasitaria en la Matraca Nuquirrufa. En total se capturaron 50 individuos pertenecientes a 32 territorios, de los cuales se capturaron y estudiaron las parejas en 16 territorios. En los territorios restantes solo se logró capturar a la hembra en 8 territorios, y al macho en tres territorios.

Los análisis en laboratorio mostraron que 14 de los 50 individuos (6 hembras y 8 machos) estuvieron infectados con parásitos del género *Plasmodium* (12) y con larvas de nemátodos (i.e., microfilarias) (2), con una prevalencia del 28% (*Plasmodium* 85.71%; Anexo 2). Los análisis microscópicos mostraron una variación

considerable en la carga parasitaria de las Matracas Nuquirrufas, que va desde 0 hasta 488 parásitos en 100 campos ópticos (~ 10,000 eritrocitos).

Los resultados del GLM indican que no hay respuesta significativa en la asociación del estatus de infección con las variables de estrés crónico y condición corporal (Tabla 6). Sin embargo, en la carga parasitaria se encontró un efecto marginalmente significativo relacionado con los machos, sugiriendo que estos contienen una mayor cantidad de parásitos que las hembras ($p = 0.0923$, Tabla 6).

Del total de individuos capturados y marcados, se obtuvieron grabaciones de 20 individuos. Tomando en cuenta solo los individuos para los que tenemos suficientes grabaciones (10 individuos alcanzaron la asíntota), el repertorio de la Matraca Nuquirrufa es de $7.6 (\pm 0.96)$ cantos (Fig. 4). En promedio se encontró que los machos tuvieron un repertorio de $7.33 (\pm 0.51; N = 6)$ cantos, mientras que las hembras tuvieron un repertorio de $8 (\pm 1.41; N = 4)$ cantos.

Los resultados de los GLM indican que no existe efecto del estatus de infección, estrés crónico y condición corporal sobre ninguna de las variables de los componentes principales (Tabla 6). Por el contrario, los resultados sugieren que el estatus de infección se encuentra asociado al desempeño, sugiriendo que los individuos infectados tienden a tener una tasa de canto más alta ($P=0.0475$, Tabla 6).

Tabla 6. Resultados de GLM para estatus de infección, carga parasitaria, complejidad del canto, características finas estructurales del canto, y desempeño vocal. Solo se reportan los modelos finales. En negritas se resalta los valores significativos de P.

Variable dependiente	n	Factores	Estimado	SE	Valor t	p	
Estatus de infección ^a	49	Intercepto	-2.50	4.19	-0.68	0.60	
		Condición corporal	0.06	0.14	0.41	0.69	
		Estrés crónico	2.58	2.71	1.22	0.22	
		Sexo*	-1.38	0.74	-1.67	0.10	
		Desviación nula = 58.63 en 48 df					
		Desviación residual = 54.28 en 45 df					
Carga parasitaria ^b	49	Intercepto	0.38	8.45	0.04	0.97	
		Condición corporal	0.17	0.29	0.61	0.54	
		Estrés crónico	-10.91	7.38	-1.48	0.14	
		Sexo*	-2.20	1.37	1.60	0.11	
		Desviación nula = 26.32 en 48 df					
		Desviación residual = 24.33 en 45 df					
Complejidad ^c (Tamaño del repertorio)	10	Intercepto	1.60	0.16	0.95	0.35	
		Estatus de infección*	-.05	0.09	-0.60	0.57	
		Condición corporal	0.03	0.02	1.33	0.24	
		Estrés crónico	-1.03	1.11	-0.93	0.39	
		Sexo*	0.03	0.09	-0.60	0.57	
		Desviación nula = 1.04 en 9 df					
Desviación residual = 0.66 en 5 df							

Desempeño ^d (Tasa de canto)	19	Intercepto	1.15	0.14	8.00	3.61E-07
		Estatus de infección*	0.48	0.22	2.14	0.04
		Sexo*	-0.30	0.18	-1.67	0.11
		Desviación nula =4.05 en 19 df				
		Desviación residual =2.79 en 17 df				
Estructura del canto ^d (PC1)	15	Intercepto	5.01	5.41	0.92	0.37
		Estatus de infección*	-0.35	0.64	-0.55	0.59
		Estrés Crónico	0.52	8.76	0.06	0.95
		Condición corporal	-0.15	0.20	-0.79	0.44
		Sexo*	-0.42	0.60	-0.70	0.49
		Desviación nula =14.97 en 14 df				
Desviación residual =12.23 en 10 df						
Estructura del canto ^d (PC2)	15	Intercepto	-3.38	5.65	-0.60	0.56
		Estatus de infección*	-0.31	0.67	-0.46	0.65
		Estrés Crónico	-3.96	9.14	-0.43	0.67
		Condición corporal	0.14	0.21	0.66	0.52
		Sexo*	-0.52	0.63	-0.82	0.42
		Desviación nula =14.83 en 14 df				
Desviación residual =13.31 en df						

Tipos de distribución usados en el GLM: ^a Cuasibinominal; ^b Bionimial; ^c Cuasipoisson; ^d Gaussiana.

*Categorías usadas en el análisis: 0 = macho, 1 = hembra; y 0 = no infectado, 1 = infectado.

Para analizar si existe una relación del estatus de infección entre los miembros de una pareja se utilizó un análisis de correlación de Spearman utilizando las variables estatus de infección y carga parasitaria. Los resultados de correlación indican que existe una asociación positiva significativa, tanto para el estatus de infección como para la carga parasitaria, entre los individuos de las parejas y familiares de cada territorio analizado (Table 7).

Tabla 7. Correlación de Spearman que indica que el estatus de infección y la carga parasitaria se encuentran correlacionadas positivamente entre los individuos de una pareja (i.e. un mismo territorio). El tamaño de muestra fue n = 16. En negritas se resalta los valores significativos de P < 0.05.

Variable	Individuo1
a) Estatus de infección	Individuo2 0.78
b) Carga parasitaria	Individuo2 0.83

DISCUSIÓN

En este estudio se analizaron los efectos de la infección hemoparasitaria sobre el estrés crónico, la condición corporal y la conducta vocal de la Matraca Nuquirrufa. Los resultados obtenidos sugieren que la presencia de hemoparásitos no depende del sexo y no se encuentra asociado al estrés o la condición corporal. La influencia del estatus de infección y la carga parasitaria tampoco tuvo un efecto en la complejidad o estructura del canto. Sin embargo, se observó un efecto significativo del estatus de infección sobre en el desempeño vocal. Este último

resultado sugiere que los individuos infectados emiten una tasa de canto más alta en comparación a los individuos sanos. En la última parte del análisis se encontró que existe una correlación entre el estatus de infección y la carga parasitaria entre los miembros de una familia, sugiriendo que los individuos que conforman un mismo territorio comparten los mismos parámetros de infección.

Varios estudios han explorado la relación entre la infección parasitaria y la condición corporal en aves (Buchanan *et al.* 1999; Dawson y Bortolotti 2000; Garamszegi *et al.* 2004, Valkiūnas 2006; Spencer *et al.* 2005; Garvin *et al.* 2006; Marzal *et al.* 2008; Norte *et al.* 2009; Coultier *et al.* 2011; Müller *et al.* 2012; Synek *et al.* 2013; Santiago-Alarcón *et al.* 2013, Rojo *et al.* 2014; Fleskes *et al.* 2017; Jiménez-Peñuela *et al.* 2018). Algunos de estos estudios han encontrado una relación negativa significativa, indicando que los individuos con una infección parasitaria mayor tienen una condición corporal menor (e.g. Buchanan *et al.* 1999; Dawson y Bortolotti 2000; Garamszegi *et al.* 2004, Garvin *et al.* 2006; Marzal *et al.* 2008; Norte *et al.* 2009; Fleskes *et al.* 2017). Contrario a estos estudios, los resultados muestran que no existe efecto de la infección parasitaria sobre la condición corporal en la Matraca Nuquirrufa, similar a otras especies analizadas (Santiago-Alarcón *et al.* 2019a). Alternativamente, un factor que podría contribuir a estos resultados el efecto de las infecciones mixtas (Marzal *et al.* 2008). Se ha hipotetizado que las infecciones mixtas pueden provocar anemia, pérdida de masa corporal y reducción en la supervivencia al hospedero, (Valkiūnas 2004; Graham *et al.* 2005; Davidar y Morton 2006); no obstante los resultados no son concluyentes. Posiblemente, debido a que las co-infecciones son altamente virulentas y requieren de un elevado consumo de recursos del hospedero (Lagrue *et al.* 2007; Choisy y de Roode 2010; Palinauskas *et al.* 2011); alternativamente, la parasitemia total podría ser más alta durante una coinfección, en comparación de una infección con una sola especie (McKenzie *et al.* 2006). En los individuos de Matraca Nuquirrufa muestreados solo se encontró un género de parásitos. De forma similar, otros estudios –en donde también se ha encontrado solo un género parásito– han reportaron una relación no significativa entre la infección parasitaria y la condición corporal (e.g. Spencer *et al.* 2005; Müller *et al.* 2012; Knutie *et al.* 2013, Van de Crommenacker *et al.* 2012; Santiago-Alarcón *et al.* 2013). Sin embargo, a menudo los resultados son exclusivos de cada sitio de estudio, de la población de aves y del género parasitario (Santiago-Alarcón *et al.* 2019a). Es importante que estudios posteriores busquen incrementar el número de aves analizadas, que ayudarán a aclarar si la ausencia de un efecto de la infección parasitaria sobre la condición corporal en las Matracas Nuquirrufas es quizás producto de un bajo número de muestras infectadas o debido a la ausencia de infecciones mixtas, o es simplemente el patrón natural de la especie en el cual el ave ha desarrollado una tolerancia a las infecciones por parásitos sanguíneos.

Pocos son los estudios que han analizado las relaciones entre los parásitos y las variables hematológicas que incluyen los índices de estrés crónico H: L (Ots *et al.* 1998; Norte *et al.* 2009; Krams *et al.* 2010; 2013; Cornelius *et al.* 2014; Granthon y Williams 2017; Santiago-Alarcon *et al.* 2019b). Los resultados sugieren que no existe una asociación entre los parásitos y el estrés crónico en la Matraca Nuquirrufas. Una posible explicación es que la infección pudiera no ser tan virulenta como para provocar una respuesta inmune detectable por parte del hospedero (Cornelius *et al.* 2014). Otra explicación sugiere que las aves presentan características propias para hacer frente al estrés ocasionado por la infección, debido posiblemente a que dichos parásitos son nativos del área y han coevolucionado con esta especie de ave (Santiago-Alarcón *et al.* 2019b). Además, los estudios disponibles acerca de la patogenicidad de los hemosporidios en aves silvestres sugieren que la mortalidad se produce en la etapa aguda de la infección (Permin y Juhl 2002; Williams 2005; Atkison y Samuel 2010; Palinauskas *et al.* 2011). Aquellos individuos que llegan a sobrevivir podrían presentar un estado de inmunidad (“*premunition*”) a los parásitos, con presencia de infecciones crónicas con costos bajos para la adecuación (Valkiūnas 2004; Bensch *et al.* 2007).

Existen estudios que sugieren que las infecciones en aves silvestres pueden afectar el desarrollo del HCV –sección del cerebro asociado a la complejidad del canto en diversas especies– mediando la expresión de estos caracteres sexuales secundarios (Airey *et al.* 2000; Garamszegi y Eens 2004). Sin embargo, los resultados de los estudios que analizan la relación entre el tamaño del repertorio y la infección parasitaria son inconsistentes (Weatherhead *et al.* 1993, Buchanan *et al.* 1999; Garamszegi *et al.* 2004, 2005; Spencer *et al.* 2005; Bensch *et al.* 2007; Bischoff *et al.* 2009). Similar a los resultados de la Matraca Nuquirrufa, algunos de estos estudios no han encontrado una correlación entre la complejidad del canto y la presencia de parásitos (Buchanan *et al.* 1999; Spencer *et al.* 2005). Es posible que las infecciones no afecten caracteres como los cantos. Alternativamente, el bajo número de casos infectados quizás haga difícil encontrar una tendencia para la especie estudiada (Weatherhead *et al.* 1993). Otra posible explicación es la presencia de factores que podrían estar obscureciendo los resultados. Por ejemplo, se sabe que el tamaño del repertorio aumenta con la edad del ave (Catchpole 1986; Gil *et al.* 2001; Galeotti *et al.* 2001, Nicholson *et al.* 2007). Entonces, estudios futuros deberían incrementar el número de individuos infectados y considerar variables que puedan confundir los resultados como la edad del ave.

La tasa de canto es otra variable que se ha asociado con la infección parasitaria en aves. Estos estudios sugieren que la infección en el desempeño del canto está asociada negativamente a la respuesta inmune de los individuos (e.g. anemia o leucocitosis; Møller 1991; Buchanan *et al.* 1999; Garamszegi *et al.* 2004; Gilman *et al.* 2007; Müller *et al.* 2013). El grado de infección parasitaria y la respuesta inmune puede depender de factores que

estén afectando a ambos independientemente. Por ejemplo, cabe la posibilidad que los individuos parasitados presenten una baja calidad en el canto y que sus condiciones fisiológicas afectadas no sean un resultado directo de la infección, si no posiblemente debido una variación temporal del muestreo. Existen estudios que han analizado poblaciones de aves en diferentes tiempos, encontrando diferentes resultados (e.g., Buchanan *et al.* 1999; Redpath *et al.* 2000). Sin embargo, cuatro de estos estudios han sido trabajos experimentales, por lo que establecer los patrones causales en vida silvestre requiere de más estudios y de una mayor representación de especies de aves con diferentes historias de vida. Contrario a las predicciones, en este estudio se encontró que los individuos infectados de la Matraca Nuquirrufa emiten una tasa de canto más alta en comparación de los individuos sanos. Dentro de las especies hospedadoras algunas pueden ser más sensibles a la infección que otras, y posiblemente la Matraca Nuquirrufa pudo haber coevolucionado junto con los parásitos que se encuentran en las localidades de estudio (Palinauskas *et al.* 2008). Estos resultados son consistentes con las predicciones de la hipótesis de Hamilton y Zuk. Sin embargo, para que las infecciones parasitarias afecten la expresión de rasgos seleccionados sexualmente de acuerdo a la hipótesis de Hamilton y Zuk, éstas deben imponer costos al hospedero. En este estudio no se encontró un efecto de la infección parasitaria, el estrés y la condición corporal en las Matracas Nuquirrufas, pero dicho resultado debe ser tomado con cautela debido a que en el análisis solo se contó con cuatro individuos parasitados de un total de 20.

Diversos estudios han analizado los efectos de la infección parasitaria sobre las variables estructurales del canto (Appleby y Redpath 1997; Redpath *et al.* 2000; Garamszegi *et al.* 2004; 2005; Gilman *et al.* 2007; Bischoff *et al.* 2009; Müller *et al.* 2013; Pang-Ching *et al.* 2018). Por ejemplo, en la Cacerrín Común la vocalización conocida como matraqueo (“*rattle*” en inglés) es importante durante las interacciones entre machos y se ha demostrado la relación entre el estado de salud y la estructura de dicho rasgo (Garamszegi 2005). Sin embargo, la variación de estos rasgos es quizás también el resultado de otros rasgos biológicos de las especies (e.g. edad, condición corporal, testosterona, respuesta inmune) y sus características fenotípicas (Gil y Gahr 2002). Además, el canto es un rasgo que contiene diversas variables estructurales que pudieran transmitir diferentes tipos de información (Gil y Gahr 2002). Por lo tanto, determinar que rasgos de los cantos son susceptibles a los efectos de infecciones parasitarias es una tarea complicada. Estudios futuros deberían identificar los roles de los caracteres vocales de la Matraca Nuquirrufa en interacciones intra- e inter-específicas, con el objetivo de seleccionar aquellos rasgos vocales en los que las infecciones podrían tener un efecto significativo (Clayton 1991; Weatherhead *et al.*, 1993).

De acuerdo a la hipótesis de indicador de contagio y a la hipótesis de evasión de parásitos, la probabilidad de que un individuo sea infectado aumenta al emparejarse con un individuo altamente parasitado. Estudios han encontrado correlación entre el estatus y las cargas parasitarias entre los miembros de la pareja (Potti y Merino

1995; Blanco *et al.*, 1997 Hoi *et al.*, 1998, Darolova *et al.* 2001 Whiteman y Parker 2004; Brooke 2010, Dona *et al.*, 2017). En línea con esta predicción, en este estudio se observó que existe una correlación positiva altamente significativa entre el estatus de infección y la carga parasitaria entre los miembros de un territorio. Poco se sabe sobre cómo el parasitismo afecta directamente la conducta vocal de las aves, por lo tanto es difícil estimar como la hembra puede evitar el contagio a través del canto. Un estudio experimental podría determinar si las hembras utilizan los rasgos del canto para evaluar la condición parasitológica del macho y así decidir emparejarse con ellos.

En conclusión, aunque el canto de las aves ha sido objeto de múltiples estudios, solo unos pocos han analizado las asociaciones entre la conducta vocal y la infección por parásitos. Dentro de esos estudios se han considerado componentes vocales y fisiológicos diferentes, generando resultados inconsistentes. Nuestros conocimientos sobre los procesos causales que expliquen como la infección parasitaria afecta directamente los rasgos vocales en las aves siguen siendo deficientes. Los hallazgos de esta investigación no implican que la infección parasitaria no conlleve a ningún costo, y podría reflejarse en otras variables que no fueron medidas en este estudio (e.g. hematocrito, testosterona, edad, calidad del territorio, cuidado paternal, tasa de supervivencia). Sin embargo, la ausencia de relaciones negativas entre las variables fisiológicas (condición corporal y estrés crónico) y las variables vocales sugieren que las Matracas Nuquirrufas pueden mantener múltiples procesos fisiológicos y al mismo tiempo una buena calidad del canto. Algunas características del canto no se correlacionaron con ninguno de los parámetros de calidad medidos, lo que sugiere que esos rasgos vocales no proporcionan información sobre el estado de salud de las Matracas Nuquirrufas. Estudios futuros podrían enfocarse en analizar todas las variables descritas en los estudios previos bajo un enfoque de modelos de ecuaciones estructurales, ampliando nuestro conocimiento acerca de cómo la infección parasitaria afecta la conducta vocal en la Matraca Nuquirrufa.

BIBLIOGRAFIA

- Ryan MJ, Brenowitz EA, 1985. The role of body size, phylogeny, and ambient noise in the evolution of bird song. *Am Nat.* 126: 87–100.
- Able DJ. 1996. The contagion indicator hypothesis for parasite-mediated sexual selection. *Proc Natl Acad Sci*
- Airey DC, Buchanan KL, Catchpole CK, Szekely T, DeVoogd, TJ. 2000. Song, sexual selection and a song control nucleus (HVC) in the brains of European sedge warblers. *J. Neurobiol.* 44: 1–6.
- Anderson RM, May RM. 1979. Population biology of infectious diseases. *Nature.* 280: 455-461.

- Appleby BM, Redpath SM. 1997. Indicators of male quality in the hoots of Tawny Owls (*Strix aluco*). J Raptor Res. 31: 65–70.
- Atkinson CT, Samuel MD. 2010. Avian malaria *Plasmodium relictum* in native Hawaiian forest birds: epizootiology and demographic impacts on `apapane *Himatione sanguinea*. J Avian Biol. 41: 357-366.
- Ball GF. 1999. Neuroendocrine basis of seasonal changes in vocal behavior among songbirds. En: Hauser, M.D. y Konishi M., editores. The Design of Animal Communication; p. 213–253.
- Ballentine B, Hyman J, Nowicki S. 2004 Vocal performance influences female response to male bird song: an experimental test. Behav Ecol. 15: 163–168.
- Barker FK. 2007. Avifaunal interchange across the Panamanian isthmus: insights from *Campylorhynchus* wrens. Biol J Linn Soc London. 9:687-702.
- Beadell JS, Fleischer RC. 2005. A restriction enzyme-based assay to distinguish between avian hemosporidians. J Parasitol. 91: 683-685.
- Bensch S, Waldenström J, Jonzén N, Westerdahl H, Hansson B, Sejberg D, Hasselquist D. 2007. Temporal dynamics and diversity of avian malaria parasites in a single host species. J Anim Ecol. 76:112–122.
- Birkhead TR, Fletcher F, Pellatt EJ. 1998. Sexual selection in the zebra finch *Taeniopygia guttata*: condition, sex traits and immune capacity. Behav Ecol Sociobiol. 44:179–191.
- Blanco G, Tell JL, Potti J. 1997. Feather mites on groupliving red-billed choughs: A non-parasitic interaction? J Avian Biol. 28: 197–206.
- Borgia G, Collis K. 1989. Female choice for parasite-free male satin bowerbirds and the evolution of bright male plumage. Behav Ecol Sociobiol. 25: 445–454.
- Borgia G. 1986. Satin bowerbird parasites—a test of the bright male hypothesis. Behav Ecol Sociobiol. 19: 355–358.
- Boyd EM. 1951. The external parasites of birds: a review. Wilson Bull. 63: 363–369.
- Bradbury JW, Vehrencamp SL. 2011. Principles of animal communication. 2nd. Sunderland: Sinauer.
- Breedlove DE. 1981. Introduction to the flora of Chiapas. Part 1. California Academic of Sciences. San Francisco, California; p. 35.
- Brooke ML. 2010. Vertical transmission of feather lice between adult blackbirds *Turdus merula* and their nestlings: a lousy perspective. J. Parasitol. 96:1076-1080.

- Brooks DR, McLennan DA. 1993. *Parascript: Parasites and the language of evolution*. Washington, D.C: Smithsonian Institution Press; p. 429.
- Buchanan KL, Catchpole CK, Lewis JW, Lodge A. 1999. Song as an indicator of parasitism in the sedge warbler. *Anim Behav.* 57: 307–314.
- Buchanan KL, Catchpole CK. 1997. Female choice in the sedge warbler, *Acrocephalus schoenobaenus*: multiple cues from song and territory quality. *Proc R Soc Lond B.* 264: 521–6.
- Campbell TW, Ellis CK. 2007. *Avian and exotic animal hematology and cytology*. 3er ed. Blackwell Publishing, Iowa.
- Carlson JS, Martínez-Gómez JE, Valkiūnas G, Loiseau C, Bell DA, Sehgal RNM. 2013. Diversity and phylogenetic relationships of hemosporidian parasites in birds of Socorro Island, México, and their role in the re-introduction of the Socorro Dove (*Zenaida graysoni*). *J Parasitol.* 99: 270–276.
- Catchpole CK, Slater PJB. 2008. *Bird song: biological themes and variations*. 2nd Ed. New York: Cambridge University Press.
- Catchpole CK. 1980. Sexual selection and the evolution of complex songs among warblers of the genus *Acrocephalus*. *Behaviour.* 74: 149–66.
- Catchpole CK. 1986. Song repertoires and reproductive success in the great reed warbler *Acrocephalus arundinaceus*. *Behav Ecol Sociobiol.* 19: 439–45.
- Catchpole CK. 1987. Bird song, sexual selection and female choice. *Trends Ecol Evol.* 2: 94–7.
- Choisy M, De Roode JC. 2010. Mixed infections and the evolution of virulence: effects of resource competition, parasite plasticity and impaired host immunity. *Am Nat.* 175: 105–118.
- Clayton DH. 1991. The influence of parasites on host sexual selection. *Parasitol Today.* 7:329–334
- Cloutier A, Mills JA, Yarrall JW, Baker AJ. 2011. *Plasmodium* infections of Red-billed Gulls (*Larus scopulinus*) show associations with host condition but not reproductive performance. *J R Soc NZ.* 41:261–77.
- Cornelius EA, Davis AK, Altizer SA. 2104. How important are hemoparasites to migratory songbirds? Evaluating physiological measures and infection status in three Neotropical migrants during stopover. *Physiol Biochem Zool.* 87: 719–728.
- Darolova A, Hoi H, Kristofik J, Hoi C. 2001. Horizontal and vertical ectoparasite transmission of three species of malophaga, and individual variation in European bee-eaters (*Merops apiaster*). *J Parasitol.* 87:256–262.

- Davidar P, Morton ES. 2006. Are multiple infections more severe for purple martins (*Progne subis*) than single infections? *Auk* 123: 141–147.
- Davis AK, Maerz JC. 2008. Comparison of hematological stress indicators in recently captured and captive paedomorphic mole salamanders, *Ambystoma talpoideum*. *Copeia*. 2008: 613-617.
- Dawson RD, Bortolotti GR. 2000. Effects of hematozoan parasites on condition and return rates of American kestrels. *The Auk*. 117: 373-380.
- Dona J Potti J, De La Hera I, Blanco, G, Frias O, Jovani R. 2017. Vertical transmission in feather mites: insights into its adaptive value. *Ecol Entom*. 42:492-499.
- Draganoiu TI, Nagle L, Kreutzer M. 2002. Directional female preference for an exaggerated male trait in canary (*Serinus canaria*) song. *Proc R Soc Lond B*. 269: 2525–2531.
- Duffy DL, Ball GF. 2002. Song predicts immunocompetence in male European starlings (*Sturnus vulgaris*). – *Proc R Soc Lond B*. 269: 847–852
- Eriksson D, Wallin L. 1986. Male bird song attracts females a field experiment. *Behav Ecol Sociobiol*. 19: 297–299.
- Estebanes-Gonzalez ML. 1997. Acarofauna en nidos de aves silvestres en México. *Acta Zool Mex*. 71: 1–15.
- Fleskes JP, Ramey AM, Reeves AB, Yee JL. 2017. Body mass, wing length, and condition of wintering ducks relative to hematozoa infection. *J Fish Wildl Manage*. 8: 89-100.
- Flint PL, Franson JC. 2009. Does influenza A affect body condition of wild mallard ducks, or vice versa? *Proc R Soc Lond B*. 276:2345–2346.
- Folstad I, Karter AJ. 1992. Parasites, bright males and the immunocompetence handicap. *Am Nat*. 139: 603– 622.
- Galeotti P, Saino N, Perani E, Sacchi R, Møller AP. 2001. Age-related song variation in male barn swallows. *Ital J Zool* 68:305–310.
- Garamszegi L Z, Eens M. 2004. Brain space for a learned task: strong intraspecific evidence for neural correlates of singing behaviour in songbirds. *Brain Res Rev*. 44:187–193.
- Garamszegi LZ, Møller AP, Török J, Michl G, Péczely P, Richard M. 2004. Immune challenge mediates vocal communication in a passerine bird: an experiment. *Behav Ecol*. 15:148–157.
- Garamszegi LZ. 2005. Bird song and parasites. *Behav Ecol Sociobiol*. 59: 167–180.
- García E. 1981. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köpen. Offset Larios. México, D.F. México.

- Garvin MC, Szell CC, Moore FR. 2006. Blood parasites of nearctic–neotropical migrant passerine birds during spring trans-gulf migration: impact on host body condition. *J Parasitol.* 92: 990-997.
- Gibson RM. 1989. Field playback of male display attracts females in lek breeding sage grouse. *Behav Ecol Sociobiol.* 24: 439-443.
- Gil D, Cobb JL, Slater PJ. 2001. Song characteristics are age dependent in the willow warbler, *Phylloscopus trochilus*. *Anim Behav.* 62: 689-694.
- Gil D, Gahr M. 2002. The honesty of bird song: multiple constraints for multiple traits. *Trends Ecol Evol.* 17: 133-141.
- Gilman S, Blumstein DT, Foufopoulos J. 2007. The effect of hemosporidian infections on white-crowned sparrow singing behavior. *Ethology* 113: 437–45.
- Graham AL, Lamb TJ, Read AF, Allen JE. 2005. Malaria filaria co-infection in mice makes malarial disease more severe unless filarial infection achieves patency. *J Infect Dis.* 191: 410–421.
- Granthon C, Williams DA. 2017. Avian malaria, body condition, and blood parameters in four species of songbirds. *Wilson J Ornithol.* 129: 492-508.
- Griffiths R, Double MC, Orr K, Dawson RJ. 1998. A DNA test to sex most birds. *Mol Ecol.* 7: 1071-1075.
- Hamilton WD, Zuk M. 1982. Heritable fitness and bright birds: a role for parasites. *Science* 218: 384—387.
- Hamilton WD. 1990. Mate choice near and far. *Am Zool.* 30: 341–352.
- Hellgren O, Waldenström J, Bensch S. 2004 A new PCR assay for simultaneous studies of *Leucocytozoon*, *Plasmodium*, and *Haemoproteus* from avian blood. *J Parasitol.* 90: 797-802.
- Hoi H, Darolova A, König C, Kristofik J. 1998. The relation between colony size, breeding density and ectoparasite loads of adult European bee-eaters (*Merops apiaster*). *Ecoscience* 5: 156– 163.
- Howell SN, Webb S. 1995. A guide to the birds of Mexico and northern Central America. Oxford University Press.
- Jiménez-Peñuela J, Ferraguti, M, Martínez-de la Puente J, Soriguer R, Figuerola J. 2019. Urbanization and blood parasite infections affect the body condition of wild birds. *Sci Total Environ.* 651:3015-3022.
- Johnson LS, Searcy WA. 1996. Female attraction to male song in house wrens (*Troglodytes aedon*). *Behaviour.* 133: 357–366.
- Knutie SA, Waite JL, Clayton DH. 2013. Does avian malaria reduce fledging success: an experimental test of the selection hypothesis. *Evol Ecol* 27:185–91.

- Krams I, Cirule D, Krama T, Hukkanen M, Rytönen S, Orell, M, Iezhova T, Tummeleht L. 2010. Effects of forest management on haematological parameters, blood parasites, and reproductive success of the Siberian tit (*Poecile cinctus*) in northern Finland. *Ann Zool Fenn.* 47:335– 346.
- Krams I. A., Suraka, V., Rantala, M. J., Sepp, T., Mierauskas, P., Vrublevska, J., & Krama, T. (2013). Acute infection of avian malaria impairs concentration of haemoglobin and survival in juvenile altricial birds. *J Zool.* 291: 34– 41.
- Ku-Peralta, W. y Sosa-López, J. R. (2019) Variación geográfica en los duetos de la Matraca Nuquirrufa (*Campylorhynchus rufinucha*) [Tesis Maestría]. México, Santa Cruz Xoxocotlán: Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Regional Unidad Oaxaca.
- Lagroe C, McEwan J, Poulin R, Keeney DB. 2007. Co-occurrences of parasite clones and altered host phenotype in a snail–trematode system. *Int J Parasitol.* 37: 1459–1467.
- Marzal A, Bensch S, Reviriego M, Balbontin J, de Loepe F. 2008. Effects of malaria double infection in birds: one plus one is not two. *J Evol Biol* 21:979–987.
- McKenzie FE, Smith DL, O’Meara WP, Forney JR, Magill AJ, Permpnich B, Erhart LM, Sirichaisinthop J, Wongsrichanalai C, Gasser RA Jr. 2006. Fever in patients with mixed-species malaria. *Clin Infect Dis.* 42: 1713–1718.
- Miranda F. 1952. La vegetación de Chiapas, primera parte. Gobierno del Estado Ed. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México.
- Møller AP, Christe P, Lux E. 1999. Parasitism, host immune function and sexual selection. *Q. Rev. Biol.* 74: 3–20.
- Møller AP. 1991. Parasite load reduces song output in a passerine bird. *Anim Behav.* 41: 723–730.
- Mountjoy DJ, Lemon RE. 1991. Song as an attractant for male and female European starlings, and the influence of song complexity on their response. *Behav Ecol Sociobiol.* 28: 97–100.
- Müller W, Heylen D, Eens, Rivera-Gutierrez HF, Groothuis TGG 2013.. An experimental study on the causal relationships between (ecto-) parasites, testosterone and sexual signaling. *Behav Ecol Sociobiol* 67: 1791–1798.
- Nicholson JS, Buchanan KL, Marshall RC, Catchpole CK. 2007. Song sharing and repertoire size in the sedge warbler, *Acrocephalus schoenobaenus*: changes within and between years. *Animal Behav.* 74: 1585-1592.

- Norte AC, Arujo PM, Sampajo HL, Sousa JP, Ramos JA. 2009. Haematozoa infections in a Great Tit *Parus major* population in central Portugal: relationships with breeding effort and health. *Ibis* 151:677–688.
- Otero-Arnaiz, A, Castillo S, Meave J, Ibarra-Manríquez G. 1999. Isolated pasture trees and the vegetation under their canopies in the Chiapas Coastal plain, México. *Biotropica* 31: 243–254.
- Ots I, Murumagi A, Hörak P. 1998. Haematological health state indices of reproducing Great Tits: methodology and sources of natural variation. *Funct Ecol.* 12:700–707.
- Pacheco MA, Cepeda AS, Bernotien, R, Lotta IA, Matta NE, Valkiūnas G, Escalante AA. 2018. Primers targeting mitochondrial genes of avian haemosporidians: PCR detection and differential DNA amplification of parasites belonging to different genera. *Int J Parasitol Parasites Wildl.* 48: 657–670.
- Palinauskas V, Valkiūnas GN, Bolshakov CV, Bensch S. 2008. *Plasmodium relictum* (lineage P-SGS1): effects on experimentally infected passerine birds. *Exp Parasitol.* 120:372–380.
- Palinauskas V, Valkiūnas GN, Bolshakov CV, Bensch S. 2011. *Plasmodium relictum* (lineage SGS1) and *Plasmodium ashfordi* (lineage GRW2): the effects of the co-infection on experimentally infected passerine birds. *Exp Parasitol* 127: 527-533.
- Pang-Ching JM, Paxton KL, Paxton EH, Pack AA, Hart PJ. 2018. The effect of isolation, fragmentation, and population bottlenecks on song structure of a Hawaiian honeycreeper. *Ecol Evol.* 8: 2076–2087.
- Pascual J, y Senar JC. 199. La medición del tamaño corporal en aves. *Etología.* 15: 9-16.
- Peig J, Green AJ. 2009. New perspectives for estimating body condition from mass/length data: the scaled mass index as an alternative method. *Oikos.* 118: 1883-1891.
- Peig J, Green AJ. 2010. The paradigm of body condition: a critical reappraisal of current methods based on mass and length. *Funct Ecol.* 24: 1323–1332.
- Permin A, Juhl J. 2002. The development of *Plasmodium gallinaceum* infections in chickens following single infections with three different dose levels. *Vet. Parasitol.* 105: 1-10
- Podos J, Lahti DC, Moseley DL. 2009. Vocal performance and sensorimotor learning in songbirds. *Adv Study Behav.* 40: 159–195.
- Podos J. 1997. A performance constraint on the evolution of trilled vocalizations in a songbird family (Passeriformes: *Emberizidae*). *Evolution* 51: 537–551.

- Potti J, Merino S. 1995. Louse loads of Pied Flycatchers—effects of hosts sex, age, condition and relatedness. *J Avian Biol.* 26:203–208
- Price T, Schluter D, Heckman NE. 1993. Sexual selection when the female directly benefits. *Biol J Linn Soc.* 48:187–211
- Pyle P, Howell SN, Yunick RP, DeSante DF, Gustafson M. 1997. Identification guide to North American passerines. Slate Creek Press, Bolinas, California.
- Ralph CJ, Geupel GR, Pyle P, Martin TE, DeSante DF, Mila B. 1996. Manual de métodos de campo para el monitoreo de aves terrestres. Gen. Tech. Rep. PSW-GTR-159. Albany, CA: US Department of Agriculture, Forest Service, Pacific Southwest Research Station.
- Redpath SM, Appleby MB, Petty SJ. 2000. Do male hoots betray parasite loads in Tawny owls? *J. Avian Biol.* 31:, 457–462.
- Rojo MA, Campos F, Santamaria T, Angeles Hernandez A. 2014. Haemosporidians in Iberian Bluethroats *Luscinia svecica*. *Ardeola* 61:135–43.
- Saino N, Galeott P, Sacchi R, Møller AP. 1997. Song and immunological condition in male barn swallows (*Hirundo rustica*). *Behav Ecol.* 8: 364–371.
- Sakata JT, Vehrencamp SL. 2012. Integrating perspectives on vocal performance and consistency. *J Exp Biol.* 215: 201–209.
- Santiago-Alarcon D, Carbó-Ramírez P, Macgregor-Fors I, Chávez-Zichinelli CA, Yeh PJ. 2019. The prevalence of avian haemosporidian parasites in an invasive bird is lower in urban than in non-urban environments. *Ibis.* doi: 10.1111/ibi.12699.
- Santiago-Alarcon D, Carbó-Ramírez P. 2015. Parásitos sanguíneos de malaria y géneros relacionados (orden: Haemosporida) en aves de México: recomendaciones metodológicas para campo y laboratorio. *Ornitol Neotrop.* 26: 59–77.
- Santiago-Alarcon D, MacGregor-Fors I, Falfán I, Lüdtke B, Segelbacher G, Schaefer HM, Renner S. 2019. Parasites in space and time: a case study of haemosporidian spatiotemporal prevalence in urban birds. *Int J Parasitol.* 49: 235–246.
- Santiago-Alarcon D, Mettler R, Segelbacher G, Schaefer HM. 2013. Haemosporidian parasitism in the Blackcap *Sylvia atricapilla* in relation to spring arrival and body condition. *J Avian Biol.* 44:521–530.

- Searcy WA, Andersson M. 1986. Sexual selection and the evolution of song. *Ann Rev Eco. Syst.* 17: 507–33.
- Selander RK. 1964. Speciation in wrens of the genus *Campylorhynchus*. *Univ Calif. Pubs Zool.* 74: 1–305.
- Selander RK. 1965. Hybridization of rufous-naped wrens in Chiapas, Mexico. *Auk* 82: 206–214.
- Skutch AF. 1935. Helpers at the nest. *Auk* 52:257–273.
- Skutch AF. 1960. Life histories of Central American birds. *Pac Coast Avifauna* 34:293–312
- Sosa-López JR, Mennill DJ, Navarro-Sigüenza AG. 2013. Geographic variation and the evolution of song in Mesoamerican rufous-naped wrens *Campylorhynchus rufinucha*. *J Avian Biol.* 44: 27–38.
- Sosa-López JR, Mennill, D. 2014. Vocal behavior of the island-endemic Cozumel Wren (*Troglodytes aedon beani*): song structure, repertoires, and song sharing. *J Ornithol.* 155: 337-346.
- Spencer KA, Buchanan KL, Leitner S, Goldsmith AR, Catchpole CK. 2005. Parasites affect song complexity and neural development in a songbird. *Proc R Soc B.* 272: 2037–2043.
- Synek P, Albrecht T, Vinkler M, Schnitzer J, Votýpka J, Munclinger P. 2013. Haemosporidian parasites of a European passerine wintering in South Asia: diversity, mixed infections and effect on host condition. *Parasitol Res.* 112:1667–1677.
- U S A. 93: 2229–2233.
- Valkiūnas Valkiūnas G, 2004. *Avian Malaria Parasites and Other Haemosporidia*. CRC Press, Boca Ratón, Florida.
- Valkiūnas G, Iezhova TA, Križanauskienė A, Palianuskas V, Sehgal RNM, Bensch S. 2008. A comparative analysis of microscopy and PCR-based detection methods for blood parasites. *J Parasitol.* 94: 1395-1401.
- Valkiūnas Valkiūnas G, Zickus T, Shapoval AP, Iezhova TA. 2006. Effect of *Haemoproteus belopolkyi* (Haemosporida: Haemoproteidae) on body mass of the blackcap *Sylvia atricapilla*. *J Parasitol.* 92:1123–1125
- Vallet E, Beme I, Kreutzer M. 1998. Two-note syllables in canary songs elicit high levels of sexual display. *Anim Behav.* 55: 291–297.
- Vallet E, Kreutzer M. 1995. Female canaries are sexually responsive to special song phrases. *Anim Behav.* 49: 1603–10.
- Van de Crommenacker J, Richardson DS, Koltz AM, Hutchings K, Komdeur J. 2012. Parasitic infection and oxidative status are associated and vary with breeding activity in the Seychelles Warbler. *Proc R Soc B.* 279:1466–1476.

- Vázquez-Miranda H, Navarro-Sigüenza AG, Omland KE. 2009. Phylogeography of the rufous-naped wren (*Campylorhynchus rufinucha*): Speciation and Hybridization in Mesoamerica. *Auk* 126: 765–778.
- Vehrencamp SL, 2000. Handicap, index, and conventional signal elements of bird song. In: *Animal signals: signaling and signal design in animal communication* (Espmark Y, Amundsen T, Rosenqvist T, eds). Trondheim: Tapir Academic Press; 277–300.
- Vleck CM, Vortalino N, Vleck D, Bucher TL. 2000. Stress, corticosterone, and heterophil to lymphocyte ratios in free-living Adelie penguins. *The condor*. 102: 392-400.
- Wasserman FE, Cigliano JA. 1991. Song output and stimulation of the female in white-throated sparrows. *Behav Ecol Sociobiol*. 29: 55–59.
- Weatherhead PJ, Metz KJ, Bennett GF, Irwin RE. 1993. Parasite faunas, testosterone and secondary sexual traits in male red-winged blackbirds. *Behav Ecol Sociobiol*. 33:13–23
- Whiteman NK, Parker PG. 2004. Effects of host sociality on ectoparasite population biology. *J Parasitol*. 90: 939-947.
- Williams, R. B. (2005). Avian malaria: clinical and chemical pathology of *Plasmodium gallinaceum* in the domesticated fowl *Gallus gallus*. *Avian Pathol*. 34: 29-47.

ANEXOS

Anexo 1. Scripts utilizados en los GLM para analizar la asociación entre la infección parasitaria, el estrés crónico, la condición corporal, el sexo y la conducta vocal de los individuos de la Matraca Nuquirrufa en el programa R.

```
estatus.mat <- glm(data$Estatus ~ data$Condicion + data$Estres + data$Sexo, family = quasibinomial)
```

```
int.mat <- glm.nb(data$Intensidad ~ data$Condicion + data$Estres + data$Sexo)
```

```
repertorio <- glm(data2$Repertorio ~ data2$Condicion + data2$Estres + data2$Sexo + data2$Estatus, family = quasipoisson)
```

```
tasa <- glm(data3$Tasa2 ~ data3$Estatus + data3$Sexo, family = gaussian)
```

```
pca1 <- glm(data4$PC1 ~ data4$Sexo + data4$Condicion + data4$Estatus + data4$Estres, family = gaussian)
```

```
pca2 <- glm(data4$PC2 ~ data4$Sexo + data4$Condicion + data4$Estatus + data4$Estres, family = gaussian)
```

Anexo 2. Información detallada de los datos tomados en campo de cada uno de los individuos. La tabla muestra la identificación, coordenadas de GPS, sexo, estatus de infección (0=no infectado, 1=infectado) y las variables vocales.

ID	Coordenadas	Sexo	Estatus de infección	Carga parasitaria	\hat{M}_i	Estrés crónico	Tasa de canto	Repertorio
5901	16°03'N, -93°42'W	Hembra	0	0	27.45	0.08		
5904	16°03'N, -93°42'W	Macho	1	1	29.32	0.25		
5905	16°03'N, -93°42'W	Hembra	0	0	28.40	0.54		
5906	16°03'N, -93°42'W	Hembra	0	0	29.65	0.16		
5907	16°03'N, -93°42'W	Hembra	1	2	28.54	0.03		
5908	16°03'N, -93°42'W	ND	1	10	29.47	0.08		
5910	15°58'N, -93°41' W	Macho	0	0	30.25	0.13	66.65	8
5911	15°58'N, -93°41' W	Hembra	0	0	31.98	0.13	5.63	7
5912	15°58'N, -93°40' W	Macho	0	0	28.44	0.01		
5913	15°58'N, -93°40' W	Macho	0	0	27.45	0.07		
5914	15°58'N, -93°40' W	Macho	1	5	26.89	0.11	57.93	7
5915	15°58'N, -93°40' W	Hembra	1	488	30.22	0.05		
5916	15°58'N, -93°40' W	Macho	0	0	35.30	0.10		
5917	15°58'N, -93°40' W	Hembra	0	0	34.91	0.35		
5918	15°57'N, -93°39' W	Hembra	0	0	30.86	0.04		
5919	15°57'N, -93°39' W	Hembra	0	0	29.99	0.09		
5920	15°57'N, -93°39' W	Macho	0	0	32.20	0.12	14.39	8
5921	15°58'N, -93°39' W	Macho	0	0	31.64	0.02		
5922	15°58'N, -93°39' W	Hembra	0	0	32.41	0.25	7.79	7
5923	15°58'N, -93°34' W	Hembra	0	0	27.60	0.05	4.19	1
5924	15°58'N, -93°34' W	Macho	0	0	26.68	0.12	16.20	7
5925	15°57'N, -93°39' W	Macho	1	218	28.39	0.21		
5926	15°57'N, -93°39' W	Macho	1	363	30.93	0.10	12.49	8
5927	15°56'N, -93°38' W	Hembra	0	0	26.71	0.11		
5928	15°56'N, -93°38' W	Hembra	0	0	25.86	0.22		
5929	15°56'N, -93°38' W	Hembra	0	0	27.34	0.19		
5930	15°56'N, -93°38' W	Macho	0	0	27.15	0.18		
5931	15°56'N, -93°38' W	Hembra	0	0	28.77	0.28		
5932	15°56'N, -93°38' W	Hembra	1	1	31.56	0.15	19.11	7
5933	15°57'N, -93°40' W	Hembra	0	0	27.47	0.08	0.93	2
5934	15°57'N, -93°40' W	Macho	0	0	26.90	0.05	15.45	7
5935	15°57'N, -93°40' W	Hembra	0	0	29.19	0.08	4.41	7
5936	15°58'N, -93°35' W	Hembra	0	0	27.95	0.07		
5938	15°50'N, -93°35' W	Macho	0	0	28.14	0.05		
5939	15°50'N, -93°35' W	Hembra	0	0	30.37	0.08		
5940	15°54'N, -93°30' W	Hembra	1	26	32.68	0.20		

ZH05	15°54'N, -93°30' W	Hembra	0	0	29.94	0.08		
5941	15°54'N, -93°30' W	Macho	1	4	26.71	0.33		
5942	15°54'N, -93°30' W	Macho	1	6	29.95	0.04		
5943	15°54'N, -93°30' W	Macho	0	0	31.60	0.08		
5944	15°54'N, -93°30' W	Hembra	1	0	36.36	0.76		
ZH13	15°54'N, -93°30' W	Macho	1	3	31.80	0.02		
501	15°96'N, -93°65' W	Hembra	1	0	30.25	0.13	62.88	2
502	15°56'N, -93°38' W	Hembra	0	0	29.77	0.11	22.93	2
503	15°56'N, -93°38' W	Macho	0	0	25.37	ND	19.02	4
504	15°94'N, -93°64' W	Macho	0	0	30.76	0.12	8.60	6
505	15°94'N, -93°64' W	Hembra	0	0	33.03	0.12	8.90	2
506	15°56'N, -93°38' W	Hembra	0	0	35.76	0.20	2.83	1
507	15°56'N, -93°38' W	Hembra	0	0	31.03	0.12	25.83	10
508	15°57'N, -93°39' W	Hembra	0	0	30.03	0.13	11.94	5