

**Respuesta comportamental de aves hospederas neotropicales ante parasitismo
experimental usando huevos artificiales en un gradiente de color**

Juliana María Villa Berrio

Trabajo de grado para optar por el título de Bióloga

Asesor

Carlos Esteban Lara Vásquez, PhD

Co-asesor

Juan Luis Parra Vergara, PhD

Grupo de Investigación en Ecología y Evolución de Vertebrados, Instituto de Biología,
Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

Universidad de Antioquia

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Instituto de Biología

El Carmen de Viboral

2020

Agradecimientos

Agradezco la Sociedad Antioqueña de Ornitología (SAO) por el financiamiento parcial otorgado mediante una beca del programa Marco Antonio Serna (MAS). También agradezco al Grupo de Investigación en Bioinstrumentación e Ingeniería Clínica (GIBIC), de la Universidad de Antioquia, por la asesoría y acompañamiento en el diseño y fabricación de huevos experimentales.

RESUMEN

La pérdida de la biodiversidad está asociada con los descensos poblacionales de las especies y su consecuente extinción. Un factor que incide en la estabilidad de las poblaciones de especies de aves es el parasitismo de cría. En aves, este comportamiento consiste en que un individuo, llamado parásito, pone sus huevos en el nido de otro individuo, llamado hospedero. Una estrategia de los hospederos para evitar ser parasitados es la discriminación de huevos parásitos mediante la diferencia perceptual entre estos y sus propios huevos. En este proceso los hospederos usan información fenotípica, como el color, para identificar y rechazar huevos parásitos, evadiendo el costo de criar un pichón parásito. En este estudio usamos la aproximación del umbral óptimo de aceptación para evaluar el efecto del color de huevos experimentales en la respuesta de cinco posibles hospederos de *Molothrus bonariensis*. Encontramos un alto porcentaje de aceptación en *Columbina talpacoti*, *Zenaida auriculata* y *Zonotrichia capensis* y rechazos en algunos nidos de *Turdus ignobilis* y *T. fuscater*. Sin embargo, el efecto del color en la respuesta de los hospederos no fue claro debido al tamaño muestral obtenido. Sugerimos que la alta proporción de aceptación de huevos experimentales es explicada por la flexibilidad de los umbrales de aceptación de los hospederos. En *T. ignobilis* encontramos rechazo de huevos experimentales hacia el marrón, por lo tanto, su umbral de aceptación es más restringido.

Palabras clave: umbral de aceptación óptimo, parasitismo de cría, percepción de color.

ABSTRACT

The loss of biodiversity is associated with the decrease in the species population abundance and their consequent extinction. The stability of bird populations is affected by brood parasitism. This behaviour occurs when an individual, namely parasite, lays its eggs in the nest of another individual, namely host. A host strategy to avoid brood parasitism is the egg discrimination through the perceptual differences between parasite eggs and their own eggs. In this process, hosts use phenotypic information of eggs, as colour, to identify and reject parasite eggs, avoiding the cost of raising a parasite chick. In this study we used the approximation of the optimal acceptance threshold to test the effect of colour in the response of five possible hosts of *Molothrus bonariensis* to the presence of experimental eggs in their nests. We found a high percentage of acceptance in *Columbina talpacoti*, *Zenaida auriculata* and *Zonotrichia capensis* and rejections in some nests of *Turdus ignobilis* and *T. fuscater*. However, the effect of colour on the host response is not clear due to the sample size obtained. We suggest that the high acceptance rate of experimental eggs is explained by the flexibility of the host acceptance thresholds. In nests of *T. ignobilis* we find rejection in brown experimental eggs, therefore, its optimal acceptance threshold is more restricted.

Keywords: optimal acceptance threshold, brood parasitism, colour perception.

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	7
2. MATERIALES Y MÉTODOS	10
2.1. Diseño de huevos experimentales	10
2.2. Diseño de gradiente de color.....	11
2.3. Área de estudio	12
2.4. Especies de estudio	13
2.5. Experimento en campo	14
2.6. Medición de color de huevos	15
2.7. Modelos visuales.....	15
2.8. Respuestas comportamentales	17
2.9. Análisis estadístico.....	18
3. RESULTADOS.....	19
3.1. Análisis de color y modelos visuales.....	19
3.2. Respuestas comportamentales	22
3.3. Efecto del color en la respuesta de hospederos.....	25
4. DISCUSIÓN.....	27
5. LITERATURA CITADA.....	30
6. ANEXOS.....	36
6.1. Anexo 1	36
6.2. Anexo 2.....	37
6.3. Anexo 3	38

LISTADO DE FIGURAS Y TABLAS

Figura 1. Huevos experimentales diseñados en un gradiente de color (a), representando la variación natural de color de huevos de aves. Evaluamos la respuesta a este gradiente de color en nidos de 6 especies de aves diferentes: (b) *Zonotrichia capensis*, (c) *Turdus ignobilis*, (d) *Turdus fuscater*, (e) *Columbina talpacoti* y (f) *Zenaida auriculata* 12

Figura 2. Mapa del campus de la Universidad de Antioquia, Seccional Oriente, delineado en blanco. El área de estudio se localiza en el Valle de San Nicolás, ubicado en la cordillera central de Colombia (mapa general, extremo inferior izquierdo)..... 13

Figura 3. Espectros de reflectancia para los once colores (a-k) del gradiente de color utilizado en el experimento de discriminación de huevos artificiales. El gradiente de color está dado por la contribución recíproca de verde azul y marrón simulando coloraciones dadas por viliverdina y protoporfirina, pigmentos encontrados naturalmente en huevos de aves. El color A representan una contribución únicamente de viliverdina (a) y el color K representa una coloración dada por protoporfina (k). 20

Figura 4. Espacio visual tetraédrico de color para (a) *Columbina talpacoti* y *Zenaida auriculata*, (b) *Turdus ignobilis* y *T. fuscater*, y (c) *Zonotrichia capensis*. Los vértices del espacio tetraédrico representan la sensibilidad relativa de los fotorreceptores en el ultravioleta (*u*), longitud de onda corta (*s*), media (*m*) y larga (*l*). Una versión ampliada de cada gradiente se muestra en la parte inferior de cada espacio tetraédrico. El punto rojo representa el huevo promedio de hospedero en cada sistema visual y los 11 colores del gradiente (A-K) están dado de izquierda a derecha desde el huevo más verde-azul al más marrón. 21

Figura 5. Respuestas comportamentales ante la presencia de un huevo experimental en la nidada de cinco especies de aves: *Columbina talpacoti*, *Zenaida auriculata*, *Turdus ignobilis*, *T. fuscater* y *Zonotrichia capensis*. La respuesta se codifica como comportamiento registrado (1) y no registrado (0) en videos de 30 minutos para cada individuo..... 23

Figura 6. Reacciones comportamentales de *Turdus ignobilis* ante la presencia de un huevo experimental en su nido. La primera reacción (a) es la observación del contenido del nido, seguido por el reconocimiento e intento de rechazo del huevo experimental (b). El huevo experimental finalmente no es sacado del nido (c), por el contrario, es incubado con los demás huevos de la nidada (d)..... 24

Figura 7. Respuestas comportamentales de *Columbina talpacoti* ante la presencia de un huevo experimental en su nido. El primer comportamiento de *C. talpacoti* al llegar al nido es observar la nidada (a), y luego acomodar los huevos usando el pico (b). El ave se posiciona sobre la nidada y termina de acomodar los huevos (c) para finalmente incubarlos, incluyendo el huevo experimental (d)..... 25

Tabla 1. Resultados del modelo lineal generalizado (GLM) para predecir la probabilidad de rechazo de huevos experimentales diseñados en un gradiente de color. Presentamos los coeficientes de regresión representando el cambio en log-odds, sus errores estándares asociados y valores *z* y *p*. El contraste cromático y acromático representan la diferencia en coloración e iluminación, respectivamente, entre los huevos experimentales y el huevo promedio del ave hospedera. El color direccional representa el cambio en log-odds en el rechazo de huevos experimentales que son 1 JND más azul (negativo) o más marrón (positivo) que el huevo promedio del ave hospedera. 26

1. INTRODUCCIÓN

La crisis global de la biodiversidad está asociada directamente al incremento en las tasas de extinción, dadas por descensos de la abundancia poblacional de las especies (Rosenberg *et al.* 2019). Estos declines poblacionales son causados por factores extrínsecos como deforestación y cambio climático, y por factores intrínsecos como depredación, competencia, endogamia y parasitismo (Pimm y Raven 2000). Los factores extrínsecos juegan un papel significativo a nivel poblacional, mientras que los factores intrínsecos afectan la supervivencia y el éxito reproductivo a nivel individual (Brook *et al.* 2008). En aves, la anidación es un componente crítico del éxito reproductivo, sin embargo, la mayoría de aves sufren fracaso de nido (Martin 1993). Aunque la depredación es la principal causa de fracaso de nido, se han observado procesos de extinción por parasitismo cría (Fenton y Rands 2006). Este comportamiento consiste en que un individuo, llamado parásito, pone sus huevos en el nido de otro individuo, llamado hospedero (Davies *et al.* 2012). Este comportamiento tiene un efecto negativo en el éxito reproductivo de los hospederos, pues la inversión en el cuidado parental es dirigida a los pichones del parásito (Marchetti 1992). Las consecuencias del parasitismo de cría pueden ser severas y conllevar a especies al borde de la extinción, como ocurrió en *Atlapetes pallidiceps*, un ave endémica de Ecuador que estuvo cerca de extinguirse con una única población de aproximadamente 70 individuos reproductivos (Oppel *et al.* 2003).

El parasitismo de cría en aves es una carrera evolutiva entre poblaciones de parásitos y hospederos (Dawkins y Krebs 1979). Por lo tanto, ambos desarrollan mecanismos evolutivos como mimetismo de huevos por parásitos y discriminación de huevos por hospederos (Davies y Brook 1988, Langmore *et al.* 2003). Durante el proceso de

discriminación, el color de los huevos brinda información crucial a los hospederos. Para la fecha, la información acerca de los mecanismos de discriminación de huevos es limitada, específicamente hablando de aves hospederas residentes en el neotrópico. Sumado a esto, el parasitismo de cría en el neotrópico ha sido registrado tanto en especies de aves hospederos de amplia distribución como en especies endémicas o bajo un estado de amenaza como *Cistothorus apolinari* (Velásquez *et al.* 2000), *Chrysomus icterocephalus* (Naranjo 1995) y en *Hypopyrrhus pyrohypogaster* (obs. pers.). Consecuentemente, conocer los mecanismos de discriminación es importante para el entendimiento de la evolución del parasitismo de cría en aves y para una toma de decisiones acertada con respecto a la conservación de aves hospederas.

Los mecanismos de discriminación de huevos están basados en las decisiones de los hospederos según el grado de similitud entre el fenotipo de sus huevos y los huevos del parásito (Rothstein 1975). Estas decisiones son un elemento clave en el éxito reproductivo de los individuos de una especie y en su estabilidad poblacional a largo plazo. Se ha sugerido que las decisiones de los hospederos pueden ser explicadas a través de la hipótesis del umbral óptimo de aceptación (*sensu* Reeve 1989). Esta hipótesis, en diferentes contextos y grupos taxonómicos, plantea que es posible predecir la decisión de menor costo, u óptima, de un individuo ante un estímulo (Ruiz y Soler 2020). Desde una perspectiva basada en el parasitismo de cría, los hospederos responden a la presencia de un huevo parásito, abandonando su nidada o eliminando este huevo. En el último caso, el hospedero balancea el costo de aceptar un huevo parásito o rechazar erróneamente un huevo propio (Peer *et al.* 2005). De esta manera, un umbral de aceptación muy flexible o uno muy restringido es costoso en términos de fitness porque aumenta la probabilidad tanto de aceptar con frecuencia

huevos parásitos o de rechazar los propios (Ruiz y Soler 2020). Por consiguiente, la habilidad del hospedero para discriminar entre el color de sus huevos y el color de los huevos del parásito es una importante defensa evolutiva para evitar ser engañados (Feeney et al. 2014). Sin embargo, hay casos en los que estas defensas no se han desarrollado.

La ausencia de defensas para evadir el parasitismo de cría puede ser explicada a través del entendimiento de los procesos de coevolución. Para el caso de los parásitos generalistas, aves con múltiples especies de hospederos, se hipotetiza que estos no tienen mecanismos especializados para engañar y sus hospederos carecen de estrategias de evasión de engaño, como discriminación de huevos (Peer et al. 2005). Por lo tanto, el umbral de aceptación del hospedero debería ser muy flexible (Reeve 1989). Muchas especies de hospederos aceptan huevos parásitos y proveen todo el cuidado parental a la descendencia ajena, con un descenso de su número poblacional como resultado. Por ejemplo, en Colombia se ha evidenciado una disminución de abundancia de *Zonotrichia capensis*, un hospedero del parásito generalista *Molothrus bonariensis* (c.a. 250 hospederos) (Lowther 2018). Esto hace que la carrera evolutiva entre *M. bonariensis* y sus hospederos sea de particular interés en un contexto evolutivo y de conservación. No obstante, se desconocen cuáles son los efectos del parasitismo en las poblaciones de los hospederos o sus mecanismos evolutivos (e.g., capacidad de reconocer los huevos de su parásito) para evitar ser parasitados. Por ello, este estudio tiene como fin realizar una evaluación detallada sobre la capacidad de aceptación o rechazo de huevos que tienen posibles hospederos de *M. bonariensis* con énfasis en los efectos del color de los huevos. En otras palabras, se buscará determinar la capacidad discriminante de aves hospederas en términos cromáticos y acromáticos de huevos experimentales (generados a partir de impresión 3D).

Esta aproximación experimental y el entendimiento de los umbrales óptimos de aceptación de los hospederos permitirá identificar el estado de la carrera evolutiva entre hospederos y parásito. Se espera que hospederos que rechacen huevos experimentales hacia un solo extremo del gradiente del color, específicamente huevos marrones, similares a huevos de *M. bonariensis* y sin importar que los huevos verde-azules sean igual de diferentes en color al huevo propio, tengan un proceso de coevolución avanzado en el tiempo (Hanley et al. 2017, Ruiz y Soler 2020). Este reconocimiento se basa en la optimización de la decisión de rechazo hacia los huevos de parásito. El rechazo de huevos en ambos extremos podría indicar que el hospedero rechaza huevos basando su decisión en la identificación de diferencia perceptual entre sus huevos y los huevos experimentales. Adicionalmente, esperamos que la aceptación de todo el gradiente de color se relacione con umbrales de aceptación flexibles de hospederos recientes, como un indicio de ausencia de mecanismos de discriminación de huevos parásitos en cuanto a color.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Diseño de huevos experimentales

Se diseñó un modelo 3D usando Blender versión 2.8 a partir de la medición de huevos de *Molothrus bonariensis* disponibles en la colección de huevos del Instituto Alexander von Humboldt (n=6, promedio \pm desviación estándar: largo= 23.03 ± 0.99 mm, ancho= 18.13 ± 0.30 mm). Se obtuvo un prototipo a partir de este modelo, a través de impresión 3D (largo: 23.2 mm, ancho: 16.4 mm). Usando moldes de silicona basados en el prototipo, se realizaron múltiples copias de huevos fabricados por inyección de resina de poliéster pre-acelerada. Los

huevos experimentales son consistentes en tamaño y peso ($n= 78$, largo: 22.62 ± 0.3 mm, ancho: 16.36 ± 0.13 mm, peso= 4.13 ± 0.09 g) (Anexo 2).

2.2. Diseño de gradiente de color

Para establecer el gradiente de color se usaron pinturas acrílicas no tóxicas y de alta calidad (Winsor & Newton). Se generaron dos colores utilizando pesos (g) específicos de diferentes tonos de pintura (ver Canniff et al. 2018): verde-azul (turquesa cobalto claro, blanco titanio, verde cobalto, turquesa cobalto y siena tostada), y marrón (óxido de hierro rojo, naranja de cadmio, beige claro, blanco titanio). Finalmente, el gradiente fenotípico de 11 colores se creó mezclando verde-azul y marrón a través de la variación en sus contribuciones recíprocas (verde-azul: marrón; 10: 0, 9: 1, 8: 2, ..., 2: 8, 1: 9, 0:10) (Fig. 1a). Se realizaron 6 réplicas de cada gradiente, para un total de 66 huevos pintados.



Figura 1. Huevos experimentales diseñados en un gradiente de color (a), representando la variación natural de color de huevos de aves. Evaluamos la respuesta a este gradiente de color en nidos de 6 especies de aves diferentes: (b) *Zonotrichia capensis*, (c) *Turdus ignobilis*, (d) *Turdus fuscater*, (e) *Columbina talpacoti* y (f) *Zenaida auriculata*.

2.3. Área de estudio

Este estudio se llevó a cabo principalmente en el campus de la Universidad de Antioquia, Seccional Oriente, ubicado en el Valle de San Nicolás, sobre la cordillera central de Colombia (Fig. 2). Específicamente, el campus se encuentra en jurisdicción del municipio de El Carmen de Viboral, departamento de Antioquia (6.105 N - 75.386 W). El campus tiene un área aproximada de 23 ha y se encuentra a una altitud media de 2134 metros. La precipitación promedio anual en el municipio de La Ceja del Tambo (ca. 10km del área de estudio) es de

2168 mm (Mejía 2008) y la temperatura media de este municipio es de 15.7°C con una media de las mínimas de 12.9 °C y una media de las máximas de 21.7 °C. El área de estudio cuenta con cercos vivos y arbustos alejados de los sitios más transitadas por la comunidad universitaria. Además, se encuentra rodeado por un área de baja urbanización y es frecuentado por cerca de 97 especies de aves. Por lo tanto, es un lugar apropiado para búsqueda de nidos y realización de experimentos. Con el propósito de ampliar el muestreo durante la temporada de campo (pico reproductivo de aves, entre febrero y abril de 2020), se visitaron zonas rurales aledañas al campus, como veredas de El Carmen de Viboral y La Ceja del Tambo, las cuales presentan condiciones similares de precipitación, altitud y temperatura.



Figura 2. Mapa del campus de la Universidad de Antioquia, Seccional Oriente, delineado en blanco. El área de estudio se localiza en el Valle de San Nicolás, ubicado en la cordillera central de Colombia (mapa general, extremo inferior izquierdo).

2.4. Especies de estudio

Durante la temporada de campo se encontraron nidos de cinco especies de aves (Fig. 1b-f).

Entre estas especies, *Zonotrichia capensis* se identifica como un hospedero efectivo de

Molothrus bonariensis, es decir, los individuos de *Z. capensis* que son parasitados cuidan tanto de huevos como de pichones parásitos. También encontramos nidos de dos especies de aves de la familia Turdidae, *Turdus ignobilis* y *T. fuscater*. Se ha reportado que *T. ignobilis* es un posible hospedero de *M. bonariensis*, con observación de huevos parásitos en sus nidos, sin embargo no se ha reportado cuidado parental de pichones parásitos, y hasta la fecha no se reporta parasitismo en *T. fuscater* (Kattan 1995). Además, se realizaron experimentos en nidos de *Zenaida auriculata* y *Columbina talpacoti*, especies de aves de la familia Columbidae. En estas especies no se ha reportado parasitismo efectivo aunque sí se han observado huevos parásitos en nidos de *Z. Auriculata* (Lowther 2018).

2.5. Experimento en campo

La búsqueda de nidos en las zonas de interés se realizó a través de inspección frecuente de cercos vivos. Se identificaron lugares de anidación mediante la observación de comportamientos asociados a la reproducción, como recolección y transporte de material para construcción de nido. Una vez encontrado un nido completo o un nido en construcción se realizaron visitas diarias. A partir del registro del primer huevo en el nido, se marcaron los huevos en el orden de puesta cuando fue posible saberlo. La nidada se consideró completa cuando se dejó de registrar la puesta consecutiva de huevos luego de dos días. Al día siguiente se corroboró que la nidada no había sido abandonada por temperatura de los huevos al tacto o presencia del parental en el nido. Ese mismo día, se realizó la inserción del huevo experimental, sin modificar o extraer ningún huevo de la nidada. Dos días después de iniciar el experimento se visitó el nido y se determinó la respuesta del ave al experimento. Se estimó como aceptación cuando el huevo aún estaba en el nido y además se registró presencia del

parental en el nido o la postura tibia, incluyendo el huevo experimental. Cuando se encontró el huevo en el nido, pero la postura no tenía una temperatura típica de nidadas activas, el nido continuó en monitoreo hasta establecer abandono o aceptación. En ambos casos, el huevo experimental fue retirado inmediatamente. Por otro lado, la respuesta se consideró como rechazo si la nidada se encontraba activa, pero el huevo experimental no estaba dentro del nido, asimismo cuando luego de monitorear el nido no hubo registro de cuidado parental en los huevos. En este último caso se realizó verificación de embrión en los huevos y estos fueron colectados, preparados y rotulados con las coordenadas geográficas, localidad, fecha, tamaño de nidada (número de huevos), especie y colector. Las nidadas colectadas fueron incluidas en la colección de huevos del Instituto Alexander von Humboldt. Todos los huevos fueron medidos y pesados al finalizar cada experimento.

2.6. Medición de color de huevos

El color de los huevos experimentales, y de cada uno de las aves hospederas se midió con una tapa a prueba de luz acoplada a una sonda de reflexión estándar (QR400-7-SR-BX, Ocean Optics) con conexión a un espectrómetro de fibra óptica (USB4000 Ocean Optics). En el programa OceanView se usó un tiempo de integración de 100 milisegundos y se midió la reflectancia cada 0.2 nm en un rango de 200 nm a 900 nm. Cada huevo fue medido tres veces alrededor de la región ecuatorial.

2.7. Modelos visuales

Se analizaron los espectros de reflectancia de los huevos experimentales y de los hospederos usando el paquete *pavo* (Maia *et al.* 2013, Maia y White 2019) implementado en R (R Core Team 2020). Estos espectros fueron suavizados utilizando una regresión de tipo loess. Se realizó un promedio entre las tres mediciones para cada uno de los huevos experimentales y un único promedio para los huevos del hospedero, usando la función *aggspec*. Para calcular la diferencia percibida en color e iluminación entre la coloración promedio de los huevos de hospedero y la de cada huevo experimental (contraste cromático, dS, y acromático, dL, respectivamente) se aplicó un modelo de discriminación limitado por ruido. Esta estimación se realizó para cada una de las especies de hospedero. El ruido se calculó como la suma del ruido neuronal y del receptor. Para determinar el sistema visual filogenéticamente más cercano a cada hospedero se generó una filogenia consenso que incluye a las especies hospederas y a las especies con sistema visual reportado, utilizando BirdTree (Jetz *et al.* 2012, Jetz *et al.* 2014) y R. Con base en esta filogenia y usando la función *sensmodel* se modelaron los sistemas visuales de *Serinus canaria*, *Turdus merula* y *Columba livia* para simular la percepción visual de *Zonotrichia capensis*, *Turdus ignobilis* y *T. fuscater* (*Turdus*), y *Zenaida auriculata* y *Columba livia* (Columbidae), respectivamente (Bowmaker *et al.* 1997, Das *et al.* 1999, Hart *et al.* 2000c, Hart 2001). Se utilizó la función *vismodel* para interpretar la información espectral procesada a través del sistema visual implementado. Esta función calcula la recepción relativa de fotones de cada fotoreceptor y muestra valores de estimulación relativa para el ultravioleta, longitud de onda corta, media y larga (*u*, *s*, *l* y *m*)

Debido a que todas las especies de hospederos en este trabajo anidan en arbustos, se utilizó una iluminación que supone filtrado de luz entre las hojas, con condiciones de brillo. A partir del resultado de *vismodel* se realizó la estimación de distancias de color con la

función *coldist*. El resultado de este análisis son diferencias perceptibles, conocidas en inglés como Just Noticeable Difference (JND), entre el color promedio del huevo de hospedero y cada uno de los huevos experimentales. Las unidades JND indican que valores por debajo de 1 no son diferenciables, valores iguales a 1 son diferenciables bajo condiciones ideales de iluminación y, valores superiores a 1 comienzan a ser diferenciables para el ave hospedera. Para determinar la discriminación de huevos en el gradiente de color se estimó la dirección del gradiente (color direccional), multiplicando por -1 los valores cromáticos en JND para huevos entre el verde azul y el huevo experimental más cercano al promedio de huevo hospedero, y multiplicando por 1 los valores cromáticos en JND entre el huevo promedio, sin incluirlo, y el huevo más marrón.

Además, realizamos tres modelos visuales considerando la estimulación de los cuatro fotoreceptores (tetraédros) de color: uno para aves de la familia Columbidae, uno para el género *Turdus* y uno para *Zonotrichia capensis*. Estos modelos utilizan la información procesada a través de la función *vismodel* y da un punto específico para cada espectro de color mediante la función *colspace*. La visualización de estos puntos en los espacios tetraédricos es ejecutada a través de la función *tetraplot*, la cual muestra un tetraedro cuyos ejes representan la estimulación relativa de los fotoreceptores de tipo *u*, *s*, *m* y *l*. El código implementado en R para el análisis de color puede ser consultado en el Anexo 3.

2.8. Respuestas comportamentales

Se realizaron dos videos para cada uno de los nidos usando cámaras GoPro Hero. El primer video se llevó a cabo al día siguiente de confirmar que la nidada estaba completa, con

duración de una hora. El objetivo de esta grabación fue familiarizar al ave con la cámara, evitando interferencia en el experimento. El segundo video se hizo un día después, desde el momento de inserción del huevo experimental y con una duración de dos horas. El objetivo de esta segunda grabación es registrar la respuesta comportamental de los individuos cuando hay un huevo experimental en sus nidos. Los videos de estas reacciones comportamentales, fueron analizados usando el software VLC media player version 3.0.11. Para cada nido se visualizaron los primeros 30 minutos de grabación. Revisamos respuestas comportamentales disponibles para 11 nidos, es decir, 5 horas y 5 minutos de video. Se registró la respuesta a tres variables: observación de huevos en la primera visita al nido (observación de nidada), organización de los huevos usando el pico (acomodación de huevos), e intento de sacar el huevo del nido, aunque la respuesta definitiva al experimento fue aceptación (intento de rechazo).

2.9. Análisis estadístico

Todos los análisis se llevaron a cabo en R versión 3.6.5 (R Core Team 2020) (Anexo 3). Para analizar el efecto del color de huevos en la respuesta de hospederos, se usaron Modelos Lineales Generalizados (GLM) con una distribución de error binomial e implementando la función *logit-link* del paquete *MCMCglmm* en R (Hadfield 2010). La variable respuesta es binaria y corresponde a la respuesta de los hospederos hacia los huevos experimentales, siendo 0 aceptación y 1 rechazo. Las variables predictoras son las distancias dadas en JND del cromático (dS), acromático (dL), y la dirección del gradiente (color direccional). Todas las variables continuas fueron centradas y escaladas para hacer comparables los coeficientes de regresión (Schielzeth 2010). Se reportan los estimados de los coeficientes de regresión

como también el error estándar, valor z y valor p. Se consideraron los efectos estadísticamente significativos si el intervalo de confianza no incluye el cero. Se utilizó este criterio estadístico en todos los casos.

3. RESULTADOS

3.1. Análisis de color y modelos visuales

El gradiente de color obtenido se encuentra dentro del rango de variación natural de color en huevos de aves, entre 300 y 700 nm (Fig. 3) (Hanley et al. 2015). Los picos de reflectancia desde el huevo A hasta el huevo K varían según la contribución relativa de verde-azul y marrón a lo largo del gradiente, simulando una combinación de diferentes partes de biliverdina y protoporfirina, pigmentos encontrados naturalmente en huevos. Por lo tanto, la reflectancia del huevo A (Fig. 3a) representa una coloración dada por verde-azul únicamente (biliverdina) y el huevo K (Fig. 3k) representa una coloración dada solo por pigmento marrón (protoporfirina).

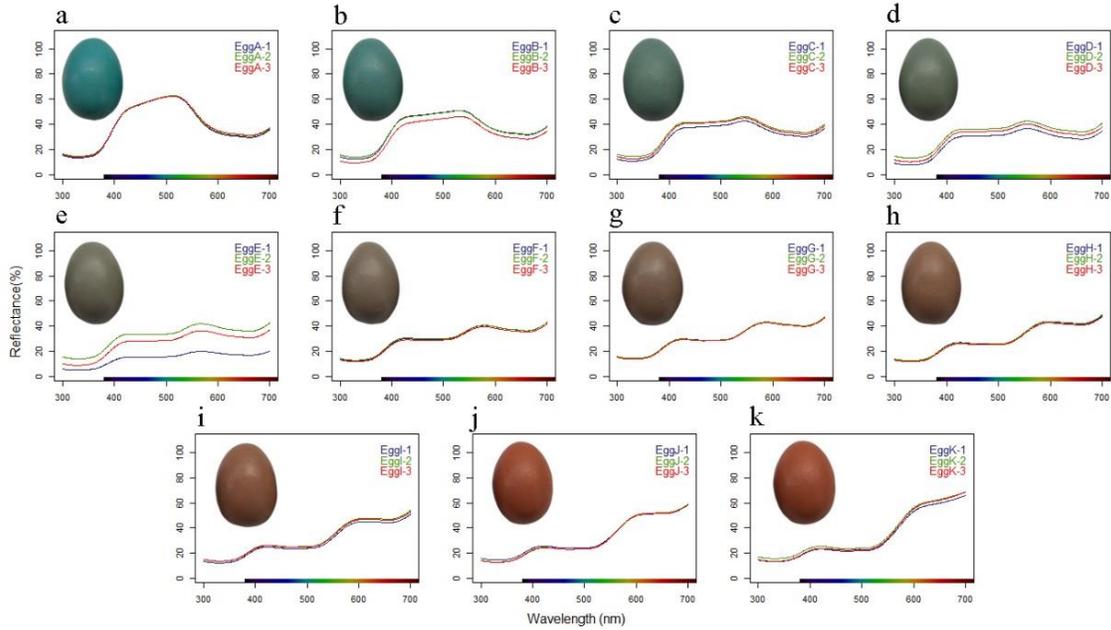


Figura 3. Espectros de reflectancia para los once colores (a-k) del gradiente de color utilizado en el experimento de discriminación de huevos artificiales. El gradiente de color está dado por la contribución recíproca de verde azul y marrón simulando coloraciones dadas por viliverdina y protoporfirina, pigmentos encontrados naturalmente en huevos de aves. El color A representan una contribución únicamente de viliverdina (a) y el color K representa una coloración dada por protoporfirina (k).

Se encontró que los modelos visuales entre las especies varían en sus rangos de distancias de color y en la posición del color promedio del huevo de hospedero (Fig. 4). El rango de variación en las distancias de color de los huevos experimentales percibidos por *Columbina talpacoti* y *Zenaida auriculata* está entre 0.36 y 2.47 JND en el cromático, y entre 1.53 y 4.44 en el acromático. El huevo promedio de *C. talpacoti* y *Z. auriculata* es más cercano al huevo F del gradiente de color (Fig. 3F), siendo la distancia de color entre estos 0.39 ± 0.02 JND en el cromático y 2.31 ± 0.14 JND en el acromático. La distancia del huevo promedio al extremo más verde-azul del gradiente es de 2.28 ± 0.032 JND el cromático y 1.6 ± 0.05 JND en el acromático, y al huevo más marrón 2.23 ± 0.024 JND en el cromático y 1.95 ± 0.11 JND en el acromático.

La variación en las distancias de color entre huevos experimentales y el sistema visual de las especies de *Turdus* está entre 0.22 y 3.17 JND en el cromático, y entre 0.22 y 2.6 JND en el acromático. El huevo promedio corresponde al huevo B con una distancia de 0.32 ± 0.09 JND en el cromático y 1.4 ± 1.07 JND en el acromático. La distancia del huevo promedio al extremo más verde-azul del gradiente es de 0.88 ± 0.06 JND en el cromático y 0.25 ± 0.05 JND en el acromático, y al huevo más marrón 3.19 ± 0.04 JND en el cromático y 0.23 ± 0.11 JND en el acromático. La distancia de color de los huevos experimentales percibidos bajo el sistema visual de *Zonotrichia capensis* varió entre 0.77 y 3.28 JND en el cromático, y entre 0.0019 y 2.22 JND en el acromático. El huevo promedio de *Z. capensis* corresponde al huevo E (Fig. 3E), siendo la distancia entre estos dos huevos de 1.06 ± 0.15 JND en el cromático y 0.07 ± 0.05 JND en el acromático. La distancia del huevo promedio al extremo más verde-azul del gradiente es de 2.52 ± 0.10 JND en el cromático y 0.065 ± 0.05 JND en el acromático, y al huevo más marrón 2.95 ± 0.15 JND en el cromático y 0.19 ± 0.09 JND en el acromático.

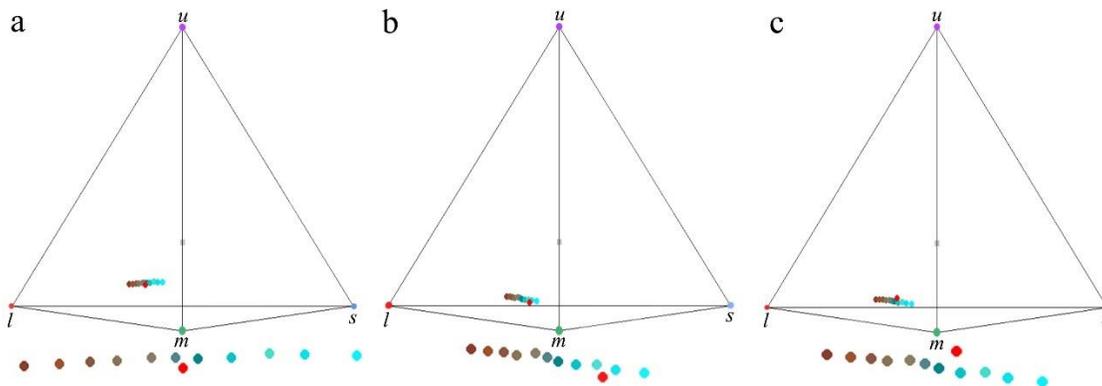


Figura 4. Espacio visual tetraédrico de color para (a) *Columbina talpacoti* y *Zenaida auriculata*, (b) *Turdus ignobilis* y *T. fuscater*, y (c) *Zonotrichia capensis*. Los vértices del espacio tetraédrico representan la sensibilidad relativa de los fotorreceptores en el ultravioleta (u), longitud de onda corta (s), media (m) y larga (l). Una versión ampliada de cada gradiente se muestra en la parte inferior de cada espacio tetraédrico. El punto rojo representa el huevo promedio de hospedero en cada sistema visual y los 11 colores del gradiente (A-K) están dado de izquierda a derecha desde el huevo más verde-azul al más marrón.

Observamos diferencias en los espacios visuales tetraédricos de color entre los sistemas visuales modelados para las especies de la familia Columbidae, *Turdus* y *Zonotrichia capensis*. La posición del huevo promedio del hospedero dentro del gradiente de color generado y las distancias percibidas entre los huevos varía para cada grupo de aves. Esta visualización es consistente con los resultados obtenidos en las distancias de color dadas en JND. Los huevos promedio de las especies de Columbidae y de *Z. capensis* se encuentran en una posición equivalente a la mitad del gradiente de color, cercanos a los huevos F y E (Fig. 4a, 4c), mientras que el huevo promedio de *Turdus* presenta una coloración verde-azul comparable con el huevo B (Fig. 4b).

3.2. Respuestas comportamentales

Encontramos que el 100% de los hospederos registrados en video (n=11) realizan observación de los huevos en la primera visita al nido justo luego de la inserción del huevo experimental (Fig. 5) (Anexo 1). Sin embargo, el 27.3% de los hospederos, específicamente individuos de *Turdus ignobilis*, realizaron intentos de sacar el huevo experimental. La primera reacción de *T. ignobilis* es observar el contenido del nido y explorar el huevo experimental con intentos parciales de tomar el huevo con el pico o moverlo sutilmente (Fig. 5). Pero, su respuesta es dejar el huevo experimental en el nido e incubarlo con los demás. Cuando el ave deja el nido, su reacción al retornar es incubarlo sin mirar al nido, con una acomodación de huevos luego de estar sobre la nidada. Entonces, sí hay una reacción de *T. ignobilis* ante la presencia de un huevo experimental, aunque su respuesta definitiva en la mayoría de los casos fue aceptación.

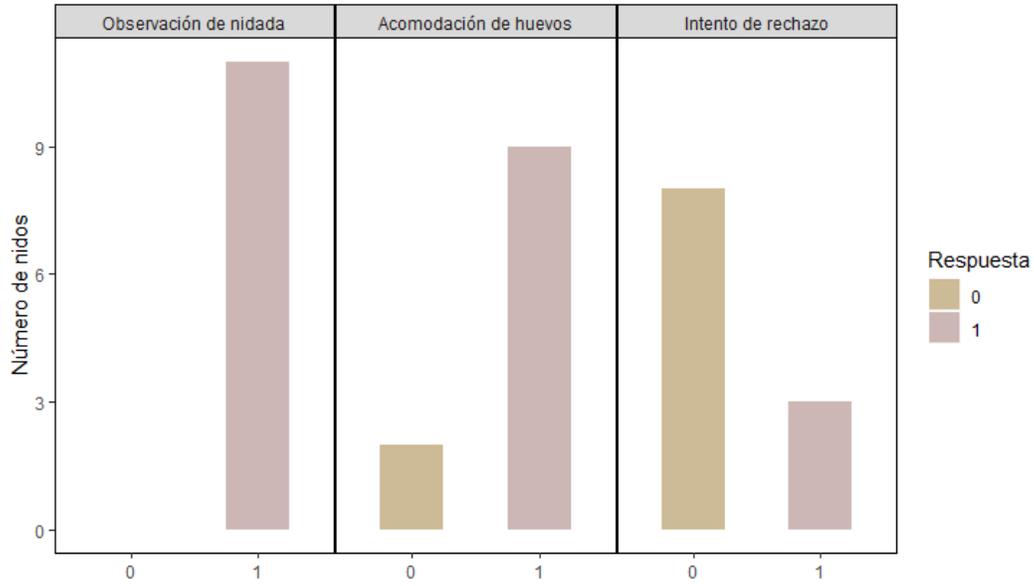


Figura 5. Respuestas comportamentales ante la presencia de un huevo experimental en la nidada de cinco especies de aves: *Columbina talpacoti*, *Zenaida auriculata*, *Turdus ignobilis*, *T. fuscater* y *Zonotrichia capensis*. La respuesta se codifica como comportamiento registrado (1) y no registrado (0) en videos de 30 minutos para cada individuo.



Figura 6. Reacciones comportamentales de *Turdus ignobilis* ante la presencia de un huevo experimental en su nido. La primera reacción (a) es la observación del contenido del nido, seguido por el reconocimiento e intento de rechazo del huevo experimental (b). El huevo experimental finalmente no es sacado del nido (c), por el contrario, es incubado con los demás huevos de la nidada (d).

El 81.8% de los individuos acomodan huevos usando su pico para lograr que todos los huevos, incluido el huevo experimental, sean incubados (Fig. 5). Este comportamiento es especialmente notorio en *C. talpacoti* (Fig. 7) donde los individuos acercan los huevos entre ellos usando el pico y luego se posicionan sobre la nidada realizando movimientos ventrales para terminar de acomodarlos. Además, observamos que la incubación de huevos en *C.*

talpacoti es biparental. En *Z. auriculata* y *T. ignobilis*, la acomodación de huevos es ejecutada más con el cuerpo que con el pico.



Figura 7. Respuestas comportamentales de *Columbina talpacoti* ante la presencia de un huevo experimental en su nido. El primer comportamiento de *C. talpacoti* al llegar al nido es observar la nidada (a), y luego acomodarlo usando el pico (b). El ave se posiciona sobre la nidada y termina de acomodarlo (c) para finalmente incubarlo, incluyendo el huevo experimental (d).

3.3. Efecto del color en la respuesta de hospederos

Durante la temporada de muestreo realizamos experimentos en 22 nidos, de los cuales solo uno de ellos fue parasitado por *Molothrus bonariensis* (Anexo 1). De estos nidos, se registró

rechazo de huevos experimentales en un 9.09 % (n=2). Estos rechazos se dieron en nidos de *Turdus ignobilis* y *T. fuscater*. Aunque ningún efecto fue significativo debido al tamaño de muestra, encontramos que el color direccional tiene un efecto positivo en la probabilidad de rechazo (Tabla 1) (OR= 0.13, z= 0.11, p= 0.91), con un aumento de probabilidad de 0.53, en la escala real, cuando el color direccional aumenta en 1 JND con respecto al color promedio de un huevo del hospedero. Es decir que se espera que huevos hacia el marrón sean mas rechazados que aceptados y hacia el verde-azul sean mas aceptados que rechazados. Además, encontramos que el contraste cromático (OR=-0.26, z= - 0.26, p= 0.79) y el contraste acromático (OR= -2.63, z= -1.20, p= 0.23) tienen un efecto negativo en la probabilidad de rechazo (Tabla 1). Considerando la interpretación en escala real, el aumento de un JND en distancia de color, tanto en el cromático como en el acromático, disminuye la probabilidad de rechazo en una proporción de 0.43 y 0.06, respectivamente.

Tabla 1. Resultados del modelo lineal generalizado (GLM) para predecir la probabilidad de rechazo de huevos experimentales diseñados en un gradiente de color. Presentamos los coeficientes de regresión representando el cambio en log-odds, sus errores estándares asociados y valores z y p. El contraste cromático y acromático representan la diferencia en coloración e iluminación, respectivamente, entre los huevos experimentales y el huevo promedio del ave hospedera. El color direccional representa el cambio en log-odds en el rechazo de huevos experimentales que son 1 JND más azul (negativo) o más marrón (positivo) que el huevo promedio del ave hospedera.

	Coefficiente de regresión	Error estándar	z	p
Intercepto	-4.1856	2.694152	-1.55359	0.120283
Contraste cromático	-0.26263	0.988779	-0.26561	0.790539
Contraste acromático	-2.62671	2.186988	-1.20107	0.229726
Color direccional	0.129162	1.117874	0.115542	0.908015

4. DISCUSIÓN

En este estudio evaluamos la respuesta de diferentes hospederos ante la presencia en sus nidos de huevos experimentales diseñados en un gradiente de color y encontramos altos porcentajes de aceptación. El rechazo de algunos de los huevos en especies como *Turdus ignobilis* y *T. fuscater* indican la presencia de mecanismos de reconocimiento de huevos. Sin embargo, nuestros resultados están dados a partir de un tamaño muestral limitado para cada una de las especies por lo que los patrones de discriminación de huevos usando el color como señal de reconocimiento no son estadísticamente significativos.

La aceptación de todos los huevos experimentales evaluados en *Columbina talpacoti* y *Zenaida auriculata* indica que para estas especies el umbral de aceptación óptimo de huevos es flexible. Se podría considerar que *C. talpacoti* y *Z. auriculata* son especies vulnerables al parasitismo de cría debido a su tendencia a aceptar huevos y su abundancia de nidos de estas. No obstante, se deben considerar otros aspectos de las especies, como dieta, tamaño del hospedero y tipo de nido. Una restricción importante al parasitismo es la diferencia de dieta entre *Molothrus bonariensis* y especies de la familia Columbidae. Se ha encontrado que la supervivencia de pichones de *M. bonariensis* está relacionada con la dieta de los hospederos (Mason 1986). Por lo tanto, hospederos insectívoros tienen un efecto positivo en el fitness del parásito. En nuestro caso de estudio, el tipo de dieta entre parásito y posible hospedero puede ser una limitación, siendo insectívoras las especies del género *Molothrus* y granívoras y frugívoras las especies de la familia Columbidae. Además, *C. talpacoti* y *Z. auriculata* construyen nidos rudimentarios, pequeños y poco profundos. A pesar de ser nidos abundantes y fáciles de encontrar, no tienen las características generalizadas de los nidos de los hospederos efectivos de *M. bonariensis* (Rothstein 1975).

Sugerimos que, en términos de color, el umbral de aceptación de huevos *Z. capensis* es flexible. Aunque el gradiente de color no fue evaluado totalmente en nidos de *Zonotrichia capensis*, sí obtuvimos respuesta para los colores de los extremos, siendo estos aceptados en ambos casos. Por lo tanto, esperamos encontrar aceptación de huevos experimentales en todo el gradiente de color. Varias causas se atribuyen a la ausencia de comportamiento de rechazo de huevos, como podría ser el caso de *Z. capensis*. La adaptación del comportamiento de rechazo se relaciona particularmente con la intensidad de parasitismo (Rothstein 1975). Se espera entonces que una alta frecuencia de parasitismo induzca, en alguna medida, al rechazo de huevos parásitos, debido al beneficio que confiere al ave hospedera. Pero no todos los escenarios son consistentes con esta afirmación pues algunas aves aceptan huevos parásitos a pesar de la intensidad del parasitismo (Medina y Langmore 2015). La aceptación de huevos puede ser explicada por la ausencia de preadaptaciones involucradas en la evolución del comportamiento de rechazo (Rothstein 1975). Algunos de estos son la simpatria reciente entre parásito y hospedero (i. e. coevolución incipiente), la ausencia de comportamientos de saneamiento de nido y las restricciones morfológicas para ejecutar el rechazo, como el tamaño de pico.

Sugerimos que la aceptación de huevos experimentales en nidos de *Columbina talpacoti* y *Zenaida auriculata* es explicada por los pocos eventos de parasitismo en sus nidos, sumado a la ausencia de saneamiento de nido (Giraldo-Gonzalez obs. pers.) y las restricciones asociadas a dieta. Por lo tanto, es poco probable que el comportamiento de rechazo evolucione en estas especies debido a que su ventaja selectiva será pequeña o nula. Sin embargo, el caso de *Zonotrichia capensis* requiere de la consideración de elementos adicionales para explicar la ausencia de rechazo. En *Z. capensis* hay certeza de la intensidad

de parasitismo de cría en sus nidos y se hipotetiza que presenta comportamiento de saneamiento de nido, como en la mayoría de Passeriformes (Guigueno y Sealy 2012), por extrapolación con su especie hermana *Z. leucophrys* donde sí se registra el comportamiento (Morton et al. 1972). Se ha reportado que *Z. capensis* es un hospedero frecuente de *M. bonariensis*, encargándose del cuidado parental incluso del 46% de los pichones de una población de parásitos, aunque para esa misma área se encuentren nidos de otras 14 especies de hospederos (Fraga 1983). Esto implica una presión de selección muy fuerte en el éxito reproductivo de *Z. capensis*, sumado a las altas tasas de depredación de sus nidos. Bajo este escenario, proponemos que *Z. capensis* evolutivamente desarrolló una tendencia al abandono de nido, como una ruta menos costosa que la adaptación al comportamiento de rechazo (Hosoi y Rothstein 2000). Esto es coherente con nuestras observaciones de campo en donde dos nidos con huevos fueron abandonados luego de ser parasitados por *M. bonariensis*, y uno más fue abandonado luego de ser parasitado previo a ovoposición de huevos de *Z. capensis*. No obstante, estas hipótesis deben ser estudiadas y puestas a prueba.

En *Turdus ignobilis* encontramos rechazo de un huevo experimental hacia el extremo marrón del gradiente de color. Este resultado es consistente con experimentos de este mismo tipo realizados en otras especies de *Turdus* (Hanley et al. 2019), en donde las aves aceptan huevos hacia el verde-azul y rechazan huevos marrones. El color natural de los huevos de *T. ignobilis* se pueden comparar con huevos más verde-azules, como el huevo B de nuestro gradiente de color. Esto implica que los huevos marrones presentan mayor disimilitud al estar a mayor distancia de color del huevo promedio. Consideramos que *T. ignobilis* es un hospedero potencial de parásitos de cría, a pesar de que pocas observaciones de parasitismo en sus nidos han sido registradas para Colombia (Kattan 1997). *T. ignobilis* es un ave común

que construye nidos grandes y generalmente poco ocultos. Es posible entonces que individuos de esta especie históricamente hayan estado más expuestos a parasitismo. Además, *T. ignobilis* presenta caracteres morfológicos y comportamentales que favorecen la evolución del comportamiento de rechazo como un pico apto para exclusión de huevos y saneamiento del nido (Giraldo-Gonzalez obs. pers.).

En conclusión, encontramos que los hospederos responden de manera diferencial al gradiente de color. Estos patrones de discriminación de huevos experimentales según su color para cada especie son importantes para el entendimiento del proceso de coevolución entre parásito y hospedero. Es necesario indagar sobre el efecto estadístico del color en la respuesta de los hospederos, evaluando la discriminación de color en un mayor número de nidos y en otras especies de hospederos. Invitamos a la consideración del patrón de discriminación de aves hospederas endémicas y amenazadas, como información básica y fundamental en la toma de decisiones para su conservación.

5. LITERATURA CITADA

Bowmaker, J. K., L. A. Heath, S. E. Wilkie. & D. M. Hunt. 1997. Visual pigments and oil droplets from six classes of photoreceptor in the retinas of birds. *Vision Research*, 37: 2183-94.

Brook, B. W., N. S. Sodhi. & C. J. A. Bradshaw. 2008. Synergies among extinction drivers under global change. *Trends in Ecology and Evolution*, 23: 453–460.

- Canniff, L., M. Dainson, A. V. López, M. E. Hauber, T. Grim, P. Samaš. & D. Hanley. 2018. Probing the limits of egg recognition using egg rejection experiments along phenotypic gradients. *Journal of visualized experiments*, 138: 1–10.
- Das, D., S. E. Wilkie, D. M. Hunt. & J. K. Bowmaker. 1999. Visual pigments and oil droplets in the retina of a passerine bird, the canary *Serinus canaria*: microspectrophotometry and opsin sequences. *Vision Research*, 39: 2801–2815.
- Davies, N. B. & M. D. L. Brooke. 1988. Cuckoos versus reed warblers: adaptations and counteradaptations. *Animal Behaviour*, 36: 262–284.
- Davies, N. B., J. R. Krebs. & S. A. West. 2012. An introduction to behavioural ecology. Wiley-Blackwell. 522 pp.
- Dawkins, R. & J. R. Krebs. 1979. Arms races between and within species. *Proceedings of the Royal Society B*, 205: 489–51.
- Fraga, R. M. 1983. Parasitismo de cría del Renegrido, *Molothrus bonariensis*, sobre el Chingolo, *Zonotrichia capensis*: nuevas observaciones y conclusiones. *Hornero*, 12: 245-255.
- Feeney, W. E., J. Welbergen. & N. E. Langmore. 2014. Advances in the study of coevolution between avian brood parasites and their hosts. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 45: 227–46.
- Fenton, A. & S. A. Rands. 2006. The impact of parasite manipulation and predator foraging behavior on predator–prey communities. *Ecology*, 87: 2832–2841.

- Guigueno, M. F. & S. G. Sealy. 2012. Nest sanitation in passerine birds: implications for egg rejection in hosts of brood parasites. *Journal of Ornithology*, 153: 35-52.
- Hadfield, J. D. 2010. MCMC Methods for Multi-Response Generalized Linear Mixed Models: The *MCMCglmm* R Package. *Journal of Statistical Software*, 3: 1–22.
- Hanley, D., T. Grim, P. Cassey. & M. E. Hauber. 2015. Not so colourful after all: eggshell pigments constrain avian eggshell colour space. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 11: 20150087.
- Hanley, D., T. Grim, B. Iqic, P. Samas, A. V. López, M. D. Shawkey. & M. E. Hauber. 2017. Egg discrimination along a gradient of natural variation in eggshell coloration. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 284: 20162592.
- Hanley, D., A. V. López, V. D. Fiorini, J. C. Reboreda, T. Grim. & M. E. Hauber. 2019a. Variation in multicomponent recognition cues alters egg rejection decisions: a test of the optimal acceptance threshold hypothesis. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 374: 20180195.
- Hart, N. S., J. C. Partridge, I. C. Cuthill. & A. T. D. Bennett, A. T. D. 2000c. Visual pigments, oil droplets, ocular media and cone photoreceptor distribution in two species of passerine bird: the blue tit (*Parus caeruleus* L.) and the blackbird (*Turdus merula* L.). *Journal of Comparative Physiology A*, 186: 375–387.
- Hart, N. S. 2001. The visual ecology of avian photoreceptors. *Progress in Retinal and Eye Research*, 20: 675–703.
- Hosoi, S. A. & S. I. Rothstein. 2000. Nest desertion and cowbird parasitism: evidence for evolved responses and evolutionary lag. *Animal Behaviour*, 59: 823-840.

- Jetz, W., G. H. Thomas, J. B. Joy, K. Hartmann. & A. O. Mooers. 2012. The global diversity of birds in space and time. *Nature*, 491: 444-448.
- Jetz, W., G. H. Thomas, J. B. Joy, K. Hartmann, D. Redding. & A. O. Mooers. 2014. Distribution and conservation of global evolutionary distinctness in birds. *Current Biology*, 24: 1-12.
- Kattan, G. H. 1997. Shiny cowbirds follow the ‘shotgun’ strategy of brood parasitism. *Animal Behavior*, 53: 647-654.
- Langmore, N. E., S. Hunt. & R. M. Kilner. 2003. Escalation of a coevolutionary arms race through host rejection of brood parasitic young. *Nature*, 422: 157–160.
- Lowther, P. E. 2018. Lists of victims and hosts of the parasitic cowbirds (Molothrus). The Field Museum, Chicago. Disponible en <http://www.fieldmuseum.org>. Revisado el 20 de junio de 2020.
- Maia, R., C. M. Eliason, P. P. Bitton, S. M. Doucet. & M. D. Shawkey. 2013. pavo: An R package for the analysis, visualization and organization of spectral data. *Methods in Ecology and Evolution*, 4: 906–913.
- Maia, R., H. Gruson, J. A. Endler. & T. E. White. 2019. pavo 2: New tools for the spectral and spatial analysis of colour in R. *Methods in Ecology and Evolution*, 10: 1097–1107.
- Marchetti, K. 1992. Costs to host defence and the persistence of the parasitic cuckoos. *Proceedings of the Royal Society B*, 248: 41-45.
- Martin, T. 1993. Nest predation and nest sites. *BioScience*, 43: 523-532.

- Mason, P. 1983. Brood parasitism in a host generalist, the shiny cowbird: i. the quality of different species as hosts. *The Auk*, 103: 52-60.
- Medina, I. & N. E. Langmore. 2015. The costs of avian brood parasitism explain variation in egg rejection behaviour in hosts. *Biological Letters*, 11: 20150296.
- Morton, M. L., J. E. Orejuela. & S. M. Budd. 1972. The biology of immature mountain white-crowned sparrows (*Zonotrichia leucophrys oriantha*) on the breeding ground. *The Condor*, 74: 423-430.
- Naranjo, L. G. 1995. Patrones de reproducción en dos poblaciones aisladas de *Agelaius icterocephalus*. *Caldasia*, 18: 89–100.
- Oppel, S., H. M. Schaefer. & V. Schmidt. 2003. Description of the nest, eggs, and breeding behavior of the endangered pale-headed brush-finch (*Atlapetes pallidiceps*) in Ecuador. *Wilson Bulletin*, 115: 360–366.
- Peer, B. D., S. I. Rothstein, M. J. Kuehn. & R. C. Fleischer. 2005. Host defenses against cowbird (*Molothrus spp.*) parasitism: implications for cowbird management. *Ornithological Monographs* 57, 84-97.
- Pimm, S. L. & P. Raven. 2000. Extinction by numbers. *Nature*, 403: 843–845.
- R Core Team. 2020. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria.
- Reeve, H. K. 1989. The evolution of conspecific acceptance thresholds. *The American Naturalist*, 133: 407-435.
- Rosenberg, K. V., A. M. Dokter, P. J. Blancher, J. R. Sauer, A. C. Smith, P. A. Smith. & P. P. Marra. 2019. Decline of the North American avifauna. *Science*, 366: 120–124.

- Rothstein, S.I. 1975. Mechanisms of avian egg recognition: do birds know their own eggs?
Animal Behavior, 23: 268–278.
- Ruiz R., F. & M. Soler. 2020. Signal detection and optimal acceptance thresholds in avian brood parasite–host systems: implications for egg rejection. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 375: 20190477.
- Schielezeth, H. 2010. Simple means to improve the interpretability of regression coefficients. *Methods in ecology and evolution* 1: 103–113.
- Velásquez, J., A. Gutierrez. & E. Carrillo. 2000. Primer registro de parasitismo reproductivo en el cucarachero de pantano (*Cistothorus apolinari*) por el chamón maicero (*Molothrus bonariensis*). *Cotinga*, 14: 102–103.

6. ANEXOS

6.1. Anexo 1. Base de datos de la información colectada durante la temporada de campo. Las columnas Comp. 1, Comp. 2 y Comp. 3 equivalen a los comportamientos de observación de nidos, acomodación de huevos e intento de rechazo, respectivamente.

dS	dL	Color direccional	Especies	Nidada	Fecha	ID huevos	Código	Huevos parásitos	ID nido	Comp 1	Comp 2	Comp 3	Video
2.524368	0.649499	-2.524368	<i>Zonotrichia capensis</i>	2	02/13/2020	EggA	EggA3	0	1	1	1	0	yes
2.949346	0.186866	2.949346	<i>Zonotrichia capensis</i>	3	03/12/2020	EggK	EggK4	2	23				no
2.326525	1.624634	-2.326525	<i>Columbina talpacoti</i>	2	02/13/2020	EggA	EggA1	0	2				no
2.176732	1.939662	2.1767325	<i>Columbina talpacoti</i>	2	02/22/2020	EggK	EggK2	0	10				no
1.07222	2.269657	-1.07222	<i>Columbina talpacoti</i>	2	02/22/2020	EggC	EggC2	0	11	1	1	0	yes
1.085352	1.927467	1.0853519	<i>Columbina talpacoti</i>	2	02/24/2020	EggI	EggI2	0	12	1	1	0	yes
0.507219	2.233783	-0.507219	<i>Columbina talpacoti</i>	2	03/03/2020	EggE	EggE1	0	16	1	1	0	yes
0.611883	2.144088	0.6118835	<i>Columbina talpacoti</i>	2	03/13/2020	EggG	EggG2	0	25	1	1	0	yes
1.595691	4.443004	-1.595691	<i>Columbina talpacoti</i>	2	03/14/2020	EggB	EggB1	0	27				no
1.592132	2.021366	1.5921319	<i>Columbina talpacoti</i>	2	03/14/2020	EggJ	EggJ1	0	28				no
0.74409	2.368101	-0.74409	<i>Columbina talpacoti</i>	2	03/16/2020	EggD	EggD1	0	29				no
0.910214	2.11755	0.9102141	<i>Columbina talpacoti</i>	2	03/16/2020	EggH	EggH1	0	30				no
2.330133	1.616229	-2.330133	<i>Zenaida auriculata</i>	2	02/15/2020	EggA	EggA2	0	3	1	1	0	yes
2.154986	2.00576	2.1549858	<i>Zenaida auriculata</i>	2	02/15/2020	EggK	EggK1	0	4	1	1	0	yes
1.033993	2.425242	-1.033993	<i>Zenaida auriculata</i>	2	02/20/2020	EggC	EggC1	0	8				no
1.244746	2.194155	1.2447455	<i>Zenaida auriculata</i>	2	02/20/2020	EggI	EggI1	0	9	1	1	0	yes
0.645395	2.47915	0.6453945	<i>Zenaida auriculata</i>	2	03/09/2020	EggG	EggG1	0	17				no
0.851649	0.321935	-0.851649	<i>Turdus ignobilis</i>	2	02/26/2020	EggA	EggA4	0	13	1	0	1	yes
3.282562	0.433657	3.282562	<i>Turdus ignobilis</i>	3	02/28/2020	EggK	EggK3	0	14				no
0.913658	0.098426	0.913658	<i>Turdus ignobilis</i>	2	03/12/2020	EggC	EggC3	0	21	1	1	1	yes
2.534219	0.41129	2.5342191	<i>Turdus ignobilis</i>	3	03/12/2020	EggI	EggI3	0	24				no
0.858002	0.279531	-0.858002	<i>Turdus fuscater</i>	2	03/10/2020	EggA	EggA5	0	20	1	0	1	yes

6.2. Anexo 2. Mediciones de ancho, largo y peso de los huevos experimental (n=78).

Egg ID	Width (mm)	Length (mm)	Weight (g)	Egg ID	Width (mm)	Length (mm)	Weight (g)
A1	16.6	23	4.36	F4	16.4	22.6	4.1
A2	16.2	22.2	4.03	F5	16.1	22.3	3.95
A3	16.4	22.5	4.11	F6	16.4	22.1	4.12
A4	16.4	22.5	4.16	G1	16.6	22.6	4.21
A5	16.4	22.7	4.13	G2	16.5	22.9	4.3
A6	16.2	22	4.08	G3	16.5	22.5	4.11
A7	16.3	22.5	4.08	G4	16.2	22.6	4.01
A8	16.2	22.9	4.08	G5	16.4	22.5	4.14
B1	16.2	22.6	4.09	G6	16.3	22.5	4.13
B2	16.3	22.5	4.06	G7	16.4	22.5	4.07
B3	16.4	23.1	4.1	G8	16.2	22.5	4.13
B4	16.3	22.9	4.08	H1	16.3	22.6	4.08
B5	16.2	22.6	4.08	H2	16.3	22.4	4.14
B6	16.3	22.4	4.08	H3	16.5	22.6	4.12
C1	16.8	23.1	4.43	H4	16.3	23	4.14
C2	16.6	23.2	4.41	H5	16.3	22.4	4.14
C3	16.5	22.8	4.12	H6	16.4	22.7	4.07
C4	16.4	22.4	4.03	I1	16.3	22.1	4.13
C5	16.3	22.7	4.12	I2	16.2	22.5	4.17
C6	16.3	22.6	4.16	I3	16.1	22	4.01
C7	16.5	23	4.13	I4	16.4	22.6	4.11
C8	16.4	22.8	4.17	I5	16.3	22.6	4.09
D1	16.4	22.6	4.09	I6	16.3	22.5	4.12
D2	16.3	22.1	4.09	I7	16.6	23.2	4.36
D3	16.3	22.6	4.09	I8	16.4	23.1	4.39
D4	16.8	22.9	4.26	J1	16.4	22.5	4.13
D5	16.3	22.4	4.05	J2	16.4	22.6	4.08
D6	16.5	22.8	4.13	J3	16.2	23	4.17
E1	16.4	23.6	4.13	J4	16.2	22.3	4.07
E2	16.5	23.1	4.3	J5	16.3	22.5	4.14
E3	16.5	22.5	4.16	J6	16.3	22.4	4.1
E4	16.3	22.5	4.16	K1	16.4	22.7	4.19
E5	16.4	22.8	4.15	K2	16.2	22.3	4.1
E6	16.3	22.2	4.02	K3	16.5	23.2	4.28
E7	16.4	22.6	4.12	K4	16.1	22.7	4.13
E8	16.3	22.6	4.12	K5	16.2	22.6	4.11
F1	16.3	23	4.11	K6	16.4	22.2	4.06
F2	16.4	22.5	4.12	K7	16.3	22.7	4.1
F3	16.3	22.4	4.12	K8	16.6	22.8	4.29

6.3. Anexo 3. Código en R implementado para el análisis estadístico y de color.

Modelos visuales

Modelo visual Columbidae

```
> library(pavo)
# importar información de espectrofotometría de huevos
> specs <- getspec("G:/My Drive/Trabajo de Grado/Eggs_Spectra/Dummy eggs_Session 1",
ext="txt", decimal=",", subdir=T, subdir.names=F,lim=c(300,700))
# Asignación de color para cada uno de los espectras (i.e. cada huevo)
> eggscols <- spec2rgb(specs)
# Promedio para cada huevo (A1, A2, A3,..., K6, K7, K8)
> specs.mean <- aggspec(specs, by= 3, FUN="mean")
# Remoción de ruido usando suavizado loess
> specs.smooth <- procspec(specs.mean, opt="smooth")
# importar espectrogramas de los huevos de "Columba"
> host <- getspec("G:/My Drive/Trabajo de Grado/Análisis_R/Huevos promedio/columbidae",
ext="txt", decimal=",", subdir=T, subdir.names=F,lim=c(300,700))
# Promedio por cada huevo
> host.mean <- aggspec(host, by= 6, FUN="mean")
# Remoción de ruido
> host.smooth <- procspec(host, opt="smooth")
# Crear un único dataset: huevos experimentales + huevos de Columbidae
> full.spec <- merge (host.smooth, specs.smooth)
```

Distancias de color: Columbidae

Sistema visual Columbidae

```
> columba <- sensmodel(c(409, 453, 507, 567))
```

Vismodel

```
> vis.colum <- vismodel(full.spec, visual = columba, achromatic = "ch.dc", bkg = "ideal",
scale=10000, illum = "forestshade", relative = FALSE)
```

Coldist

```
> coldist_eggs<-coldist(vis.colum, noise ="quantum",subset = NULL, achromatic = TRUE,
weber.ref = "longest", n = c(1, 2, 2, 4),weber = 0.1, weber.achro = 0.34)
```

Colspace

```

> colspace.colum <- colspace(vis.colum, space= "tcs")

# Tetraplot

> columbi <- tetraplot (colspace.colum,theta =180, perspective= TRUE,phi = 5, zoom = 1,
out.lwd=1,out.lcol="black",labels= TRUE,margin = c(1,1,1,1), type= "p", achro.line = F, cex=1,
col= c("red", "turquoise1", "turquoise2", "turquoise", "turquoise3", "turquoise4", "cadetblue4",
"wheat4", "burlywood4", "lightsalmon4", "sienna", "coral4"))

> mtext("a)", side=3, line=1, cex=1.2, adj=-0.05)

# Modelo visual Turdus

> rm(list=ls())

> specs <- getspec("G:/My Drive/Trabajo de Grado/Eggs_Spectra/Dummy eggs_Session 1",
ext="txt", decimal=",", subdir=T, subdir.names=F,lim=c(300,700))

> eggscols <- spec2rgb(specs)

> specs.mean <- aggspec(specs, by= 3, FUN="mean")

> specs.smooth <- procspec(specs.mean, opt="smooth")

# importar espectras de los huevos de Turdus migratorius

> host <- getspec("G:/My Drive/Trabajo de Grado/Análisis_R/Huevos promedio/turdus",
> ext = "txt", decimal=",", subdir=T, subdir.names=F,lim=c(300,700))

> host.mean <- aggspec(host, by= 6, FUN="mean")

> host.smooth <- procspec(host, opt="smooth")

# Crear un único dataset: huevos experimentales + huevos de Turdus

> full.spec <- merge (host.smooth, specs.smooth)

# Distancias de color: Turdus

# Sistema visual

> merula <- sensmodel(c(373, 454, 504, 557))

# Vismodel

> vis.turdus <- vismodel(full.spec, visual = merula, achromatic = "st.dc",bkg = "ideal",
scale=10000, illum = "forestshade", relative = FALSE)

# Coldist

> coldist_eggs<-coldist(vis.turdus, noise ="quantum",subset = NULL, achromatic = TRUE,
weber.ref = "longest", n = c(1, 2, 2, 4),weber = 0.1, weber.achro = 0.34)

# Colspace

> colspace.turdus <- colspace(vis.turdus, space= "tcs")

# Tetraplot

```

```
> turdus <- tetraplot (colspace.turdus,theta =180, perspective= TRUE,phi = 5, zoom = 1,
out.lwd=1,out.lcol="black",labels= TRUE,margin = c(1,1,1,1), type= "p", achro.line = F, cex=1,
col= c("red","turquoise1","turquoise2", "turquoise", "turquoise3", "turquoise4", "cadetblue4",
"wheat4", "burlywood4", "lightsalmon4", "sienna", "coral4"))
```

```
> mtext("(b)", side=3, line=1, cex=1.2, adj=-0.05)
```

Modelo visual *Zonotrichia capensis*

```
> rm(list=ls())
```

```
> specs <- getspec("G:/My Drive/Trabajo de Grado/Eggs_Spectra/Dummy eggs_Session 1",
ext="txt", decimal="," , subdir=T, subdir.names=F,lim=c(300,700))
```

```
> eggscols <- spec2rgb(specs)
```

```
> specs.mean <- aggspec(specs, by= 3, FUN="mean")
```

```
> specs.smooth <- procspec(specs.mean, opt="smooth")
```

importar espectras de los huevos de *Zonotrichia capensis*

```
> host <- getspec("G:/My Drive/Trabajo de Grado/Eggs_Spectra/Species/Zonotrichia_capensis",
ext="txt", decimal="," , subdir=T, subdir.names=F,lim=c(300,700))
```

```
> host.mean <- aggspec(host, by= 6, FUN="mean")
```

```
> host.smooth <- procspec(host.mean, opt="smooth")
```

Crear un único dataset: huevos experimentales + huevos de *Zonotrichia*

```
> full.spec <- merge (host.smooth, specs.smooth)
```

Distancias de color: *Zonotrichia capensis*

Sistema visual de *Z. capensis*

```
> canaria <- sensmodel(c(369, 444, 500, 571))
```

Vismodel

```
> vis.zono <- vismodel(full.spec, visual = canaria, achromatic = "bt.dc", bkg = "ideal",
scale=10000, illum = "forestshade", relative = FALSE)
```

Coldist

```
> coldist_eggs<-coldist(vis.zono, noise ="quantum",subset = NULL, achromatic = TRUE,
weber.ref = "longest", n = c(1, 2, 2, 4),weber = 0.1, weber.achro = 0.34)
```

Colspace

```
> colspace.zono <- colspace(vis.zono, space= "tcs")
```

Tetraplot

```
> capensis <- tetraplot (colspace.zono,theta =180, perspective= TRUE,phi = 5, zoom = 2.8,
out.lwd=1,out.lcol="black",labels= TRUE,margin = c(1,1,1,1),type= "p", achro.line = F, cex=1,
```

```
col= c("red","turquoise1","turquoise2","turquoise", "turquoise3", "turquoise4", "cadetblue4",
"wheat4", "burlywood4", "lightsalmon4", "sienna", "coral4"))
```

```
> mtext("(c)", side=3, line=1, cex=1.2, adj=-0.05)
```

Gráfico de Figura 2: Espectrogramas de gradiente de color

```
> library(pavo)
```

```
> rm(list = ls())
```

El siguiente procedimiento se realizó para los 10 colores restantes (B-K)

Color A

```
> specs <- getspec("G:/My Drive/Trabajo de Grado/Eggs_Spectra/Dummy eggs_Session 2/EggA",
ext="txt", decimal=",", subdir=T, subdir.names=F,lim=c(300,700))
```

Promedio para el color A

```
> specs.mean <- aggspec(specs, by= 3, FUN="mean")
```

```
> specs.sm <- procspec(specs.mean, opt="smooth")
```

```
> par(no.readonly=FALSE)
```

```
> par(mfrow = c(3, 4), mar=c(3,3,2,2), oma=c(2,2,2,2))
```

```
> plot(specs.sm,xlab="", ylab= "", col= c("midnightblue","chartreuse4","red2"), lwd= 1, lim=
c(1,110))
```

```
> legend(610, 120,legend= c("EggA-1", "EggA-2", "EggA-3"), text.col=
c("midnightblue","chartreuse4","red2"), cex=1.2,box.lty=0, adj = 1, y.intersp= 0.4,
bg="transparent")
```

```
> mtext(text="Wavelength (nm)",side=1,line=0,cex= 1.5, outer=TRUE)
```

```
> mtext(text="Reflectance (%)",side=2,line=0,cex= 1.5, outer=TRUE)
```

Gráfico de Figura 4: Respuestas comportamentales

```
> rm(list=ls())
```

```
> data <- read.csv("comport.csv")
```

```
> response.f <- as.factor(data$response)
```

```
> freq.n <- as.numeric(data$freq)
```

```
> legend_title <- "Respuesta"
```

```
> dose.labs <- c("Observación de nidada", "Acomodación de huevos", "Intento de rechazo")
```

```
> names(dose.labs) <- c("check.egg", "egg.org", "rejection.at")
```

Gráfico de barras

```
> bars <- ggplot(data=data, aes(x=response.f, y=freq, fill=response.f)) + geom_bar(stat="identity",
position=position_dodge(), width = 0.5) + scale_fill_manual(legend_title,values = c("wheat3",
```

```
"mistyrose3")) + facet_wrap(~behavior, labeller = labeller(behavior=dose.labs)) +  
theme(panel.spacing=unit(.05, "lines"), panel.background = element_rect(fill="white"),  
panel.border = element_rect (color = "black", fill = NA, size = 0.5), strip.background =  
element_rect (color = "black", size = 0.5)) + labs(y="Número de nidos", x = "", colour =  
"Respuesta")
```

```
> bars
```

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

```
> library(MCMCglmm)
```

```
> library(car)
```

```
> library(arm)
```

```
> library(stats)
```

```
> library(lme4)
```

```
> library(ggplot2)
```

```
> library(gridExtra)
```

```
> library(smatr)
```

```
> library(dplyr)
```

```
> library(ggiraphExtra)
```

```
> library(ggthemes)
```

```
> rm(list=ls())
```

```
> data <- read.csv("database_JMV.csv")
```

```
# Estandarización de variables continuas
```

```
> zdS <- scale(data$dS)
```

```
> zdL <- scale(data$dL)
```

```
> zdirection <- scale(data$direction)
```

```
# Incluir variables estandarizadas a la base de datos
```

```
> data[,"zdS"]<-zdS
```

```
> data[,"zdL"]<-zdL
```

```
> data[,"zdirection"]<-zdirection
```

```
# GLM
```

```
> model <- glm(response ~ zdS + zdL +zdirection, data=data, family="binomial")
```

```
> summary (model)
```

```
# Gráficos Figura 8: Visualización de GLM
```

```
# Color direccional
```

```

>plot <- glm(response ~ direction, data=data, family="binomial")

>plot.dir <-ggPredict(plot)+theme_bw()+xlab("Color direccional")+ylab("Probabilidad de
rechazo") + theme (text = element_text(size=15), axis.line = element_line(size = 0.5, linetype =
"solid", colour = "black")) + theme(plot.margin=unit(c(2,0.5,1,1), "cm"), plot.title =
element_text("a")) + ggtitle("a")

# Gráfico de Contraste cromático y acromático

>plot <- glm(response ~ dS+dL, data=data, family="binomial")

>plot.crom <- ggPredict(plot)+theme_bw()+xlab("Contraste cromático")+ylab("")+ theme (text =
element_text(size=15),axis.line = element_line(size = 0.5, linetype = "solid", colour = "black")) +
ggtitle("b") + theme(plot.margin=unit(c(2,0.5,1,0.5), "cm"), plot.title = element_text("b"))

>figure <- grid.arrange(plot.dir,plot.crom, ncol=2)

```