

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE BIOLOGÍA  
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGÍA



**Tasa de consumo de oxígeno de *Zonotrichia capensis*  
expuesto a distintos playback.**

**TRABAJO ESPECIAL DE GRADO**

Presentado ante la ilustre  
Universidad Central de Venezuela  
por el Br. Fernando Alfonso Riera Izarra  
como requisito parcial para optar al título  
de Licenciado en Biología

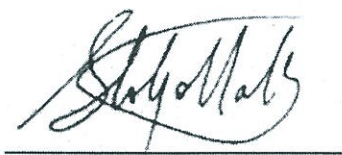
Tutor: Astolfo Mata Betancourt

Caracas, Venezuela, Diciembre 2017

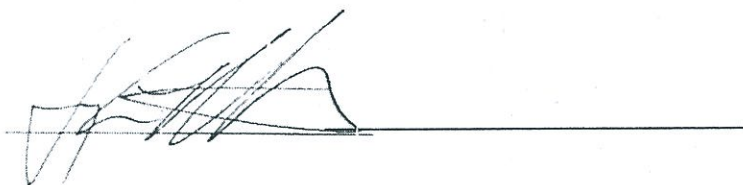
DEL EXAMEN PÚBLICO Y SOLEMNE DEL TRABAJO ESPECIAL DE GRADO  
DEL BACHILLER

Quienes suscribimos, miembros del jurado evaluador designado por el Consejo de la Escuela de Biología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Central de Venezuela, para examinar el trabajo especial de grado de la bachiller Fernando Riera, portador de la cédula de identidad V-23710566, titulado: "**Tasa de consumo de oxígeno de *Zonotrichia capensis* expuesto a distintos playback.**" Considerando que dicho trabajo cumple con los requisitos exigidos en los reglamentos respectivos para optar al título de Licenciada en Biología, lo declaramos **APROBADO**.

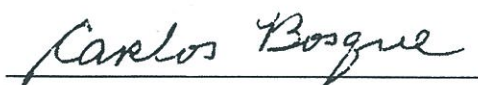
Para dar fe de ello se levanta la presente acta en Caracas, a los seis (6) días del mes de diciembre del año dos mil diecisiete (2017), dejando constancia de ello los miembros del jurado.



Prof. Astolfo Mata  
(Tutor)



Prof. Jorge Pérez Eman  
(Jurado)



Dr. Carlos Bosque  
(Jurado)



Prof. Fernando González  
(Coordinador del Jurado)

## Índice de contenidos

1. Agradecimientos	6
2. Resumen	7
3. Introducción	8
4. Antecedentes	14
5. Objetivos	22
6. Metodología	
a. Área de estudio	23
b. Captura y mantenimiento de las aves	24
c. Diseño experimental	26
d. Selección y reproducción del canto	29
e. Medición de la tasa de consumo de oxígeno	33
f. Extracción de datos	36
g. Análisis estadísticos	38
7. Resultados	39
8. Discusión	45
9. Conclusiones	51
10. Bibliografía	52

## Índice de figuras

- Figura 1.** Latencia de respuesta relativa de cuatro especies, ante diferentes playbacks. 16
- Figura 2.** Respuesta hormonal (concentración de testosterona) de *Z. capensis* al *playback* interespecífico: *C. inornata* e intraespecífico: *Z. capensis*. 19
- Figura 3.** Respuesta hormonal (Estradiol y Testosterona) de *T. guttata* ante los *playbacks*: Canción del macho, sonido de colonia, llamada de la hembra y ruido blanco. 19
- Figura 4.** Tasa metabólica asociada a varias actividades de *Serinus canaria* comparada con su tasa metabólica basal (BMR). 21
- Figura 5.** Ubicación del área de estudio. 23
- Figura 6.** Esquema de la medición del consumo de oxígeno de *Z. capensis* ante tres estímulos de *playback* distintos, en dos experimentos intraespecífico (arriba) e interespecífico (abajo). 28
- Figura 7.** Montaje instrumental para la medición del consumo de oxígeno de *Z. capensis* al aplicarle distintos *playbacks*. 35
- Figura 8.** Peso de los *Z. capensis* medidos, en función de los tratamientos y la captura. 40
- Figura 9.** Consumo de oxígeno individual de los *Z. capensis* en los experimentos interespecíficos e intraespecíficos. 41

**Figura 10.** Caja y bigotes del consumo de oxígeno de los *Z. capensis*, sometidos a los dos experimentos.

43

## Índice de tablas

<b>Tabla 1.</b> Consumo de oxígeno ( $\frac{mL O_2}{min.g}$ ) y peso (g) de los <i>Z. capensis</i> medidos, en los dos experimentos realizados.	39
---	----

## Agradecimientos

Lab Biología y Conservación de Aves  
Lidia Madrid  
US Embassy Diego Griffón  
Marialejandra Castro Colección Phelps  
Astolfo Mata Angel Garcia  
Zaida Tarano Xenocarto Samuel Toro  
Ana Melisa Udina Jeremy Shipley  
Miguel Lentino Reuniones de Lab  
Hugo Rodriguez Ana Herrera Luis Farias  
Thorman Piñero Ruben Fernandez Gonzalez  
Margarita Martinez  
Fernando Machado  
Thonathan Miranda  
Miguel Mata  
Lab de Ornitología Cornell

Lab Ecofisiología Animal IUGT  
Oman Sumoza

## Resumen

Todos los organismos están sometidos a un gran número de estímulos externos, siendo el canto, uno de los más comunes cuando se trata de las aves. El proceso de recepción y percepción del canto es tan específico en las aves, que se podría pensar que hay un costo metabólico implícito en todo el proceso, distinto para una gama de cantos diferentes. En aves no se ha estudiado la variación del consumo de oxígeno como estimadora del metabolismo, en respuesta a un estímulo de canto. Es por eso que por medio de la utilización de varios cantos inter e intraespecíficos (*Cardinalis cardinalis*, *Turdus sarranus* y *Zonotrichia capensis*), la determinación del consumo de oxígeno (respirometría) y 10 individuos de *Zonotrichia capensis*, se buscó determinar si tal variación existía y de ser así cómo era. Se expuso a los individuos a *playbacks* de los cantos en dos experimentos: el intraespecífico (utilizando al canto de *Z. capensis* como canto problema y *C. cardinalis* como canto control) y el interespecífico (utilizando al canto de *T. sarranus* como canto problema y *C. cardinalis* como canto control), teniendo como variable el consumo de oxígeno (medido mediante un respirómetro) en  $\frac{mL O_2}{min.g}$  y como covariable a la variación del peso entre la captura y el inicio del experimento interespecífico. Se obtuvo que no hubo variación significativa en el consumo de oxígeno posterior a cada *playback* aplicado, pero sí en la variación de peso y consumo de oxígeno y entre los individuos. Es por ello que concluimos que no hubo relación entre el consumo de oxígeno de *Z. capensis* y la percepción de cantos intra e interespecíficos.



## Introducción

Todos los organismos están sometidos a diferentes estímulos en cada una de las condiciones y contextos que viven diariamente. Estos estímulos pueden ser tanto bióticos (generados por la acción de otro organismo) como abióticos (generados por variables como la presión, temperatura, altura y precipitaciones). Es importante la percepción de dichos estímulos para la supervivencia de cada organismo (Gibson, 1962), por lo que la sensibilidad sensorial y la eficiencia de la respuesta son cruciales y dependen del contexto en donde la especie se desenvuelva.

En la percepción de estímulos, se ha determinado que existe un proceso más específico de percepción de competidores, asociado generalmente a los organismos territoriales (Grether, 2011). Este proceso consta de cuatro componentes: recepción, en donde se recibe un carácter fenotípico único (caracteres morfológicos, como el color del plumaje; conductuales, como el canto o secreción de sustancias químicas, como las feromonas) generado por el competidor potencial al que el receptor está expuesto; identificación, donde se da la comparación con las plantillas neuronales preexistentes (de haber) en el actor (receptor); contexto, en donde la red neuronal da la ubicación contextual y, finalmente, la acción en donde se da la respuesta al estímulo (Grether, 2011).

Estos componentes pueden variar en función de la clase y procedencia del estímulo, sobre lo que existe una gran cantidad de evidencias. Un ejemplo clásico es la mariposa nocturna *Caenurgina erechtea*, la cual cuando es perseguida por un murciélago que emite ultrasonidos de ecolocalización (Roeder, 1966), genera una respuesta de huida lanzándose en picada hacia el suelo, volando erráticamente o a su máxima velocidad

en sentido contrario del ultrasonido; por otra parte, la mariposa *Hamadryas feronia*, al detectar el click o chasquido de otra de su misma especie, puede responder con conductas de apareamiento o territorialidad (Yack y col., 2000). En otras especies de artrópodos, como en la mantis religiosa, *Parasphendale agrionina*, la percepción de los ultrasonidos de ecolocalización del murciélago y, por ende, sus maniobras evasivas ante el mismo, varían en función de la distancia a la que se encuentre, es decir de la intensidad del estímulo (Yager y col., 1990). En las aves, uno de los estímulos más utilizados para la transmisión de muchos tipos de información, es el canto (Emlen, 1972). Emlen (1972) estableció que la información enviada a través del canto puede incluir: especie, sexo, individuo, estatus territorial, estatus reproductivo y la probabilidad de respuesta agresiva, habiendo para cada tipo de información un tipo de señal o estímulo de canto específico. En general, se podría observar que cada respuesta está asociada a una estimulación y a un conjunto de receptores, siendo diferentes en función de cada estímulo, especie a la que pertenezca o contexto en que se desarrolle.

Las reacciones ante estímulos pueden darse a escalas temporales distintas (Prosser y col., 1973). Considerando el tiempo, existen respuestas de tres tipos: a corto plazo (inmediatas), mediano plazo (días o semanas) y largo plazo (varias generaciones) (Prosser y col., 1973). Específicamente, las respuestas de corto plazo llevan a variaciones súbitas del metabolismo (Prosser y col., 1973), por lo que teniendo en cuenta la especificidad de la respuesta conductual, la respuesta metabólica podría ser distinta e identificable en función de cada estímulo.

La respuesta metabólica de un ave a un estímulo de canto particular, ya sea inter o intraespecífica, ha sido poco estudiada. Dentro de las investigaciones sobre percepción/respuesta en aves, los estímulos más utilizados para la inducción de respuestas de corto plazo, han sido las vocalizaciones, emitidas por medio de la reproducción de una grabación de un canto de interés (Reed, 1982; Kroodsma, 1986; McGregor y col., 1992; Eberhardt, 1994; McGregor, 2000; Oberweger, 2001). Este método se denomina *playback* y se define como la reproducción visual o auditiva de una señal, de manera controlada, en la que posteriormente se registran las respuestas consecuentes del organismo que recibe el estímulo (McGregor, 2000). Existen numerosas evidencias en aves y otros grupos (insectos, anuros y mamíferos) de que los *playbacks* generan respuestas similares o idénticas a los estímulos en contextos naturales (Sullivan, 1985; Tauber y col., 2001; Hartmann y col., 2005; Nowicki y Searcy, 2005; Deecke, 2006; Clay y col., 2012).

En este proyecto de investigación nos valemos de las herramientas de medición del consumo de oxígeno (respirometría) y de la reproducción de cantos (*playback*) para describir las variaciones en las tasas de consumo de oxígeno de *Zonotrichia capensis* al estar sometido a distintos *playback*. Teniendo en cuenta la especificidad de la respuesta conductual ante cada estímulo (Emlen, 1972; Brenowitz, 1981; McGregor y Falls, 1984; Hoezel, 1986; McArthur, 1986; Brindley, 1991; Dooling y col., 1992; Møller, 1992; De Kort y Ten Cate, 2001; Boscolo y col., 2006 y Goodale y Kotogama, 2008), se evaluará la variación en el consumo de oxígeno, ante determinados tipos de canto (intra o interespecíficos).

Realizaremos las mediciones del consumo de oxígeno dentro de las condiciones menos estresantes para la especie, por lo que mediremos dentro del ciclo diario de *Z. capensis*, que es la etapa del ciclo circadiano de cada organismo en donde la actividad es máxima, bien sea por estar invirtiendo energía en buscar alimento o por el movimiento de un sitio a otro (Daan y Aschoff, 1974; Bednekoff y Houston, 1994), y además, dentro de la zona termoneutral, que es definida según Naya y col. (2013), como el segmento en donde se da el mínimo consumo de oxígeno y no existe dependencia con la temperatura (al no estar sometido a procesos de termorregulación con alto gasto energético). Por otro lado, compararemos lo obtenido con las tasas metabólicas basales para la misma especie, definida como la energía mínima necesaria para el mantenimiento del organismo en condiciones de ayuno (Naya y col., 2013) y la tasa metabólica máxima, definiendo a esta como el máximo consumo de energía posible para cada individuo de la especie (Novoa y col., 1990).

Utilizaremos como modelo de estudio a un organismo muy común en la investigación de la fisiología de aves y los trabajos con canto, como lo es *Zonotrichia capensis* (Notenbohn, 1969, King, 1971; Novoa y col., 1990; Novoa y col., 1994; Tubaro, 1999 Wada y col., 2006; Barceló y col., 2009 y Maldonado y col., 2009). Esta ave, de fácil mantenimiento en cautiverio, se caracteriza por presentar una longitud promedio de 8 a 10 cm de cola a pico y tener una masa promedio de 16 a 21 gramos, según los datos que hemos obtenido en los pasados tres años de trabajo con la especie, en las poblaciones que se encuentran en las inmediaciones del Centro del Ecología del IVIC, estado Miranda, Venezuela a 1750 m s.n.m. Habita desde los 4600 m s.n.m. hasta el nivel del mar, desde Centroamérica hasta el extremo Sur de Argentina (Rising y

Jaramillo, 2017). En Venezuela, se distribuye de 800 a 4000 metros al norte del Orinoco y de 850 a 2800 m al sur del Orinoco, y está distribuido a lo largo del país en La Sierra de Perijá, La Cordillera de la Costa, La Cordillera de Los Andes y en algunas zonas del macizo guayanés (Hilty, 2003). Es un ave que habita generalmente en sitios abiertos como pastizales, al borde del bosque y zonas intervenidas (Hilty, 2003).

A nivel etológico *Zonotrichia capensis* es un organismo que defiende territorios (Smith, 1978), siendo los territorios áreas de uso exclusivo, en donde existe una alta concentración de recursos (alimenticios, espaciales o de refugio) (Alcock, 2001). La defensa es realizada en parejas o tríos (principalmente por los machos y secundariamente por las hembras) y los territorios se mantienen por períodos de aproximadamente dos meses hasta que alguno se mueva hacia otra área que presente mejores condiciones (Busch y col., 2004; Smith, 1978). Busch y col. (2004) estudiaron la conducta territorial de *Zonotrichia capensis*, concluyendo que la defensa del territorio se da en la temporada reproductiva. En caso de una invasión al territorio, el macho defensor comienza a vocalizar (emitiendo canciones de defensa de territorio), pudiendo escalar hasta la confrontación física, si el intruso llega a estar a menos de 5 metros del centro del territorio en cuestión (que tiende a ser una percha), atacándolo y persiguiéndolo hasta expulsarlo del mismo (Busch y col., 2004). Si el *Z. capensis* residente, no logra desplazar al intruso conespecífico, tenderá a abandonar el territorio con su respectiva pareja (Busch y col., 2004).

La territorialidad en *Zonotrichia capensis* nos lleva a pensar que esta ave podría responder a experimentos con *playback*. Más aún, que podría responder a cantos conespecíficos, al ser estos competidores potenciales, y a su vez, a cantos

interespecíficos de manera distinta, siendo estos competidores potenciales o depredadores. Estas diferencias en respuesta podrían asociarse con respuestas metabólicas distintas en cada caso.

## Antecedentes

La respuesta ante el canto, ha sido estudiada por los pasados cuarenta años, desde diferentes enfoques, utilizando al *playback* como técnica común (Emlen, 1972; Brenowitz, 1981; McGregor y Falls, 1984; Hoebel, 1986; McArthur, 1986; Brindley, 1991; Dooling y col., 1992; Møller, 1992; De Kort y Ten Cate, 2001; Boscolo y col., 2006 y Goodale y Kotogama, 2008). Se ha determinado que la respuesta del organismo ante un estímulo de canto puede variar dependiendo del tipo y calidad de *playback* utilizado. A partir de la modificación de la secuencia de presentación de las notas y componentes introductorios de la canción de *Agelaius phoeniceus*, se logró determinar que las respuestas de los conespecíficos variaban, en función de la parte del canto que había sido cambiada, generando respuestas agresivas, o no generando respuesta alguna (Brenowitz, 1981). Por otro lado, trabajando con *Sturnella neglecta*, por medio de la generación de canciones degradadas o con mayor reverberación (para asemejar sonidos distantes), se obtuvo que existían diferencias en las respuestas, en función de lo degradado que pudiese estar el *playback* (McGregor, 1984).

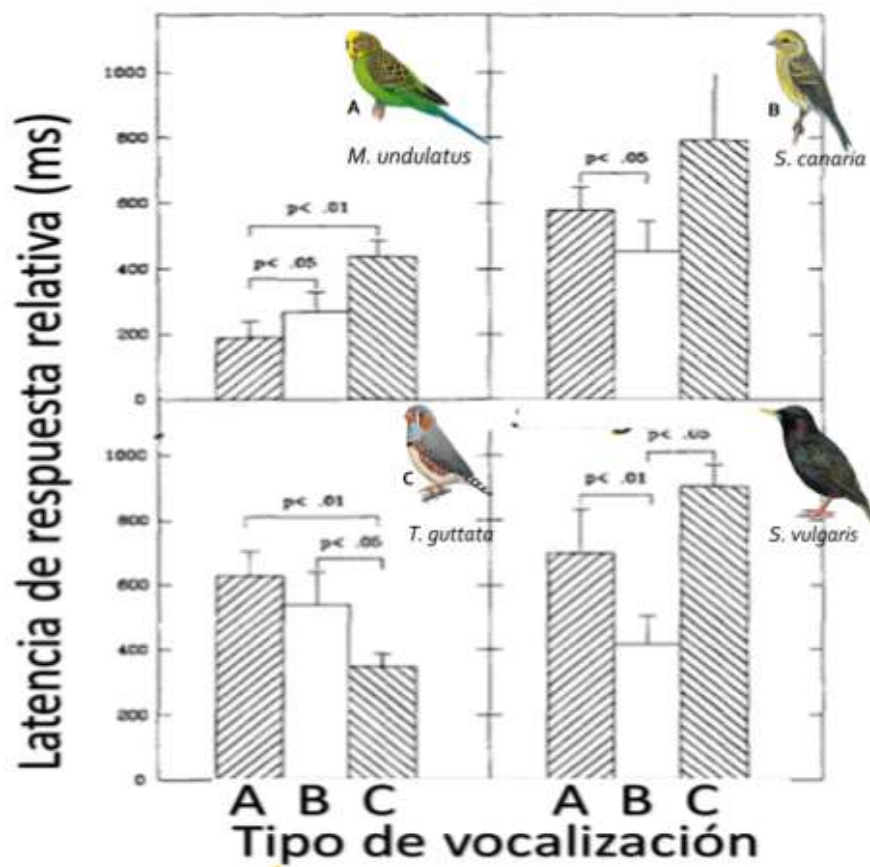
El *playback* ha sido ampliamente utilizado para determinar la influencia del canto en las interacciones intra o interespecíficas. En *Erithacus rubecula*, se determinó que existe una discriminación entre las vocalizaciones de los conespecíficos vecinos y extraños, siendo las respuestas a los vecinos más agresivas que a extraños (Brindley, 1991), y además, que los machos tienden a vocalizar luego de escuchar a las hembras (Hoebel, 1986). Más aún, se demostró en *Melospiza melodia* que la respuesta territorial de los machos ante conespecíficos, puede ser afectada significativamente por la similitud entre el estímulo y la canción propia del individuo que lo percibe

(McArthur, 1986). Esta discriminación en la percepción del canto podría darse a través de aprendizaje asociativo, de hecho Goodale y Kotogama (2008) trabajando con bandadas mixtas de paserinos de Sri Lanka, demostraron que la existencia de respuestas comunes ante el *playback* de la llamada de alarma de 6 especies diferentes de paserinos, podría deberse a dicho tipo de aprendizaje.

Cada estímulo está directamente asociado a una respuesta diferente, en función del tipo de canto, de sus características y de la relación de la especie diana con la especie generadora del *playback*. A partir del condicionamiento clásico (utilizando estímulos positivos) de cuatro especies de aves (*Melopsittacus undulatus*, *Serinus canaria*, *Taeniopygia guttata* y *Sturnus vulgaris*) y el *playback*, se determinó que la latencia de respuesta relativa, o tiempo mínimo de respuesta ante un estímulo, era distinto ante cada *playback* por especie y menor al percibir el *playback* intraespecífico con respecto a la percepción de los interespecíficos (Figura 1) (Dooling y col., 1992). Por otro lado, se determinó la latencia de respuesta entre otras variables conductuales (número de llamadas, número de canciones y vuelos), trabajando con organismos no entrenados (2 palomas del género *Streptopelia*: *vinacea* y *roseogrisea*) y en condiciones naturales (De Kort y Ten Cate, 2001). Se llegó a la misma conclusión que la mencionada anteriormente (estímulos distintos, respuestas distintas), que la latencia de respuesta fue mínima al percibir estímulos conespecíficos (*S. vinacea* y *S. roseogrisea*, respectivamente) y que a su vez ésta, fue aumentando a medida que la distancia filogenética con respecto al individuo diana o receptor se fue haciendo mayor (*S. capicola* congénere más cercano de *S. vinacea*; *S. decaocto*, congénere más cercano de *S. roseogrisea* y *Cercotrichas podaba*, no relacionado con ninguna y



utilizado como control externo) (De Kort y Ten Cate, 2001). Se obtuvo además, que las otras tres variables medidas (número de llamadas, número de canciones y vuelos) fueron máximas con los *playbacks* conespecíficos y mínimas con las especies filogenéticamente más alejadas, por lo que no sólo las vocalizaciones, sino también su percepción, reflejaron la relación filogenética en este género de palomas (De Kort y Ten Cate, 2001).



**Figura 1.** Latencia de respuesta relativa de cuatro especies, ante diferentes playbacks. Especies: *Melopsittacus undulatus*, *Serinus canaria*, *Taeniopygia guttata* y *Sturnus vulgaris*. Vocalizaciones: *Melopsittacus undulatus* (A), *Serinus canaria* (B), *Taeniopygia guttata* (C). Tomado y modificado de Dooling y col. (1992).

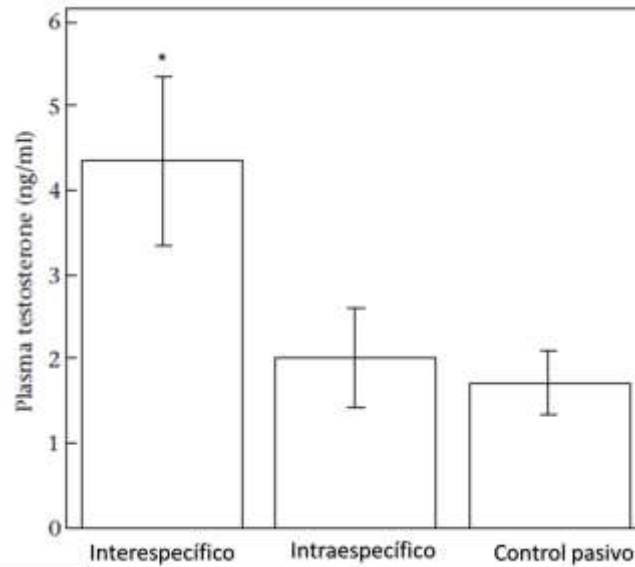
Dentro del campo de la fisiología, la percepción y respuesta ante estímulos de *playback*, más específicamente cantos intra e interespecíficos no ha sido muy estudiada (Remage-Healey y Bass, 2005; Remage-Healey y col., 2008; Zoolinger y col., 2011). Las pocas investigaciones realizadas, han sido desde el ámbito inmunológico, hormonal, neuronal y bioenergético, siendo éste último el área con menor número de trabajos. Sin embargo, todas las respuestas tienden a seguir los mismos patrones mostrados en los trabajos conductuales, estando cada estímulo asociado a una respuesta diferente.

Dentro del campo de la inmunología, Campo y col. (2005) utilizando dos razas diferentes de gallinas, estimulándolas con ruidos ajenos a su entorno acústico normal (camiones, carros y trenes), obtuvieron aumentos significativos en la concentración de linfocitos en sangre. Este aumento lo asociaron directamente al estrés de los organismos por la percepción de dichos estímulos sonoros (Campo y col., 2005).

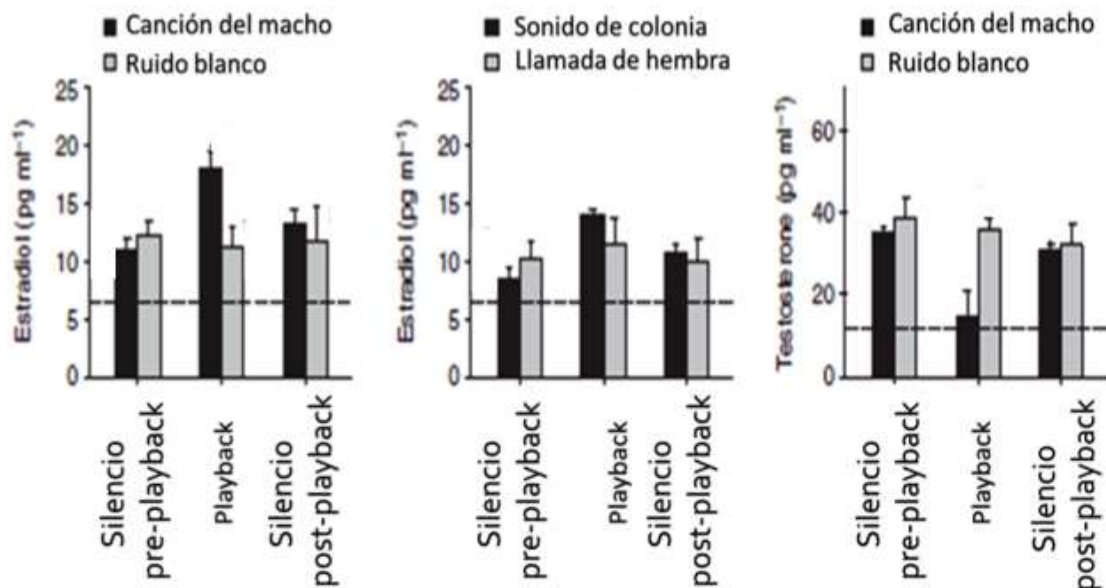
Los trabajos utilizando hormonas, se han enfocado en la medición y análisis de las concentraciones de hormonas sexuales (testosterona y estradiol) y la hormona del estrés (cortisol). En peces, por medio de la utilización de *playbacks* intraespecíficos del pez *Opsanus beta* (Gulf Toadfish, en inglés) de la familia Batrachoididae, que exhibe una gran variedad de vocalizaciones y conductas asociadas a la territorialidad y búsqueda de pareja, Remage-Healey y Bass (2005) lograron medir las variaciones en la concentración de dos hormonas en sangre, 11-ketotestosterona y cortisol. Concluyeron, que hubo diferencias significativas en las concentraciones hormonales medidas, entre los niveles del grupo control (presentes en los individuos no sometidos

a *playback*) y los niveles del grupo expuesto, como consecuencia de la reproducción repetida de un *playback* territorial (Ramage-Healey y Bass, 2005).

En aves, se demostró con mediciones en campo, que en *Z. capensis* las respuestas ante *playbacks* interespecíficos al inicio de la temporada reproductiva, generaban aumentos de la concentración de testosterona significativamente distintos al nivel basal (Moore y col., 2004) (Figura 2). Del mismo modo, en otros trabajos, se determinó que la respuesta hormonal dentro del cerebro de *Taeniopygia guttata* fue diferente y específica, ante la reproducción de cantos de machos, llamadas de hembras y sonidos de colonias, habiendo aumentos en la concentración de estradiol y disminución en la concentración de testosterona significativos, respecto a los niveles basales, medidos en los períodos de silencio anteriores y posteriores al *playback* (Ramage-Healey y col., 2008). Determinaron además, que la variación hormonal ante *playbacks* de sonidos no naturales, no eran significativamente diferente respecto a lo obtenido ante los períodos de silencio (Ramage-Healey y col., 2008). Por otra parte concluyeron, que la variación de las concentraciones de estradiol y testosterona respecto al estímulo de *playback* canción del macho, reflejó que ambas están reguladas de manera diferente e inversa, generando una la respuesta excitatoria y la otra inhibitoria respectivamente, mediante neurotransmisores de glutamato (Ramage-Healey y col., 2008) (Figura 3).



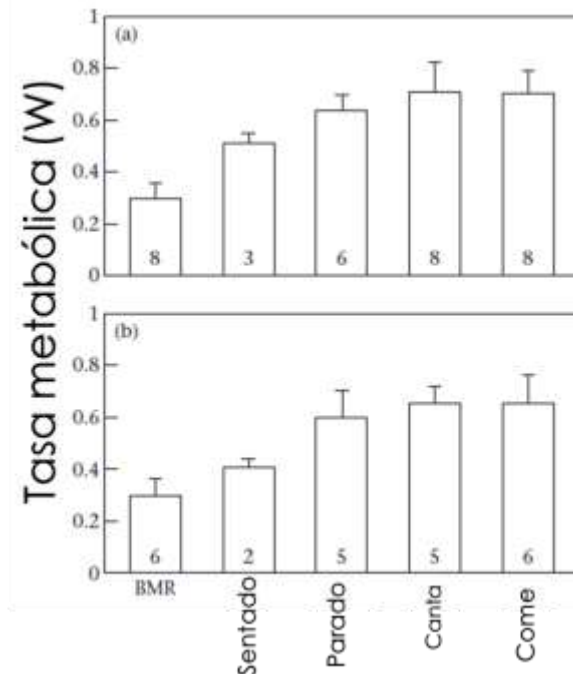
**Figura 2.** Respuesta hormonal (concentración de testosterona) de *Z. capensis* al *playback* interespecífico: *C. inornata* e intraespecífico: *Z. capensis*. El control pasivo representa la concentración de testosterona en plasma de 35 aves capturadas al azar sin ser atraídas con *playback*. Modificado de Moore y col. (2004).



**Figura 3.** Respuesta hormonal (Estradiol y Testosterona) de *T. guttata* ante los *playbacks*: Canción del macho, sonido de colonia, llamada de la hembra y ruido blanco. Tomado de Remage-Healey y col. (2008).

En el campo neuronal, Bass y col. (2016) establecieron que la región auditiva del cerebro de las aves, está controlada por neuromoduladores de estrógeno de rápida acción. El control perceptivo es tan fino, que existe una distinción entre los playback intra e interespecíficos, siendo estos últimos los más lentos en ser procesados y respondidos (Bass y col., 2016).

Dentro de la bioenergética, los estudios más cercanos a la percepción y respuesta fisiológica de playback, han sido aquellos cuyo objetivo ha sido buscar si el canto es metabólicamente costoso, o en su defecto, determinar el gasto metabólico asociado al mismo. Por un lado, varios investigadores han concluido que no lo es, puesto que el consumo asociado a estar parado o comiendo (ambas actividades realizadas en la misma posición que cantar) no es significativamente diferente, por lo que la presión selectiva ligada a la vocalización podría venir de otra fuente, que afirman se trata del contexto donde el ave esté viviendo en dicho instante, o del estímulo al que la misma esté sometida (Zoolinger y col., 2011; Ward y col., 2003; McGregor, 2000) (Figura 4). Por otro lado, se ha concluido que sí lo es, puesto que cada vocalización está asociada a un consumo de oxígeno significativamente alto, y a su vez a un despliegue, es decir una serie de movimientos corporales de gran magnitud y gasto energético (Oberweger y Goller, 2001; Eberhardt, 1994). Otros estudios han concluido que el repertorio de cada ave es directamente proporcional a la tasa metabólica de campo, por lo que a mayor número de canciones el organismo pueda generar, mayor será el costo energético asociado (Garamszegui y col., 2006). A pesar de los diferentes enfoques, todos estos estudios comparten la utilización del *playback* como estímulo base, para la generación del canto en cada una de las especies trabajadas.



**Figura 4.** Tasa metabólica asociada a varias actividades de *Serinus canaria* comparada con su tasa metabólica basal (BMR). Se observa que no hay diferencia significativa entre la tasa asociada a cantar, comer y estar parado, por lo que, al ser estas actividades realizadas en la misma posición, se estableció que al cantar no está asociado un consumo de oxígeno significativamente alto. Modificado de Ward y col (2002).

El presente trabajo es de carácter exploratorio, al ser el estudio de la relación entre el metabolismo energético (medido mediante el consumo de oxígeno) y la percepción del canto, algo novedoso. Nos basaremos en que cada *playback* genera una respuesta y que la misma es diferente al variar del tipo de *playback*, patrón observado en las referencias arriba expuestas. Mediremos el consumo de oxígeno ante varios tipos de *playback* y buscaremos la existencia de variaciones entre las respuestas a cada *playback*, por medio de la comparación con el consumo de oxígeno obtenido en los intervalos anteriores y posteriores a la medición de interés.

## **Objetivo general**

Evaluar si la tasa de consumo de oxígeno de *Zonotrichia capensis* varía en función de la exposición a distintos playback, tanto intra como inter-específicos.

## **Objetivos específicos**

- Evaluar las variaciones de la tasa metabólica de *Zonotrichia capensis*, respecto a los *playbacks* intra e interespecíficos.
- Determinar si la existencia de variaciones del consumo de oxígeno de *Zonotrichia capensis* asociadas a los *playbacks* intra e interespecíficos, se mantienen posterior a cada uno de los tratamientos en donde son aplicados.

## Metodología

### Área de estudio

El trabajo de investigación fue realizado en el Centro de Ecología del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas ( $10^{\circ}23'56.4''N$   $66^{\circ}58'44.9''O$ ) Estado Miranda, a 1750 m s.n.m. Las capturas fueron realizadas al frente del Centro de Ecología (sitio de captura 1) y en las inmediaciones de los centros de Matemática e ingeniería del IVIC (sitio de captura 2) (Figura 5). Los sitios de captura, separados por una distancia de 960 m, se caracterizan por ser laderas con pendiente pronunciada, cuya vegetación predominante son las herbáceas, algunas dicotiledóneas de bajo porte y un número reducido de árboles.



**Figura 5.** Ubicación del área de estudio a) Mapa de Venezuela. La marca roja representa la ubicación a menor escala del área de trabajo. b) Vista satelital del área de estudio. Las estrellas marcan los lugares donde se capturaron a las aves: amarillo (Sitio 1), rojo (sitio 2). Las líneas marcan la ubicación y distribución de las mallas: amarillo (Sitio 1) y rojo (Sitio 2).



## Captura y mantenimiento de las aves

Para la captura de las aves se utilizaron diez redes de neblina (8 de 6 m y 2 de 12 m de longitud, siendo todas de 2,5 m de altura, 20 mm de ancho de la apertura de la malla), distribuidas en los dos sitios de captura, paralelamente a la calle en el sitio 2 (2 redes de 12 y 2 de 6 metros de longitud), y en “v” en el sitio 1 (6 redes de 6 metros de longitud) (Figura 5). Las redes de neblina fueron colocadas y abiertas dos semanas consecutivas de cada mes, desde las 7:00 hasta las 16:00 horas, o hasta obtener el número de aves deseado por semana (5 aves por semana). Las otras dos semanas restantes de cada mes, fueron invertidas en el monitoreo del cautiverio de las aves anteriormente capturadas. No se discriminó entre sexos, pero sí entre edades, al existir variaciones metabólicas entre los adultos y juveniles, al invertir estos últimos más energía en la generación de tejidos (Weathers y Sullivan, 1989; Biro y Stamps, 2010), y además, para garantizar que el desarrollo neuronal y vocal esté completo y exista una adecuada percepción del estímulo. Por esta razón sólo se capturaron individuos adultos, los juveniles y demás edades de la especie no fueron utilizados. Debido a la alta variabilidad individual existente a nivel metabólico asociada al peso y considerando las condiciones de medición respirométrica (Bennettand y Harvey, 1987), se trató de obtener un número muestral mínimo superior a los 5 individuos en total. Cada ave capturada fue marcada con anillos de colores de marca Avinet® y anillos de metal rotulados.

Se capturaron 10 individuos adultos de *Zonotrichia capensis* entre enero y marzo de 2017. Cada ave fue pesada por medio de una balanza de precisión marca OHAUS® de capacidad 2 kg y apreciación 0,01 g, para determinar el peso inicial y poder hacer

seguimiento a las variaciones de peso durante el cautiverio. Además, se midió la temperatura cloacal del ave, a través de una termocupla tipo K, para tener una referencia inicial, antes y después de que el ave fuese medida en cada experimento. Esta medición fue realizada ya que la temperatura interna promedio de las aves oscila entre 39 y 40 grados, por lo que variaciones de más de dos grados centígrados implican problemas de salud, mal estado o sobreactividad (Prinzinger y col., 1991). Por esta razón todas aquellas aves capturadas que presentasen temperaturas menores a 39 grados a la hora de la medición experimental, no fueron consideradas.

Finalmente, las aves fueron mantenidas en una jaula de metal (40x50x150 cm) con agua y alimento (pajarina de marca Kantal® mezclada con alpiste) *ad libitum*, en un cuarto iluminado con luz natural. Cada ave se mantuvo entre 7 y 9 días en aclimatación para reducir el estrés por manejo y manipulación (Mata y Bosque, 2004) antes de iniciar los experimentos. Este período fue escogido, por ser el mínimo necesario para reducir al máximo posible el estrés y variaciones en la temperatura interna, que puedan afectar a las medidas metabólicas (Doss y Mans, 2016; Dickens y col., 2009). Luego de la aclimatación y de la realización de los experimentos, las aves fueron liberadas en el mismo sitio de captura.

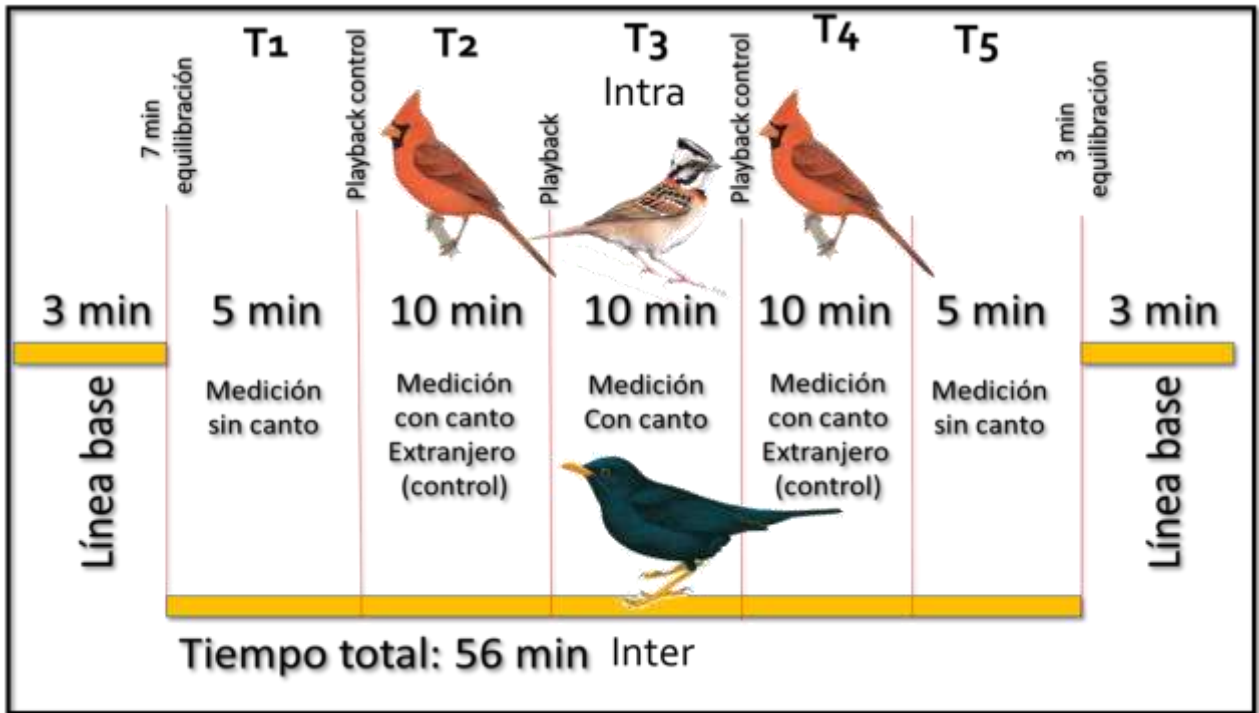
## Diseño experimental

El diseño consistió en dos experimentos diferentes, uno utilizando la llamada de *Zonotrichia capensis* como *playback* de interés, que denominamos experimento intraespecífico, y otro utilizando la canción reproductiva de *Turdus serranus*, que denominamos experimento interespecífico (Figura 6). El esquema utilizado, buscó determinar las variaciones en el consumo de oxígeno por el *playback* respecto al consumo sin estímulo, y además, determinar si el posible efecto del *playback* era prolongado, siguiendo lo establecido en la literatura (Perone, 1991).

Cada experimento consistió de cinco tratamientos: medición del consumo de oxígeno en silencio antes (T1), medición del consumo de oxígeno con canto control antes (T2), medición del consumo de oxígeno con canto de interés (*Z. capensis* o *T. serranus*) (T3), medición del consumo de oxígeno con canto control después (T4) y medición del consumo de oxígeno sin canto después (T5), dos líneas bases (de 3 minutos cada una, para igualar a cero el consumo de oxígeno al medir el porcentaje de oxígeno ambiental) y dos períodos de equilibrio, el primero, para lavar las concentraciones de dióxido de carbono presentes en la cámara metabólica, evitando que la misma le introduzca ruido a la media, y el segundo para que el instrumento llegue a consumo cero sin ruido de la medición anterior (Figura 6). La medición del consumo de oxígeno en silencio, fue realizada para tener una referencia del consumo de oxígeno en reposo de cada individuo, sin agregar estímulos más allá de la manipulación previa. La medición del consumo de oxígeno con *playback* de *Cardinalis cardinalis*, para determinar si al aplicarle un estímulo con el cual *Zonotrichia capensis* no está familiarizado, este fungiría como un estímulo neutro y por ende no respondería. La

medición del consumo de oxígeno con *playback* de *Zonotrichia capensis*, para determinar si existía una variación en la tasa de consumo de oxígeno respecto al tratamiento sin canto luego de percibir un canto conoespecífico. Finalmente, la medición del consumo de oxígeno con *playback* de *Turdus serranus*, para determinar si existe variación en la tasa de consumo de oxígeno respecto a la existente en reposo y a lo obtenido al percibir el canto intraespecífico, al someter al objeto de estudio a otro organismo, que sí comparte el mismo hábitat, sí se distribuye en el área de estudio y que además escucha regularmente. Los tratamientos sin canto y *playback* control fueron realizados dos veces, antes del *playback* de interés y después, para determinar si el efecto del estímulo a probar fue prolongado, y además, si la experiencia sonora previa afectó la respuesta ante el estímulo sonoro actual.

Cada tratamiento tuvo una duración de 10 minutos (con excepción de los tratamientos sin canto antes y después, para reducir al máximo el tiempo de medida), el instrumento tomó muestras de oxígeno cada cinco segundos. El tiempo de medición del consumo de oxígeno fue de 5 a 10 minutos, para el cálculo de la tasa metabólica de reposo (RMR, por sus siglas en inglés), por presentar menor variación de los datos en función del tiempo (Chappel y col., 2007).



**Figura 6.** Esquema de la medición del consumo de oxígeno de *Z. capensis* ante tres estímulos de *playback* distintos, en dos experimentos intraespecífico (arriba) e interespecífico (abajo).

## Selección y reproducción del canto

Se utilizaron cantos de *Cardinalis cardinalis*, *Zonotrichia capensis* y *Turdus serranus*, extraídos de la base de datos de libre acceso Xeno-canto© (Planqué y col., 2016. [www.xeno-canto.org](http://www.xeno-canto.org)), específicamente canción reproductiva de *Cardinalis cardinalis*, llamada de contacto de *Zonotrichia capensis* y canción reproductiva de *Turdus serranus*. Se utilizó llamada de *Z. capensis*, por ser esta una llamada de contacto o alarma, que los individuos estudiados podrían reconocer, que no estuviese asociada a la temporada reproductiva y que ambos sexos generasen (evitando así necesariamente discriminar a los individuos por sexo). Se utilizó la canción reproductiva de *T. serranus*, por ser una vocalización presente en el ambiente sonoro de *Z. capensis*, ser muy virtuosa (aumentando así las probabilidades de que exista una gran gama de grabaciones en Xeno-canto©) y por no ser una vocalización ampliamente reconocida entre las especies de aves, como lo son las llamadas de alarma (Goodale y Kotagama, 2008). Se utilizó a la canción reproductiva de *C. cardinalis*, una especie que no comparte hábitat, hábitos alimenticios ni intervalo de distribución con *Z. capensis*, porque no forma parte del ambiente sonoro de *Z. capensis*, porque hay gran cantidad de registros de buena calidad en Xeno-canto© y al igual que con la canción de *T. serranus* porque no es reconocida como una señal compartida entre varias especies.

De estos cantos, se seleccionaron aquellos que presentaban la mayor calidad posible (un valor que dicha base de datos evalúa en una escala de la A a la E), evitando seleccionar grabaciones que presentasen vocalizaciones de otras aves circundantes. Dentro de los cantos seleccionados para cada especie, se buscaron aquellos que

tuviesen la misma estructura, es decir, frecuencias similares, cantidad de sílabas (duración de canto) y la misma calidad.

Para los tratamientos intra e interespecíficos, se utilizaron registros de *Z. capensis* y *T. serranus* que hubiesen sido grabados en Venezuela. Buscando que éstos fuesen los más cercanos al área de estudio para evitar, lo más posible, la variación geográfica del canto, que puede influir en el reconocimiento del mismo (Reed, 1982).

Se obtuvo un total de 10 cantos diferentes para cada una de las especies a utilizar. Esto fue realizado debido a que en los trabajos de *playback*, se establece que cada especie debe escuchar un *playback* proveniente de un individuo diferente, evitando así que las respuestas específicas que el organismo diana o receptor genere, sean por el canto específico del individuo y no por la respuesta general ante un patrón (McGregor, 2000). Posteriormente, utilizando el programa de software libre Audacity® (Mazzoni y Dannenberg, 2002), se normalizaron las intensidades de los cantos (haciendo que los máximos de intensidad de todos los cantos fuesen los mismos) para evitar efectos por diferencias en la intensidad entre los estímulos y así garantizar que la homogeneidad entre los estímulos aplicados, llevara a que las posibles respuestas fuesen al canto en general y no, a una variación particular de la intensidad.

Una vez seleccionados, se le asignó a cada grupo de registros (uno por cada especie) un número del uno al diez y se generó una tabla de números aleatorios dividida en dos grupos, uno por cada experimento. Dentro de la columna de cada canto, se seleccionaron aleatoriamente los números asociados a los diez registros de cada uno, aleatorizando así el esquema de cantos aplicado a cada individuo.

Para la reproducción del canto se introdujo dentro de la cava de temperatura controlada (ver diseño experimental) un altavoz portátil de marca Genius© modelo *spi 160*, en frente de la cámara metabólica y se conectó a una computadora marca Sony Vaio. Posteriormente, se estimó la intensidad en decibeles (dB) de los cantos emitidos por la corneta, a diferentes volúmenes desde la computadora, utilizando un grabador digital marca Sony y su pantalla de registro de la intensidad del sonido, para posteriormente ajustarla a la intensidad de las vocalizaciones percibidas naturalmente a 5 metros del receptor.

De los registros seleccionados se reprodujeron trenes de canto (intervalos continuos de emisión de vocalizaciones), dentro de los tratamientos establecidos (Figura 6). Los trenes de canto estuvieron conformados por 10 cantos separados por 20 segundos cada uno. Se buscó, con esto, simular los patrones naturales de emisión de las canciones de *Zonotrichia capensis* (30 canciones separadas por 2 a 5 minutos); sin embargo, se redujo el número de canciones de 30 por tren como hasta ahora se ha descrito en la literatura, a 10 separados por 20 segundos, para que se ajustase a los tiempos de medida dentro del diseño establecido (Notenbohn, 1969; Reed, 1982). Se intercaló cada tren de canto con silencios de dos minutos, asemejando así el canto de *Zonotrichia capensis*, el cual generalmente consta de dos trenes de quince canciones cada uno, separados por intervalos de dos a cinco minutos (Notenbohn, 1969; Reed, 1982), resultando en un total de dos trenes de canto con sus respectivos dos minutos de silencio sucesivo, por tratamiento (T2, T3 o T4). Se buscó evitar la habituación, proceso que puede ser bastante rápido (Krebs, 1976), al no tratarse de *playback* dinámico, es decir un estímulo cambiante (usualmente generado por computadora)



según la respuesta del animal o algún otro criterio, sino fijo (McGregor, 2000; Kroodsma, 1986); para ello se aleatorizaron los *playbacks* dentro de cada experimento y se separó temporalmente la medición de cada experimento, habiendo de dos a tres días de por medio entre cada uno, quedando así una semana de medición de cada ave.

## **Medición de la tasa de consumo de oxígeno**

Por observaciones propias de experimentos anteriores y lo reportado en la literatura, mientras mayor sea el estrés del organismo medido, mayor es la pérdida de peso por excreción y aumento de temperatura (Careau y col., 2008). Para controlar el posible efecto que el mismo tuvo sobre cada ave, se midió el peso corporal y temperatura antes y después del experimento.

Posteriormente, cada ave se colocó dentro de una jaula de metal. La jaula se colocó dentro de una cámara metabólica de 600 mL sellada con grasa de vacío herméticamente y con válvulas de entrada y salida de aire. La cámara, a su vez, se colocó dentro de una cava (Sable Systems International), aislada del medio externo y con una tapa de plexiglás, que permitió el paso de la luz. Además, ésta fue conectada a un MULTIPLEXER (Sable Systems International), y a su vez, a un respirómetro modelo FoxBox (Sable Systems International) con un analizador de oxígeno, según la metodología establecida en estudios previos realizados en el laboratorio (Mata y Bosque, 2004; Mata, 2010) (Figura 7).

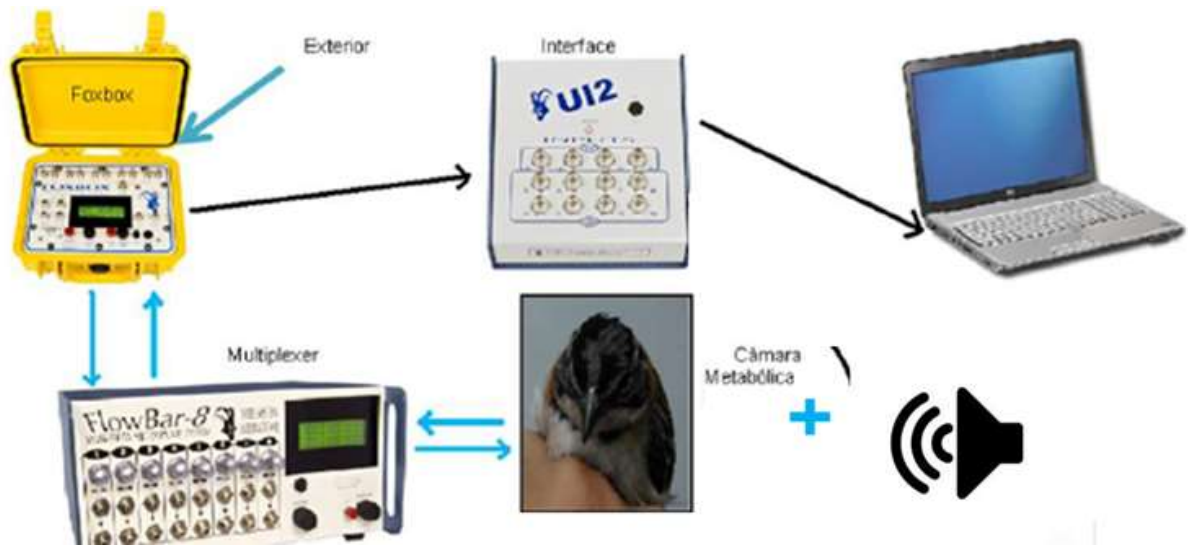
El FoxBox (respirómetro) cuenta con una bomba de aire interna que durante la medición de cada ave, mantuvo un flujo constante de 400 mL/min para las medidas metabólicas y una concentración de oxígeno de 20,95%. Sin embargo, la cámara fue conectada a otra bomba de aire (externa) que le proporcionó un flujo constante, para evitar la asfixia del ave cuando el respirómetro estuviera midiendo la concentración de oxígeno externa; es decir, que estuviera determinando la línea base, y por ende, no estuviese bombeando aire a la cámara. El FoxBox fue conectado adicionalmente a una

unidad de digitalización UI-2 (Sable Systems International), que permitió transformar los datos analógicos en digitales. El aire fue tomado del exterior del laboratorio mediante un tubo y filtrado con Drierita y Soda Lime, para reducir a cero el vapor de agua y el CO<sub>2</sub>, respectivamente. El flujo de aire fue del exterior al FoxBox y luego al Multiplexer, respectivamente (Mata y Bosque, 2004; Mata, 2010).

El respirómetro fue programado para tomar una muestra de aire cada 5 segundos, por lo que en total se tomaron 552 muestras de los gases por cada experimento. Para evitar la sobre estimulación de las aves, se separó la realización de cada experimento por un período de dos a tres días.

Se midió cada ave dentro de la fase activa de su ciclo diario, que para *Zonotrichia capensis* es desde las seis de la mañana hasta las seis de la tarde. Todas las mediciones fueron realizadas a 25°C, temperatura que fue determinada en el laboratorio como parte de la zona termoneutral de la especie (establecida entre 24° y 27°C).

El período de cautiverio de cada ave tuvo una duración de dos semanas. Una semana de cautiverio previa a la medición y una semana para realizar los experimentos, siendo un experimento por día, separado por dos o tres días: un día para el experimento con *Turdus* y un día para el experimento con la llamada de *Zonotrichia*.



**Figura 7.** Montaje instrumental para la medición del consumo de oxígeno de *Z. capensis* al aplicarle distintos *playbacks*. Modificado de Farías (2014).

## Extracción de datos

A partir de los datos asociados a la variable consumo de oxígeno, se extrajeron la totalidad de las muestras de oxígeno (552 muestras por individuo por experimento), convirtiéndolas desde % de oxígeno (lo que mide el instrumento) hasta mL de oxígeno consumidos, por medio del programa EXPEDATA (Sable Systems International). Usando este mismo programa, se integró el consumo de oxígeno en función del tiempo por tratamiento. Posteriormente, se dividió la magnitud obtenida entre el tiempo y el peso del ave, obteniendo una tasa de consumo de oxígeno ( $\frac{mL O_2}{min.g}$ ) por cada tratamiento del experimento. Integramos los datos, a diferencia de otras metodologías (Mata y Bosque, 2004; Mata, 2010), para evitar que los valores máximos de consumo (dados por las posibles respuestas ante los estímulos aplicados), no fuesen tomados en cuenta y por ende la medida fuese subestimada.

A pesar que la unidad más usadas dentro de la respirometría para el consumo de oxígeno, es  $\frac{mL O_2}{h.g}$  (Novoa y col., 1990; Castro y col., 1995; Mata y Bosque, 2004; McNab, 2005; Mata, 2010; Zoolinger y col., 2011), dentro de la presente investigación la unidad seleccionada fue  $\frac{mL O_2}{min.g}$ , puesto que los estímulos que fueron aplicados estuvieron en el orden de los minutos, por lo que cualquier tasa metabólica determinada no representaría lo consumido en una hora, sino lo ocurrido durante el tratamiento en cuestión.

Una vez obtenidos todos los datos de consumo de oxígeno por individuo, se compararon con los datos del peso y la temperatura, eliminando aquellos valores en donde la temperatura interna inicial (aquella medida antes de realizar los tratamientos),

fuese menor a 39°C. Esto se realizó, para evitar que la posible baja en las condiciones de salud del individuo (Prinzinger y col., 1991) fuese a agregarle ruido a la medida. Para graficar lo obtenido, utilizamos el paquete ggplot2 (Wickham, 2009).

## **Análisis estadísticos**

Se comprobó la homogeneidad de varianza y la normalidad de los datos por medio del paquete estadístico de libre acceso PAST 3 (Hammer, Harper y Ryan, 2001). Posteriormente, se realizó una prueba ANCOVA de dos factores fijos (Experimento y Tratamiento), un factor aleatorio (Individuos) anidado y una covariable (variación entre el peso de captura y el peso inicial del experimento interespecífico), utilizando el programa de libre acceso R (Grupo de desarrolladores de R, 2008). Se realizó un ANCOVA de ese tipo, y además, se agregó el factor aleatorio anidado “individuos”, para reducir el posible efecto de la variabilidad individual en la medida.

Se utilizó la variación de peso como cofactor de la ANCOVA. La variación de peso fue tomada entre el peso de captura y el peso tomado antes de realizar el experimento interespecífico, puesto que se consideró al experimento inter como el momento en que inició el período experimental. Esto se hizo para reducir el efecto en la medida, que podría generar que cada individuo tuviese variaciones de peso distintas asociadas al período de cautiverio anterior, al ser el peso un estimador del estrés (Careau y col., 2008).

## Resultados

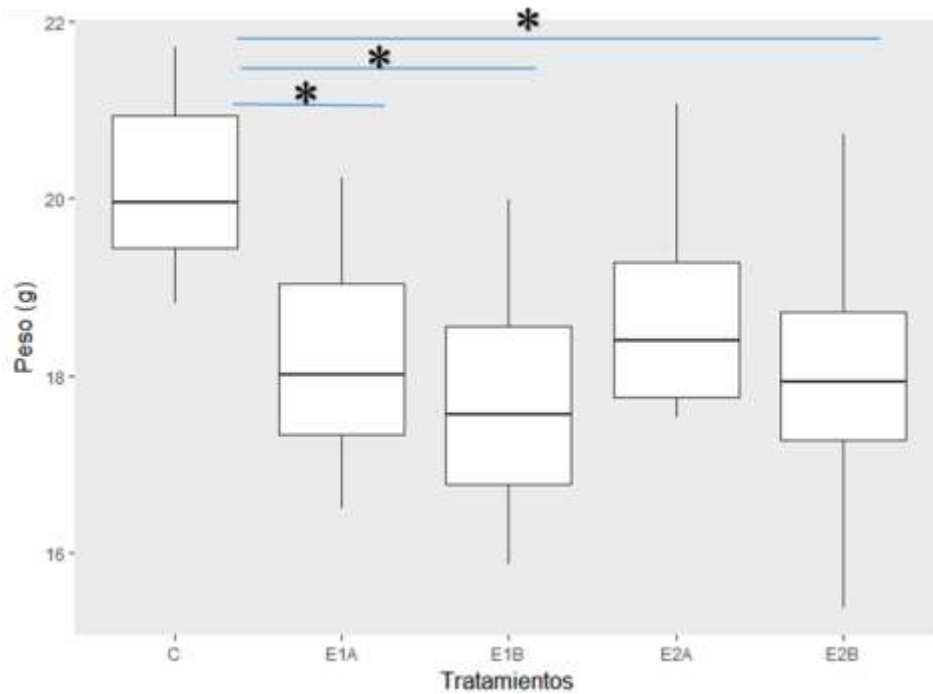
El consumo de oxígeno de *Z. capensis* varió entre 0,03 y 0,16 mL de oxígeno por minuto por gramo (Tabla 1). No se observó una respuesta general ante cualquiera de los dos experimentos realizados (Figura 9 y 10), ni un aumento en el consumo de oxígeno, entre los experimentos.

**Tabla 1.** Consumo de oxígeno ( $\frac{mL O_2}{min.g}$ ) y peso (g) de los *Z. capensis* medidos, en los dos experimentos realizados. T1= Tratamiento sin canto antes, T2= Tratamiento canto control, T3= Tratamiento canto de interés, T4= Tratamiento canto control, T5= Tratamiento sin canto después.

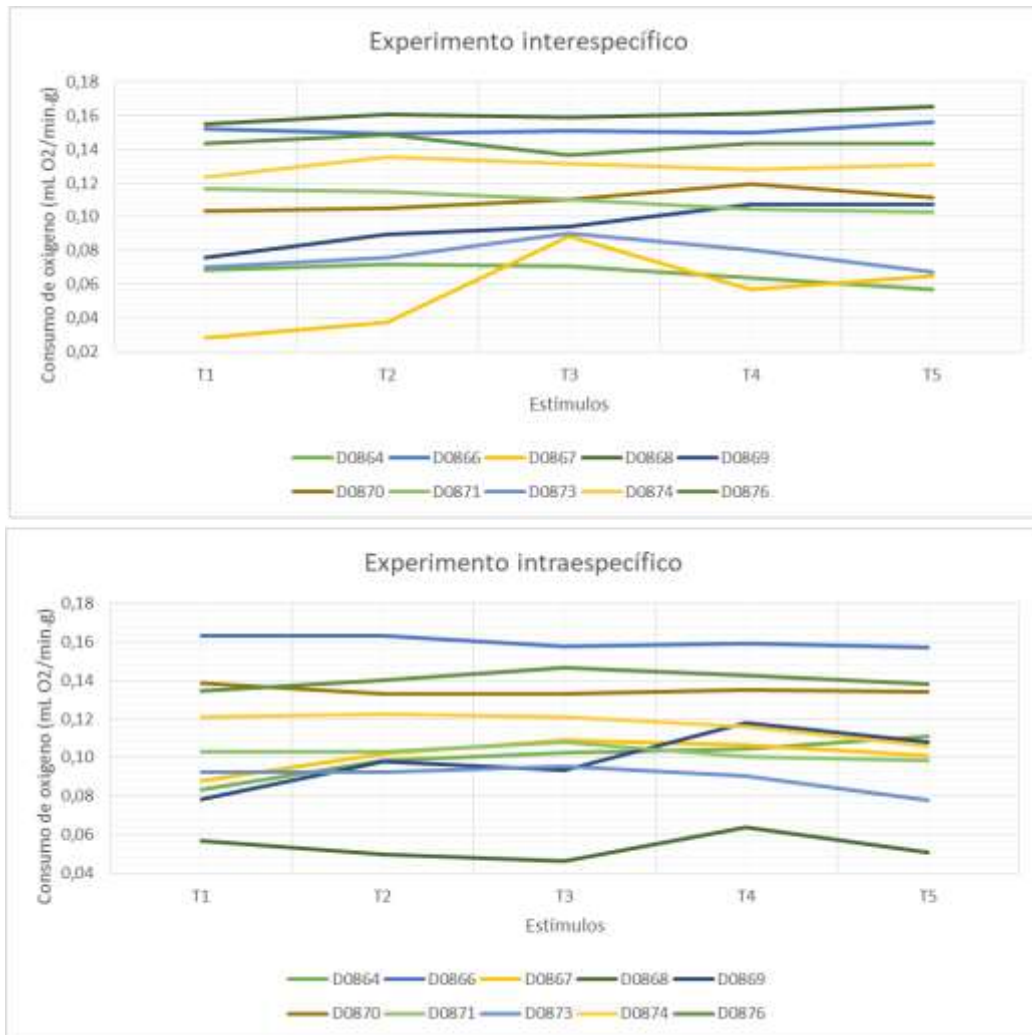
Individuo	Peso	Inter					Intra					
		T1	T2	T3	T4	T5	Peso	T1	T2	T3	T4	T5
D0864	20,23	0,07	0,07	0,07	0,06	0,06	21,07	0,08	0,10	0,10	0,10	0,11
D0866	16,50	0,15	0,15	0,15	0,15	0,16	17,53	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16
D0867	18,52	0,03	0,04	0,09	0,06	0,07	17,73	0,09	0,10	0,11	0,11	0,10
D0868	17,47	0,16	0,16	0,16	0,16	0,17	17,81	0,06	0,05	0,05	0,06	0,05
D0869	17,30	0,08	0,09	0,09	0,11	0,11	19,54	0,08	0,10	0,09	0,12	0,11
D0870	16,56	0,10	0,11	0,11	0,12	0,11	18,82	0,14	0,13	0,13	0,13	0,13
D0871	18,88	0,12	0,12	0,11	0,10	0,10	17,96	0,10	0,10	0,11	0,10	0,10
D0873	19,19	0,07	0,08	0,09	0,08	0,07	18,88	0,09	0,09	0,10	0,09	0,08
D0874	19,10	0,12	0,14	0,13	0,13	0,13	19,41	0,12	0,12	0,12	0,12	0,11
D0876	17,51	0,14	0,15	0,14	0,14	0,14	17,74	0,13	0,14	0,15	0,14	0,14

Se obtuvo una variación significativa entre el peso de los individuos en el experimento interespecífico e intraespecífico y el peso inicial de captura (Figura 8). Aquellos organismos cuyo consumo fue mayor ante el *playback* de interés en ambos experimentos (D0867 y D0868), fueron los que presentaron la mayor variación del peso, respecto al peso de captura (Figura 9).





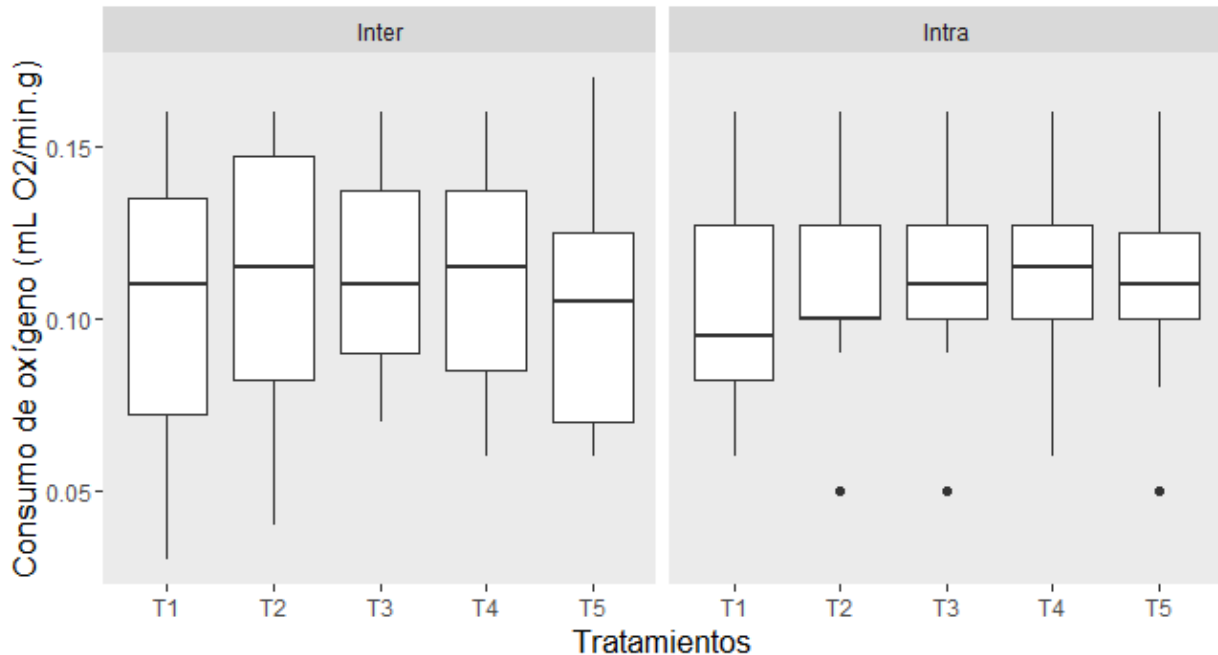
**Figura 8.** Peso de los *Z. capensis* medidos, en función de los tratamientos y la captura. C= Captura, E1A= Experimento interespecífico antes, E1B= Experimento interespecífico después, E2A= Experimento intraespecífico antes y E2B= Experimento intraespecífico después. \* Diferencia estadísticamente significativa, entre los grupos marcados. La caja representa el 50% de los datos y está delimitada por los cuartiles, la mediana (barra dentro de la caja), los bigotes que representan los valores exteriores a la caja pero menores a 1,5 veces la extensión de los cuartiles y finalmente los valores extremos que son aquellos que superan los bigotes.



**Figura 9.** Consumo de oxígeno individual de los *Z. capensis* en los experimentos interespecíficos e intraespecíficos. Cada código representa un organismo distinto.

Los datos de consumo de oxígeno se caracterizaron por ser altamente variables. El mayor grado de variación se observó a nivel individual, y más aún, no hubo repetitividad entre los valores adquiridos de cada individuo, pudiendo obtener un mismo individuo dos magnitudes distintas en un mismo tratamiento (como es el caso de D0867) (Tabla 1). A pesar de esto, presentaron distribuciones normales (Shapiro-Wilk  $p > 0,05$ ) y presentaron varianzas homogéneas (Levene  $p > 0,05$ ).

En el experimento interespecífico se observó que la variación en los datos de consumo por tratamiento fue mayor que la del experimento intraespecífico, pero esta diferencia no fue significativa (Figura 10). Existe una asimetría no significativa en la distribución de los valores del consumo estando el 50% de los datos del experimento interespecíficos más dispersos en comparación a los del experimento intraespecíficos (Figura 10). Las medianas obtenidas en el experimento interespecífico no siguieron un patrón aparente entre los tratamientos, mientras que en el experimento intraespecífico hubo un claro aumento de la mediana de los datos desde el tratamiento T1, hasta el tratamiento T4, para posteriormente disminuir en el tratamiento T5 (Figura 10). Los tres puntos extremos (outliers), presentes en el experimento intraespecífico en los tratamientos T2, T3 y T5, se trataron de un mismo individuo (D0868), cuyo consumo de oxígeno se ubicó aproximadamente en 0,05 mL de oxígeno por minuto por gramo, durante toda la realización del experimento (Figura 10).



**Figura 10.** Caja y bigotes del consumo de oxígeno de los *Z. capensis*, sometidos a los dos experimentos. La caja representa el 50% de los datos y está delimitada por los cuartiles, la mediana (barra dentro de la caja), los bigotes representan los valores exteriores a la caja pero menores a 1,5 veces la extensión de los cuartiles y finalmente los valores extremos que son aquellos que superan los bigotes.

El patrón general de los datos en donde no hubo diferencias marcadas entre los experimentos o tratamientos, coincidió con lo obtenido a nivel estadístico (Tabla 1). Entre los experimentos no hubo diferencias significativas en los valores de consumo de oxígeno de *Z. capensis* (*Ancova, factor fijo: experimento*  $F = 0,16, p = 0,69$ ). En los 5 tratamientos tampoco se obtuvieron diferencias significativas en el consumo de oxígeno de *Z. capensis* (T1 al T5) (*Ancova, factor fijo: tratamiento*  $F = 0,42, p = 0,90$ ). Sin embargo, sí se obtuvieron diferencias significativas entre el consumo de cada uno de los individuos (*Ancova, factor aleatorio anidado: individuos*  $F = 8,25, p = 2,69 \cdot 10^{-11}, n=10$ ). Por otro lado, respecto a la variación de peso se obtuvieron diferencias significativas por individuo al comparar el peso de captura y el peso inicial

del experimento interespecífico (*Ancova, covariable variación de peso*  $F = 11,39$ ,  $p = 0,001$ ). Sin embargo, la misma no afectó de manera significativa al consumo en general.

## Discusión

El consumo de oxígeno de *Zonotrichia capensis*, ante la percepción de playback intra e interespecíficos coincidió con lo reportado para la tasa metabólica en reposo de la especie de  $0,05 \text{ mL} \frac{\text{Oxígeno}}{\text{min.g}}$  (Prosser y col., 1972; Buttemer y col., 1991; Maldonado y col., 2009), y a su vez para la tasa metabólica basal calculada por medio de fórmulas alométricas y mediciones en campo (Maldonado y col., 2009; McNab, 2009; Sabat y col., 2009). Dicho consumo cumplió el rango establecido en la literatura de que la tasa metabólica en reposo tiende a representar un máximo de 1 a 10 veces más que la magnitud de la tasa metabólica basal (McNab, 2009). Además, los datos de consumo estuvieron siempre por debajo de la magnitud de la tasa metabólica máxima de la especie de  $0,271 \text{ mL} \frac{\text{Oxígeno}}{\text{min.g}}$  (Novoa y col., 1990). Es por ello que podemos afirmar con certeza, que la percepción de las vocalizaciones a la cuales fueron sometidos los *Z. capensis*, no representó estrés respirométrico o metabólico alguno, representando los mismos rangos que el consumo en reposo y sin estímulos estresantes. Dado a que no se encontró respuesta en el consumo de oxígeno significativo, no se pudo determinar el posible efecto prolongado de la aplicación de cualquiera de los playback intra e interespecíficos.

El patrón general observado donde el consumo de oxígeno fue el mismo sin importar el tipo de estímulo aplicado, difirió con el patrón general obtenido en otros estudios, en donde estímulos diferentes generaban respuestas diferentes. Esto ocurrió tanto en los estudios en la misma especie (Moore y col., 2004; Peña-Villalobos y col., 2013) como en otras (Dooling y col., 1992; De Kort y Ten Kate, 2001; Ramage-Healey y col., 2008).

Allí se observaron variaciones en la segregación hormonal, variaciones en los tiempos de latencia mínimo, en las respuestas conductuales diferentes entre dos estímulos de canto o respecto a un período anterior de silencio y variaciones metabólicas de hasta un 30% de aumento en la tasa metabólica basal de *Zonotrichia capensis*, posterior al proceso de aclimatación a una playa o medio salino (Dooling y col., 1992; De Kort y Ten Kate, 2001; Moore y col., 2004; Remage-Healey y col, 2008; Peña-Villalobos y col., 2013).

La ausencia de diferencias significativas entre los tratamientos en los que se aplicó un *playback* y los que no, puede deberse a la fuerte asociación entre la percepción de los estímulos sonoros con el contexto (ambiental, biológico o climático) (Ward y col., 2003). Por lo tanto, al no existir el contexto adecuado (i.e., estando el ave bajo condiciones de laboratorio), las etapas de la percepción establecidas por Grether (2011) pudiesen no darse completamente (no existiendo el contexto) no generando respuesta en el consumo de oxígeno. Analizando los resultados de otros trabajos (Dooling y col., 1992; De Kort y Ten Kate, 2001; Moore y col., 2004; Remage-Healey y col, 2008), pudiésemos decir que el efecto fisiológico existente es otro diferente del consumo de oxígeno. De hecho, la respuesta podría estar reflejada en la variación de concentraciones hormonales (Moore y col., 2004; Remage-Healey y Bass, 2005 y Remage-Healey y col, 2008), respuestas conductuales (Dooling y col., 1992), segregación de neuromoduladores (Bass y col., 2016) o aumento en la concentración de linfocitos en sangre (Campo y col., 2005). Adicionalmente, podría no haber tiempo suficiente para que la maquinaria metabólica cambiase de manera tal que afectara el consumo de oxígeno, siendo la respiración tan sólo una de las diferentes rutas

metabólicas existentes. Sin embargo, en el presente trabajo no podemos ni afirmarlo ni negarlo, al sólo determinar el consumo de oxígeno.

A pesar de la inexistencia de diferencias significativas entre los tratamientos o experimentos, observamos un aumento de la variabilidad no significativo de los datos del experimento interespecífico, respecto al intraespecífico (detallando el tamaño de las cajas y la homogeneidad de la longitud de los bigotes) (Figura 10). Esto ha podido deberse en parte al sesgo generado por la medición no aleatoria de los experimentos. El primer experimento realizado a cada individuo, posterior a su proceso de cautiverio, siempre fue el interespecífico y tres días después el intraespecífico. Esto posiblemente ha podido generar que los registros de consumo de oxígeno, por el estrés de la primera medición, hayan presentado una mayor variación, respecto a los generados por la segunda medición, tres días después de la primera y en la que ya presentaban cierto grado de experiencia o aprendizaje de lo que significaba la medición como tal.

La diferencia estadísticamente significativa encontrada en el consumo de oxígeno entre los individuos (Figura 9) del presente proyecto ha sido un tema ampliamente estudiado y aceptado dentro de las investigaciones de la ecofisiología animal (Versteegh y col., 2008; Biro y Stamps, 2010 y Burton y col., 2011). Muchos coinciden en que la tasa de consumo de oxígeno en reposo y la susceptibilidad ante eventos estresantes pueden variar entre individuos, habiendo para cada uno una serie de estímulos, para los que se generarán respuestas de alta eficiencia (Burton y col., 2011), como por ejemplo la percepción de la vocalización del murciélago en *Caenurgina erechtea* (Roeder, 1966). Por otro lado, existen investigaciones en las que se determinó que dicha diferencia individual a nivel metabólico, podría ser una



consecuencia de ciertas mutaciones asociados a las rutas metabólicas de las aves (Daan y col., 1990). Además, algunos autores establecen que el 52% de la variación individual en 22 especies de aves se debe al tamaño y peso del corazón, hígado y riñones (Daan y col., 1990; Biro y Stamps, 2010). E 2010).

A pesar de la existencia de diferencias individuales marcadas a nivel metabólico, a nivel poblacional existen ciertos patrones metabólicos generales, por los que se podría caracterizar el metabolismo de cada población (Versteegh y col., 2008). Estos patrones poblacionales de repetitividad, dependen tanto metabolismo individual como de la variaciones metabólicas intrínsecas en cada individuo, que pueden llegar a variar a nivel temporal por condiciones estresantes, alimentación o variables ambientales (Versteegh y col., 2008), pudiéndose entonces caracterizar a ciertas poblaciones por medio de una tasa metabólica definida. Teniendo en cuenta la naturaleza de nuestros datos, en donde no existieron diferencias entre experimentos o tratamientos, podríamos decir que sólo podríamos caracterizar las variaciones poblacionales del metabolismo de una población de *Z. capensis*. Sin embargo, al haber realizado capturas en dos sitios separados por casi un kilómetro, habría que realizar más estudios para determinar si se trata de dos poblaciones de *Z. capensis*, y por ende, caracterizar el consumo de oxígeno de las mismas a partir de los datos obtenidos a partir de los individuos capturados.

El peso de cada individuo fue significativamente menor en el experimento uno y dos, respecto al peso de captura inicial (Figura 10). Esto es una posible evidencia del efecto generado por el cautiverio en esta especie. A pesar de haber alimentado a los individuos con que se trabajó con mezclas de alpiste y comida especial para aves,

puede haber afectado la carencia de insectos dentro de su dieta regular, que por observaciones de campo hemos podido afirmar que es un componente importante en la misma. Por otro lado, el hecho que no existieran diferencias significativas entre los pesos antes y después de la realización de cada experimento, afianza lo obtenido en el consumo de oxígeno (en donde no hubo respuesta ante ningún estímulo) al ser la variación de peso corporal ser un estimador del estrés del organismo (Careau y col., 2008).

El peso como cofactor no afectó significativamente al consumo de oxígeno, no estando relacionada la variación de peso con los tratamientos o experimentos. Sin embargo, el hecho que las variaciones de peso hayan sido significativamente distintas entre individuos, afianza las diferencias de consumo de oxígeno obtenidas a nivel individual, teniendo en cuenta la relación peso-metabolismo establecida anteriormente (Daan y col., 1990; Biro y Stamps, 2010).

Este estudio ha sido el primero que buscó relacionar el consumo de oxígeno con la percepción de playback en un ave tropical. Se tomará como referencia de respuesta metabólica para la realización de futuras investigaciones dentro de la misma línea de investigación en el campo de la fisiología de la vocalización, para finalmente llegar a responder la pregunta ¿Qué es lo que varía y cómo es la variación en las aves al percibir ciertos *playbacks*?

## Conclusiones

1. No hubo variación de la tasa de consumo de oxígeno en *Z. capensis* al percibir estímulos de playback intra e interespecíficos.
2. El consumo de oxígeno a nivel individual junto con la diferencia de peso, presentaron una variabilidad alta.
3. No se pudo determinar si la respuesta ante *playbacks* intra e interespecíficos en *Z. capensis* fue prolongada, puesto que no hubo respuesta asociada al consumo de oxígeno alguna.

## Referencias

- Alcock, J. 2001. *Animal Behaviour an Evolutionary Approach*. Séptima edición. Sinauer Associates, Estados Unidos.
- Bass, A., Sisneros, J., Popper, A., y Fay, R. 2016. *Hearing and hormones*. Primera edición. Springer, EEUU.
- Bednekoff, P. A. y Houston, A. I. 1994. Avian daily foraging patterns: effects of digestive constraints and variability. *Evolutionary Ecology*, 8: 36-52.
- Bennettand, P. M. Harvey, P. H. 1987. Active and resting metabolism in birds: allometry, phylogeny and ecology. *Journal of Zoology*, **213**: 327-344.
- Biro, P. A., y Stamps, J. A. 2010. Do consistent individual differences in metabolic rate promote consistent individual differences in behavior?. *Trends in Ecology y Evolution*, **25**: 653-659.
- Boscolo, D., Metzger, J. P., y Vielliard, J. M. 2006. Efficiency of playback for assessing the occurrence of five bird species in Brazilian Atlantic Forest fragments. *Anais da academia brasileira de ciências*, **78**: 629-644.
- Brenowitz, E. A. 1981. The effect of stimulus presentation sequence on the response of red-winged blackbirds in playback studies. *The Auk*, 355-360.
- Brindley, E. L. 1991. Response of European robins to playback of song: neighbour recognition and overlapping. *Animal Behaviour*, **41**: 503-512.
- Burton, T., Killen, S. S., Armstrong, J. D., y Metcalfe, N. B. 2011. What causes intraspecific variation in resting metabolic rate and what are its ecological consequences?. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, **278**: 3465-3473.

- Busch, D. S., y Wingfield, J. C. 2004. Territorial aggression of a tropical passerine, *Zonotrichia capensis*, in response to a variety of conspecific intruders. *Behaviour*, **141**: 1173-1188.
- Buttemer, W. A., Astheimer, L. B., y Wingfield, J. C. 1991. The effect of corticosterone on standard metabolic rates of small passerine birds. *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology* **161**: 427-431.
- Campo, J. L., Gil, M. G., y Davila, S. G. 2005. Effects of specific noise and music stimuli on stress and fear levels of laying hens of several breeds. *Applied Animal Behaviour Science*, **91**: 75-84.
- Careau, V., Thomas, D., Humphries, M. M., y Réale, D. 2008. Energy metabolism and animal personality. *Oikos*, **117**: 641-653.
- Castro, G., Carey, C., Whittombury, J., y Monge, C. 1985. Comparative responses of sea level and montane rufous-collared sparrows, *Zonotrichia capensis*, to hypoxia and cold. *Comparative Biochemistry and Physiology Parte A: Physiology*, **82**: 847-850.
- Clay, Z., Smith, C. L., y Blumstein, D. T. 2012. Food-associated vocalizations in mammals and birds: what do these calls really mean? *Animal Behaviour*, **83**: 323-330.
- Daan, S., y Aschoff, J. 1975. Circadian rhythms of locomotor activity in captive birds and mammals: their variations with season and latitude. *Oecologia*, **18**: 269-316.
- Eberhardt, L. S. 1994. Oxygen consumption during singing by male Carolina wrens (*Thryothorus ludovicianus*). *The Auk*, **111**:124-130.

- Daan, S., Masman, D., y Groenewold, A. 1990. Avian basal metabolic rates: their association with body composition and energy expenditure in nature. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, **259**: R333-R340.
- De Kort, S. R., y ten Cate, C. 2001. Response to interspecific vocalizations is affected by degree of phylogenetic relatedness in *Streptopelia* doves. *Animal Behaviour*, **61**: 239-247.
- Deecke, V. B. 2006. Studying marine mammal cognition in the wild: a review of four decades of playback experiments. *Aquatic mammals*, **32**: 461.
- Dickens, M., Earle, K., y Romero, M. 2009. Initial transference of wild birds to captivity alters stress physiology. *General and Comparative Endocrinology*, **160**: 76–83.
- Dooling, R. J., Brown, S. D., Klump, G. M., y Okanoya, K. 1992. Auditory perception of conspecific and heterospecific vocalizations in birds: evidence for special processes. *Journal of Comparative Psychology*, **106**: 20.
- Doss, G., Mans, C. 2016. Changes in Physiologic Parameters and Effects of Hooding in Red-tailed Hawks (*Buteo jamaicensis*) During Manual Restraint. *Journal of Avian Medicine and Surgery*, **30**: 127–132
- Emlen, S. T. (1972). An experimental analysis of the parameters of bird song eliciting species recognition. *Behaviour*, **41**: 130-171.
- Farias, L. 2014. Efecto de la temperatura ambiental y de las reservas corporales sobre la tasa de pérdida de masa corporal nocturna de *Zonotrichia capensis* (Passeriformes: Emberizidae). Tesis de Licenciatura. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.
- Garamszegui, L., Moreno, J., y Pape, A. 2006. Avian song complexity is associated with high field metabolic rate. *Evolutionary Ecology Research*, **8**: 75–90

- Gibson, J. J. 1962. The survival value of sensory perception. Biological prototypes and synthetic systems 230-232. Springer, EEUU
- Goodale, E., y Kotagama, S. W. 2008. Response to conspecific and heterospecific alarm calls in mixed-species bird flocks of a Sri Lankan rainforest. Behavioral Ecology, **19**: 887-894.
- Grether, G. F. 2011. The neuroecology of competitor recognition. Integrative and comparative biology, **51**: 807-818.
- H. Wickham. 2009. ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. Springer-Verlag New York.
- Hammer, Ø., Harper, D. A. T. y Ryan, P. D. 2001. PAST-palaeontological statistics, ver. 1.89. Palaeontologia electronica, **4**
- Hartmann, M. T., Giasson, L. O., Hartmann, P. A., y Haddad, C. F. 2005. Visual communication in Brazilian species of anurans from the Atlantic forest. Journal of Natural History, **39**: 1675-1685.
- Hilty, S. 2003. Birds of Venezuela. Segunda Edición, Princeton University Press, Nueva Jersey, EEUU.
- Hoelzel, A. 1986. Song characteristics and response to playback of male and female robins *Erithacus rubecula*. Ibis, **128**: 115-127
- Krebs, J. R. 1976. Habituation and song repertoires in the great tit. Behavioral Ecology and Sociobiology, **1**: 215-227.
- Kroodsma, D. E. 1986. Design of song playback experiments. The Auk, **103**: 640-642.
- Maldonado, K. E., Cavieres, G., Veloso, C., Canals, M., y Sabat, P. 2009. Physiological responses in rufous-collared sparrows to thermal acclimation and seasonal acclimatization. Journal of Comparative Physiology B, **179**: 335-343.

- Mata, A., y Bosque, C. 2004. Sugar preferences, absorption efficiency and water influx in a Neotropical nectarivorous passerine, the Bananaquit (*Coereba flaveola*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular y Integrative Physiology*, **139**: 395-404.
- Mata, A. 2010. Metabolic rate and specific dynamic action of the Red-legged Honeycreeper, a nectar-feeding Neotropical passerine. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular y Integrative Physiology*, **157**: 291-296.
- Mazzoni, D., Dannenberg, R. B. 2002. A fast data structure for disk-based audio editing. *Computer Music Journal*, **26**: 62-76
- McArthur, P. D. 1986. Similarity of playback songs to self song as a determinant of response strength in song sparrows (*Melospiza melodia*). *Animal Behaviour*, **34**: 199-207.
- McGregor, P. K., y Falls, J. B. 1984. The response of western meadowlarks (*Sturnella neglecta*) to the playback of undegraded and degraded songs. *Canadian Journal of Zoology*, **62**: 2125-2128.
- McGregor, P. K., Catchpole, C. K., Dabelsteen, T., Falls, J. B., Fusani, L., Gerhardt, H. C., Lambrechts, M. M. y col. 1992. Design of playback experiments: the Thornbridge Hall NATO ARW consensus. En McGregor, P. *Playback and studies of animal communication* (pp. 1-9). Springer EEUU.
- McGregor, P. K. 2000. Playback experiments: design and analysis. *Acta Ethologica*, **3**: 3-8.
- McNab, B. K. 2009. Ecological factors affect the level and scaling of avian BMR. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular y Integrative Physiology*, **152**: 22-45.



- Møller, A. P. 1992. Interspecific response to playback of bird song. *Ethology*, **90**: 315-320.
- Moore, I., Wada, H., Perfito, N., Busch, D., Hahn, T., y Wingfield, J. 2004. Territoriality and testosterone in an equatorial population of rufous-collared sparrows, *Zonotrichia capensis*. *Animal Behaviour*, **67**: 411-420.
- Naya, D. E., Spangenberg, L., Naya, H., y Bozinovic, F. 2013. Thermal conductance and basal metabolic rate are part of a coordinated system for heat transfer regulation. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, **280**: 20131629.
- Novoa, F. F., Bozinovic, F., y Rosenmann, M. 1990. Maximum metabolic rate and temperature regulation in the Rufous-collared Sparrow, *Zonotrichia capensis*, from central Chile. *Comparative Biochemistry and Physiology Parte A: Physiology*, **95**: 181-183.
- Novoa, F. F., Bozinovic, F., y Rosenmann, M. 1994. Seasonal changes of thermal conductance in *Zonotrichia capensis* (Emberizidae), from central Chile: the role of plumage. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, **107**: 297-300.
- Nowicki, S., y Searcy, W. A. 2005. Song and mate choice in birds: how the development of behavior helps us understand function. *The Auk*, **122**: 1-14.
- Oberweger, K., y Goller, F. 2001. The metabolic cost of birdsong production. *Journal of Experimental Biology*, **204**: 3379-3388.
- Peña-Villalobos, I., Valdés-Ferranty, F., y Sabat, P. 2013. Osmoregulatory and metabolic costs of salt excretion in the Rufous-collared sparrow *Zonotrichia capensis*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular y Integrative Physiology*, **164**: 314-318.

- Perone, M. 1991. Experimental design in the analysis of free-operant behavior. *Experimental analysis of behavior: Parte I*: 135-172.
- Planqué, B., Pieterse, S., Willem-Pier, V. y Jongsma, J. Xeno-canto compartiendo cantos de aves en todo el mundo. [En línea] 2016 [citado el 19/6/2016 a las 19:04] disponible en: <http://www.xeno-canto.org/>
- Prinzinger, R., Pressmar, A., y Schleucher, E. 1991. Body temperature in birds. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, **99**: 499-506.
- Prosser, C.L., Brown, F., Anderson, J., Barnard, E., Campbell, J., Gilbert, L., Goldsmith, T., Hochachka, P., y Novales, R. 1973. *Comparative animal physiology*. Tercera Edición. Thomson Learning. EEUU.
- R Development Core Team. 2008. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.
- Reed, T. M. 1982. Interspecific territoriality in the chaffinch and great tit on islands and the mainland of Scotland: playback and removal experiments. *Animal Behaviour*, **30**: 171-181.
- Remage-Healey, L., Bass, A. H. 2005. Rapid elevations in both steroid hormones and vocal signaling during playback challenge: a field experiment in Gulf toadfish. *Hormones and Behavior*, **47**: 297-305.
- Remage-Healey, L., Maidment, N. T., y Schlinger, B. A. 2008. Forebrain steroid levels fluctuate rapidly during social interactions. *Nature Neuroscience*, **11**: 1327-1334.
- Rising, J., Jaramillo, A. 2017. Rufous-collared Sparrow (*Zonotrichia capensis*). En Hoyo, J., Elliott, A., Sargatal, J., Christie, D.A. y de Juana, E. (eds.). *Handbook*

of the Birds of the World Alive. Lynx Edicions, Barcelona. (Tomado de <http://www.hbw.com/node/61910> on 26 February 2017)

- Roeder, K. D. 1966. Acoustic sensitivity of the noctuid tympanic organ and its range for the cries of bats. *Journal of Insect Physiology*, **12**: 843-859.
- Sabat, P., Cavieres, G., Veloso, C., Canals, M., y Bozinovic, F. 2009. Intraspecific basal metabolic rate varies with trophic level in rufous-collared sparrows. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular y Integrative Physiology*, **154**: 502-507.
- Smith, S. 1978. The "underworld" in a territorial sparrow: adaptive strategy for floaters. *The American Naturalist*, **112**: 571-582.
- Sullivan, B. K. 1985. Male calling behavior in response to playback of conspecific advertisement calls in two bufonids. *Journal of herpetology*, **19**:78-83.
- Tauber, E., Cohen, D., Greenfield, M. D., y Pener, M. P. 2001. Duet singing and female choice in the bushcricket *Phaneroptera nana*. *Behaviour*, **138**: 411-430.
- Tubaro, P. L. 1999. Bioacústica aplicada a la sistemática, conservación y manejo de poblaciones naturales de aves. *Etología*, **7**: 19-32.
- Versteegh, M. A., Helm, B., Dingemans, N. J., y Tieleman, B. I. 2008. Repeatability and individual correlates of basal metabolic rate and total evaporative water loss in birds: a case study in European stonechats. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular y Integrative Physiology*, **150**: 452-457.
- Wada, H., Moore, I. T., Breuner, C. W., y Wingfield, J. C. 2006. Stress responses in tropical sparrows: comparing tropical and temperate *Zonotrichia*. *Physiological and Biochemical Zoology*, **79**: 784-792.

- Ward, S, Speakman, J, y Slater, P, 2003. The energy cost of song in the canary: *Serinus canaria*. *Animal Behaviour*, **66**: 893–902.
- Weathers, W. W., Sullivan, K. A. 1989. Juvenile foraging proficiency, parental effort, and avian reproductive success. *Ecological Monographs*, **59**: 223-246.
- Yack, J. E., Otero, L. D., Dawson, J. W., Surlykke, A., y Fullard, J. H. 2000. Sound production and hearing in the blue cracker butterfly *Hamadryas feronia* (Lepidoptera, Nymphalidae) from Venezuela. *Journal of Experimental Biology*, **203**: 3689-3702.
- Yager, D. D., May, M. L., y Fenton, M. B. 1990. Ultrasound-triggered, flight-gated evasive maneuvers in the praying mantis *Parasphendale agrionina*. I. Free flight. *Journal of Experimental Biology*, **152**: 17-39.
- Zoolinger, S., Goller, F., y Brumm, H. 2011. Metabolic and Respiratory Costs of Increasing Song Amplitude in Zebra Finches. *Plos One*, **6**: e23198.