

UCH-FC
MAG-B
E 775
C. 1

**EFECTO DE LA EDAD BIOLÓGICA EN LA INVERSIÓN
PARENTAL DEL RAYADITO *APHRASTURA SPINICAUDA*
(PASSERIFORME: FURNARIIDAE)**

Tesis
Entregada A La
Universidad De Chile
En Cumplimiento Parcial De Los Requisitos
Para Optar Al Grado De

Magíster en Ciencias Biológicas

Facultad De Ciencias

Por

Pamela Andrea Espíndola Hernández

Mayo, 2016



Director de Tesis Dr: Rodrigo A. Vásquez Salfate

Co-Director de Tesis Dra: Rosina Verónica Quirici Valadán

FACULTAD DE CIENCIAS

UNIVERSIDAD DE CHILE

INFORME DE APROBACION

TESIS DE MAGÍSTER

Se informa a la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias que la Tesis de Magíster presentada por la candidata:

Pamela Andrea Espíndola Hernández

Ha sido aprobada por la comisión de Evaluación de la tesis como requisito para optar al grado de Magíster en Ciencias Biológicas, en el examen de Defensa Privada de Tesis rendido el día 27 de abril, 2016.

Director de Tesis:
Dr. Rodrigo A. Vásquez Salfate



Co-Director de Tesis:
Dra. Rosina Verónica Quirici Valadán

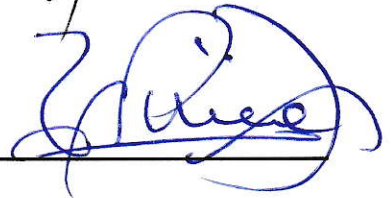


Comisión de Evaluación de la Tesis

Dr. Michel Sallaberry



Dr. Marco Tulio Núñez





AGRADECIMIENTOS

Esta tesis es el resultado del trabajo en equipo de muchas personas con las que compartí estos últimos años, de quienes estoy inmensamente agradecida por sus enseñanzas y su compañía en las diferentes dimensiones de la vida. Especialmente, le agradezco a mis profesores que guiaron todo este proceso el Dr: Rodrigo A. Vásquez S. y la Dra: Rosina Verónica Quirici V.

Las diferentes etapas de este trabajo se realizaron gracias a la colaboración de los siguientes laboratorios:

Laboratorio de Ecología Evolutiva del Comportamiento (U. de Chile)

Laboratorio de Ecología Molecular (U. de Chile)

Unidad de Ecología del Comportamiento (U. Andrés Bello)

Para la realización de esta tesis se recibió financiamiento de los siguientes fondos de investigación:

FONDECYT 11130245

FONDECYT 1140548

ICM-005-002

PFB-23-CONICYT

ÍNDICE

	Página
RESUMEN BIOGRÁFICO	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
ÍNDICE	iv
ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS	v
RESUMEN	vi
ABSTRACT	vii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. METODOLOGÍA:	
2.1 Población en estudio	10
2.2 Captura y toma de muestras	10
2.3 Sexado Molecular	11
2.4 Largo telomérico	11
2.5 Inversión parental en aprovisionamiento	13
2.6 Inversión parental en defensa del territorio	13
2.7 Análisis estadístico	14
3 RESULTADOS:	
3.1 Análisis de las variables según el Sexo.	15
3.2 Relación entre edad cronológica y largo telomérico para individuos de edad conocida.	16
3.3 Relación entre edad cronológica y largo telomérico para todos los individuos.	17
3.4 Inversión parental en aprovisionamiento	18
3.5 Inversión parental en defensa del territorio	24
4 DISCUSIÓN	
4.1 La edad biológica y la edad cronológica	26
4.2 La edad y la inversión parental en aprovisionamiento	29
4.3 La edad y la inversión parental en conducta territorial	32
5 CONCLUSIONES	34
6 BIBLIOGRAFÍA	36

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Figura	Página
1 El rayadito, <i>Aphrastura spinicauda</i> .	7
2 Largo telomérico (T/S) en función de la edad cronológica en individuos de edad conocida.	16
3 Correlación entre la edad cronológica y la edad biológica para todos los individuos	18
4 Correlación entre la edad estimada por método de Captura/Recaptura y la frecuencia de aprovisionamiento. a) Frecuencia absoluta; b) frecuencia relativa en relación con su pareja reproductiva.	21
5 Aprovisionamiento en función de la edad de los individuos, en escala logarítmica. a) Frecuencia absoluta; b) frecuencia relativa en relación con su pareja reproductiva.	22
6 Aprovisionamiento en función de la edad biológica de los individuos	23
7 Correlación entre la edad de los padres estimada a través del método de captura-recaptura y el peso promedio de la nidada.	23
8 Peso de los pollos de cada nidada en relación a la frecuencia de aprovisionamiento total de presas al nido.	24
9 Ejemplo de territorios de macho y hembra de una caja-nido.	25
10 Posición sugerida de la cámara con respecto a la caja-nido	31

Tabla	Página
1. Valores medios de cada variable con su desviación estándar	15
2. Valores medio del largo telomérico y desviación estándar	16

RESUMEN

La inversión parental incluye todos los costos de tiempo y/o energía que los progenitores invierten en maximizar la viabilidad de su descendencia. La magnitud de esta inversión puede variar durante la ontogenia, debido al compromiso entre el valor reproductivo presente y el valor reproductivo residual. Según este concepto, los individuos de mayor edad invertirían más en reproducción, ya que la probabilidad de que puedan realizar nuevos eventos reproductivos es menor, en relación a individuos más jóvenes. En el presente estudio, se evaluó la relación la edad (cronológica y biológica, basada en el largo telomérico) y la inversión parental (defensa de territorio y aprovisionamiento) en el rayadito, *Aphrastura spinicauda*.

Se encontró, que los individuos de mayor edad cronológica presentan un menor largo telomérico (Correlación de Spearman = -0,56; $p = 0,016$; $n=18$) y que presentan una frecuencia de aprovisionamiento menor, es decir invierten menos en aprovisionamiento (Correlación Spearman = -0,7; $p = 0,01$; $n=12$). En cuanto a la inversión en conducta territorial, se encontró que los rayaditos defienden territorios cercanos a su nido con un radio de aproximadamente 40 m y no se encontró asociación con la edad ni el sexo de los individuos.

Los hijos de los individuos de mayor edad recibieron alimento con menor frecuencia y pesan menos que los hijos de padres jóvenes, sin embargo no hay relación entre la frecuencia de aprovisionamiento y peso de los pollos. Por lo que otros factores, como la calidad de la dieta aprovisionada y/o la calidad del nido construido, podrían jugar un papel importante durante las primeras semanas del desarrollo del rayadito.

ABSTRACT

Parental investment includes all costs in time and /or energy that parents invest in maximizing the viability of their offspring. The magnitude of parental investment during ontogeny may vary due the trade off between the reproductive value present and the residual reproductive value. According to this concept, older individuals invest more in reproduction, since the probability that they can generate new reproductive events decreases, compared to younger individuals. In the present study, the relationship between biological age (telomere length) and parental investment (defense of territory and supply) was evaluated for *Aphrastura spinicauda* (rayadito). It was found that older individuals have less telomere length (Spearman = -0.56 correlation; $p = 0.016$; $n = 18$), invest less in provisioning (Spearman correlation = -0, 7; $p = 0.01$, $n = 12$) and have a lower frequency of supply. As for investment in territorial behavior, it was found that *A. spinicauda* defend its nest with a radius of approximately 40 m and this have no association with the age or sex of individuals.

The brood of older individuals received food less often and weigh less than brood of young parents, however there is no relationship between the frequency of supply and weight of chickens. So other factors such as the quality of the diet provisioned and / or the quality of the nest, could play an important role during the early weeks of development in *A. spinicauda*.

1. INTRODUCCIÓN

La inversión parental es un rasgo de historia de vida, que incluye todos aquellos costos de tiempo y/o energía que los progenitores invierten en maximizar la viabilidad de su descendencia (Lack 1968, Trivers 1972, Clutton-Brock & Godfray 1991). Estos costos, han sido estudiados en conjunto como modelo general (Modelos de inversión parental, véase Maynard Smith (1977) y Dawkins & Carlisle (1976)) y por separado como factores que componen la inversión parental. Esta segunda aproximación ha generado una gran cantidad de datos empíricos en el campo de la ornitología. La inversión parental en las aves se ha estudiado considerando diversos componentes, tales como: el cortejo y territorialidad durante la formación de parejas reproductivas (Grinde-Parker *et al.* 2013), los costos del cuidado parental asociados a alimentación (Adler & Ritchison 2011, Banbura *et al.* 2001, Breitwish *et al.* 1986, Mitrus *et al.* 2010, Sasva'ri 1986), la construcción y mantención del nido (Alabrudzińska *et al.* 2003, Hansell 2000), entre otros.

La magnitud de la inversión parental varía tanto a nivel interespecífico como intraespecífico y depende de diversos factores, por ejemplo: el número y tamaño de las crías (Lack 1968), la latitud (Cody 1966), la disponibilidad de recursos, el tipo de estrategia reproductiva y la proporción de sexos de la nidada (Sasva'ri 1986; Goodbred & Holmes 1996; Wright *et al.* 1998; Rauter *et al.* 2000; Wedell *et al.* 2006).

Además, en las especies que se reproducen varias veces en su vida (i.e., iteróparas), la magnitud de la inversión parental puede variar durante la ontogenia, debido a que existe un punto óptimo entre costo y beneficio por concepto de reproducción, de acuerdo al modelo propuesto por Maynard Smith (1978), que es diferente en cada clase de edad, donde el costo de reproducción resulta del compromiso entre el valor reproductivo presente y el valor reproductivo residual (Fisher 1930, Williams 1966, Steans 1992, Reznick *et al.* 2000). Según este concepto, los individuos de mayor edad invierten más en reproducción, ya que la probabilidad de que puedan realizar nuevos eventos reproductivos es menor, en relación a individuos más jóvenes.

Por su parte, la edad de un individuo puede ser analizada separándola en dos componentes: i) la edad cronológica, que es la cantidad de tiempo que un animal ha vivido desde su nacimiento y ii) la edad biológica, que es un indicador del estado fisiológico de un individuo, la cual permite inferir el grado de daño en el organismo producido por diferentes factores asociados al envejecimiento causado por el desbalance entre el estrés oxidativo y su propia capacidad de contrarrestarlo. Es decir, la edad biológica es el resultado del daño oxidativo acumulado durante la vida de un individuo (Hausmann & Marchetto 2010, Young 2013).

Diversas situaciones ecológicas pueden actuar como agentes estresores, generando en los individuos cascadas de reacciones fisiológicas, cuyo eje central es la producción de glucocorticoides (Romero 2004). Los glucocorticoides, generan cambios fisiológicos en diversos tejidos que le permiten al organismo enfrentar al agente estresor.

Sin embargo, esta respuesta fisiológica implica un aumento del metabolismo, por ende un aumento del gasto energético y de la producción de desechos metabólicos (Romero 2004). Algunos de estos desechos metabólicos son agentes oxidantes, tienen efectos negativos sobre las células y se conocen como “especies reactivas del oxígeno”, en adelante ROS (del inglés *Reactive Oxygen Species*). El efecto negativo de ROS se conoce como “estrés oxidativo”, el cual causa daños a diferentes niveles en los organismos y, por lo tanto, existen diferentes modos de medirlo. Una forma de medir el daño oxidativo que ha sufrido una célula, es evaluar la variación en el largo de los fragmentos terminales de los cromosomas, llamados telómeros (Von Zglinicki 2002, Haussmann & Vleck 2002, Bize *et al.* 2009).

Los telómeros son estructuras de nucleoproteínas que se ubican en los extremos de los cromosomas de las células eucariontes (Blackburn 1991). Consisten en una secuencia repetida de los nucleótidos $(T_2AG_3)_n$ que es altamente conservada y no codificante, cuya función es proteger al cromosoma de la degradación, manteniendo la estabilidad del genoma (Blackburn 1991). A su vez, la estabilidad de los telómeros depende del equilibrio entre eventos de daño y restauración. El daño en los telómeros es causado principalmente por la ineficacia de la polimerasa en el final de la replicación, el llamado “problema de la polimerasa” (en inglés: “end replication problem”) (Olovnikov 1973; 1996) y por estrés oxidativo (Von Zglinicki 2002). El estrés oxidativo afecta especialmente a los telómeros, porque estos contienen una alta proporción de guanina y los nucleótidos de guanina son especialmente sensibles a las especies reactivas del oxígeno (Von Zglinicki 2002, Monaghan 2010, Wang *et al.* 2010, Heidinger 2012). Por

otro lado, la restauración de los telómeros ocurre principalmente debido a la acción de la telomerasa, que puede reconstruir y mantener los telómeros (Greider & Blackburn 1985). Sin embargo, la restauración de los telómeros por acción de la telomerasa no es suficiente y el resultado es que los telómeros se van acortando cada vez más en cada evento de replicación (Olovnikov 1973; 1996, Lansdorp 2005).

El daño en los telómeros es acumulativo y por lo tanto, estos se van acortando con la edad de los organismos (Epel *et al.*, 2004; Kotrschal *et al.*, 2007). Es decir, el largo telomérico puede ser usado como un marcador de edad (Hausmann & Vleck 2002; Hausmann & Mauck 2008; Hausmann & Marchetto 2010). Existen numerosos artículos que muestran una disminución del largo telomérico con la edad en diversos grupos de animales, por ejemplo en roedores (Coviello-McLaughlin & Prowse 1997), en humanos (Hastie *et al.* 1990, Zeichner *et al.* 1999), en reptiles (Scott *et al.* 2006), en peces (Hatakeyama *et al.* 2008) y en aves, tales como *Larus fuscus* (Foote *et al.* 2011), *Corvus monedula* (Salomons *et al.* 2009), *Taeniopygia guttata* (Hausmann & Vleck 2002).

Recientemente, el estudio de la dinámica telomérica se ha ido incorporando en estudios ecológicos, debido a su utilidad como marcador de edad y a su relación con el daño oxidativo, que podría reflejar ciertos compromisos entre supervivencia y reproducción. Es decir, el acortamiento telomérico podría reflejar el costo de ciertas acciones que aumentan el daño oxidativo disminuyendo la esperanza de vida. En este sentido, varios estudios han evaluado el compromiso entre supervivencia y reproducción, midiendo el acortamiento telomérico en relación con la fecundidad (Jin

Gao & Munch 2015), el éxito reproductivo (Bauch *et al.* 2013) y la inversión parental (Young *et al.* 2013). Por ejemplo, Angelier *et al.* (2013) observaron que en *Setophaga ruticilla* la calidad del hábitat afecta el largo telomérico de los individuos y que la longitud de los telómeros está asociada a la tasa de retorno al territorio invernal, donde individuos con telómeros más largos presentan una tasa de retorno más alta, que aquellos con telómeros más cortos. En otro estudio, Young *et al.* (2013), cuantificaron el largo telomérico antes y después de una estación reproductiva en *Uria lomvia*. Ellos encontraron que en *U. lomvia* los telómeros se acortan durante la estación reproductiva y este efecto es mayor en las hembras adultas que en los machos adultos. Young *et al.* (2013), sugieren que las diferencias observadas entre machos y hembras podrían deberse a diferencias en inversión parental o este podría ser un carácter seleccionado asociado al sexo homogamético. Es decir, podrían existir ciertos caracteres que le permiten al sexo homogamético, el macho en el caso de las aves, enfrentar mejor el daño oxidativo y el consecuente proceso de envejecimiento (Young *et al.* 2013). En otro estudio, realizado en *Sterna hirundo* por Bauch *et al.* (2013), encontraron que independiente de la edad los individuos con telómeros más cortos tienen mejor éxito que aquellos con telómeros más largos. Aunque los individuos con mayor y menor éxito pierden menos telómeros que los de éxito intermedio. Los autores sugieren que el éxito reproductivo en *S. hirundo* se logra a costa del largo telomérico y que la heterogeneidad individual podría explicar que individuos con mayor éxito reproductivo tengan una pérdida de largo telomérico menor que los de éxito intermedio más cortos.



En el presente estudio, se evaluó la relación entre la edad biológica y la inversión parental en el rayadito, *Aphrastura spinicauda* (Figura 1). El rayadito es un passeriforme insectívoro y monomórfico, perteneciente a la familia Furnariidae (Remsen 2003, Jaramillo *et al.* 2005). Es un especialista de bosques que habita en Chile y Argentina. En Chile, se distribuye desde los bosques relictos del Parque Nacional Fray Jorge (Región de Coquimbo) hasta los bosques magallánicos de Isla Navarino (Región de Magallanes y de la Antártica chilena), construye sus nidos en las cavidades secundarias de los árboles y realiza cuidado bi-parental prolongado. Los rayaditos son territoriales durante la estación reproductiva, emitiendo diferentes tipos de vocalizaciones en respuesta a la intrusión territorial (Ippi *et al.* 2009, 2011). Presenta solo una postura por temporada reproductiva, con un tamaño de puesta de entre 3 a 6 huevos, que son puestos en días alternos e incubados a partir del día de puesta del último huevo durante 18 días, lo cual produce una eclosión sincrónica (véase Moreno *et al.* 2005). El desarrollo de los pollos es de tipo altricial, por lo que el periodo de cuidado parental es muy demandante para los padres. Este período dura aproximadamente 22 días, desde la eclosión hasta que los pollos dejan el nido, alcanzando una tasa de aprovisionamiento promedio de aproximadamente 21 visitas hr^{-1} , tanto en machos como en hembras, cuando los pollos tienen 2 semanas de edad (véase Moreno *et al.* 2007). Además, el rayadito presenta monogamia social, con una tasa de paternidad extra-pareja del 44% (Bargsted 2013, Castaño-Villa 2015). La magnitud del aprovisionamiento, medida como número de visitas con presas al nido, es muy equitativa entre ambos padres (Moreno *et al.* 2005, 2007; Castaño-Villa 2015; Espíndola-Hernández 2014), aunque en cuanto a la calidad de

Por otro lado, los recientes estudios de Quirici *et al.* (2014, 2016) muestran la relación entre el estrés fisiológico y la dinámica telomérica en el rayadito. Acorde a lo esperado debido al carácter monomórfico y al cuidado biparental en el rayadito, Quirici *et al.* (2014) muestra que no hay diferencias asociadas al sexo de los adultos en cuanto al estrés fisiológico, medido a través de los niveles de cortisol. Además, el nivel de cortisol se correlaciona negativamente con el largo telomérico en los pollos de rayadito, es decir un alto nivel de cortisol está asociado a un menor largo telomérico (Quirici *et al.* 2016).

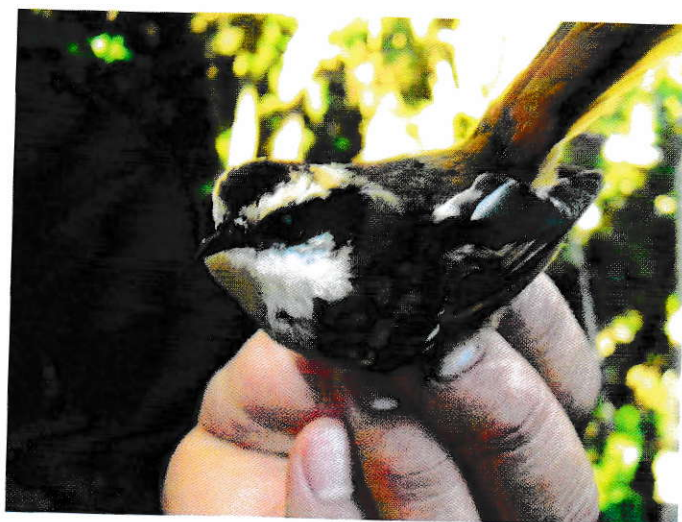


Figura 1. El rayadito, *Aphrastura spinicauda*.

Considerando las características mencionadas anteriormente de la especie en estudio y los antecedentes descritos en otras especies de aves. Especialmente, el carácter monomórfico, el cuidado biparental prolongado y la relación entre estrés fisiológico y largo telomérico en el rayadito, este estudio intenta responder tres preguntas: ¿El largo telomérico se relaciona con la edad cronológica?, ¿Cómo se relacionan la edad cronológica y la edad biológica? y ¿la edad cronológica y/o biológica se relacionan con la inversión parental?

Se proponen las siguientes hipótesis:

Hipótesis 1: El largo telemérico disminuye por efecto de la edad, por lo tanto se espera encontrar telómeros más cortos en los individuos de mayor edad cronológica.

Hipótesis 2: La edad biológica afecta la inversión parental en el rayadito *Aphrastura spinicauda*, por lo tanto, se espera encontrar una mayor inversión parental (defensa de territorio y aprovisionamiento) en individuos con mayor edad biológica.

Hipótesis 3: El esfuerzo durante la estación reproductiva genera estrés oxidativo y por lo tanto, acortamiento telomérico. Considerando que la inversión parental es muy equitativa entre machos y hembras en el rayadito, se espera encontrar que machos y hembras no presenten diferencias en cuanto al largo telomérico.

Para poner a prueba las hipótesis enunciadas, se proponen los siguientes objetivos:

Objetivo general

Evaluar si existen diferencias en la inversión parental (defensa de territorio y aprovisionamiento) en individuos con diferente edad biológica (largo telomérico), en una población de rayaditos (*Aphrastura spinicauda*).

Objetivos específicos

- Determinar el sexo de los individuos, usando técnicas moleculares.
- Determinar la edad biológica de los individuos adultos, mediante el largo telomérico.
- Evaluar dos aspectos de la inversión parental, defensa territorial y aprovisionamiento del nido.



2. METODOLOGÍA

2.1 Población en estudio

Se estudió una población de rayaditos, *Aphrastura spinicauda*, ubicada en el extremo sur de su distribución en Isla Navarino, Puerto Williams (55°04' S, 67°40' O), en temporada reproductiva durante la primavera del año 2014. Isla Navarino presenta un bosque decíduo magallánico continuo, caracterizado por la presencia de lenga (*Nothofagus pumilio*) y ñirre (*Nothofagus antarctica*) (Rozzi *et al.* 2007). En este sitio se encuentran instaladas 221 cajas anideras desde el año 2005, en el bosque secundario del sector Bahía Róbal y Seno Laut. Durante el año 2014, anidaron 27 parejas de rayaditos en las cajas, de las cuales se incluyen en este estudio un total de 22 individuos adultos y 43 pollos. No se incluyen todos los adultos, debido a la limitación práctica de medir territorialidad en terreno, detallada en el punto 3.6.

2.2 Captura y toma de muestras

Todos los animales fueron capturados desde las cajas nido y fueron marcados con anillos metálicos numerados. Además, los adultos fueron marcados con un par de anillos plásticos de colores, que hacen posible distinguir individualmente a cada uno de los integrantes de una pareja, durante la observación a distancia o a través de videos. Para capturar a los adultos, se instaló una puerta en la entrada de la caja que se cierra cuando el ave entra en su nido. Esta captura se realizó en el día 12 del desarrollo de los

pollos, debido a que aproximadamente ese día los pollos alcanzan un peso estable (Moreno *et al.* 2005, Espíndola-Hernández 2014) y además se ha observado que en esta etapa, existe una menor probabilidad de que los adultos abandonen el nido luego de ser capturados (véase Moreno *et al.* 2007). Se registraron las medidas morfométricas tradicionales de todos los animales (peso, largo de cola, largo total, largo del pico, largo de ala) y se extrajo una muestra de sangre punzando la vena braquial con una aguja hipodérmica y, usando un tubo capilar para micro-hematocrito heparinizado, se almacenó la muestra de sangre en una tarjeta FTA Classic (Whatman®) hasta el posterior análisis en el laboratorio.

2.3 Sexado Molecular

El sexado de los individuos se realizó utilizando técnicas moleculares, debido a que los rayaditos no presentan dimorfismo sexual evidente. Para la extracción de DNA, se utilizó el método de extracción por sales (Aljanabi & Martinez 1997), a partir de las muestras de sangre desde las tarjetas FTA Classic (Whatman®). Posteriormente, se siguió el protocolo de sexado para aves propuesto por Fridolffson & Ellegreen (1999), usado también en rayadito por Moreno *et al.* (2007) y Quirici *et al.* (2014).

2.4 Largo telomérico

El largo de los telómeros se determinó usando qPCR, mediante el protocolo validado para aves por Cawthon (2002) y Criscuolo *et al.* (2009). La muestra de DNA se obtuvo del mismo procedimiento descrito para el sexado molecular, a partir de las muestras de

sangre almacenadas en las tarjetas FTA Classic (Whatman®). Para la amplificación, se siguió el procedimiento descrito por Angelier *et al.* (2013), usando GAPDH como gen control (GAPDH: glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase) con los partidores GAPDH-F (5'-TGACCACTGTCCATGCCATCAC-3') y GAPDH-R (5'TCCAGACGGCAGGTCAGGTC-3') y para telómeros los partidores específicos para la región telomérica en aves Tel1b (5'-CGGTTTGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTT-3') y Tel2b (5'-GGCTTGCCTTACCCTTACCCTTACCCTTACCCTTACCCTTACCCT-3'). Para la reacción de qPCR se usaron 10ul de Brilliant II SYBER Green qPCR Master Mix (Stratagene, La Jolla, CA, USA) como fluoróforo, una concentración de DNA de 4ng, para Tel1b y GAPDH-F una concentración de 400 nM, para Tel2b y GAPDH-R de 900 nM, en un volumen final de 20 ul. Los qPCR de telómeros y gen control (GAPDH) se realizaron en placas independientes en el equipo Step-One™ Real-Time PCR System (Life Technologies, USA), de acuerdo a las condiciones utilizadas por Quirici *et al.* (2016). Se aceptó una eficacia de 100 ± 15 %, calculada con una curva estándar de diluciones seriadas de 80, 40, 20, 10 y 5 ng ml⁻¹. El umbral de amplificación fue determinada para cada una de las placas. Las muestras fueron corridas en duplicado y para el cálculo del largo telomérico (estimado como T/S o en inglés T/S ratio) se usó el promedio de las réplicas. El largo telomérico, como T/S se obtuvo de la formula $2^{\Delta\Delta C_t}$, donde $\Delta C_t = (C_t \text{ Tel} - C_t \text{ GAPDH})$.

2.5 Inversión parental en aprovisionamiento

La frecuencia y composición de la dieta que los adultos proveen al nido se determinó observando video-grabaciones. Los videos fueron tomados cuando los polluelos tenían 17 días de edad, enfocando la cámara hacia la entrada de cada caja nido y registrando durante 200 min. Para observarlos se usó el reproductor de video SMPlayer© versión 0.8.0, que permite controlar la velocidad de reproducción y detener la imagen para captar el momento en que los padres llegan con el alimento a la caja, logrando identificar al individuo a través de su anillo plástico de color y a las presas a nivel de orden en el caso de los insectos adultos. En el caso de las larvas y las arañas, se consideraron cada una en un ítem general, debido a que la observación de videos no permite identificar a nivel de orden en estos casos.



2.6 Inversión parental en defensa del territorio

La defensa del territorio por nido se evaluó usando el protocolo para aves llamado "mapeo de parcelas" o en inglés "spot mapping" (Odum & Kuenzler 1955, Ralph *et al.* 1996, Wunderle 1994), en el cual durante varios días un investigador se acercó a un determinado nido y registró la ubicación de los integrantes de esa pareja, cuando estos mostraron alguna conducta territorial. Para ello, el investigador se acercó a cada nido hasta poder identificar a alguno de los adultos y continuó observando a ese individuo y registrando su ubicación con un GPS durante 2 horas cada día. Se identificó a los individuos a través de la combinación de colores de los anillos plásticos,

registrando varios puntos cada día. Luego de cinco días, se obtuvo un conjunto de coordenadas que permiten generar un polígono del territorio de cada individuo. Para generar los polígonos y medir el área del territorio de cada pareja se utilizó Google Earth Pro 7.1.

2.7 Análisis estadístico

Los datos no cumplen con los supuestos de estadística paramétrica, por lo que en este estudio se realizaron solo pruebas no paramétricas. Para evaluar posibles diferencias entre machos y hembras, para cada una de las variables se realizaron pruebas de t con permutaciones (n° de permutaciones = 9999). Para evaluar las posibles asociaciones entre las variables estudiadas, se usaron correlaciones de Spearman. Los análisis fueron realizados en el software PAST (Paleontological statistics) versión 3.1.

3. RESULTADOS

3.1 Análisis de las variables según el Sexo.

Las variables no presentan diferencias significativas entre machos y hembras (Tabla 1). Es decir, en cuanto a largo telomérico, frecuencia de aprovisionamiento y variables asociadas al territorio no hay sesgo según el sexo de los individuos. Tampoco existe una correlación significativa entre machos y hembras para ninguna de las variables medidas (Test de correlación de Spearman con valor $p > 0.05$). Debido a esto, para el resto de los análisis los individuos fueron analizados como un solo grupo.

Tabla 1. Valores medios de cada variable con su desviación estándar (DS), para adultos machos y hembras por separado. La tercera columna de valores muestra el valor de p de las pruebas de t con permutaciones.

	Hembras (media)	Hembras (DS)	Machos (media)	Machos (DS)	p
Largo telomérico T/S / Edad cap-recaptura	1,92	3,39	1,21	1,86	0,639
Frecuencia de Aprovisionamiento/pollo	15,348	5,71	13,713	6,65	0,586
Área de forrajeo (m ²)	3239,778	2074,41	2868,889	1144,99	0,678
Distancia prom. TT-nido (m)	39,801	13,22	42,164	17,45	0,746
n° trinos territoriales	12,889	7,37	15,111	15,11	0,745

3.2 Relación entre edad cronológica y largo telomérico para individuos de edad conocida.

En la población de Isla Navarino se lograron recapturar 7 individuos de los cuales se tiene certeza con respecto a su edad, debido a que estos fueron anillados siendo pollos en temporadas anteriores. El largo telomérico (T/S) y la edad cronológica no están correlacionados significativamente (Correlación de Spearman = -0,36; $p = 0,4$), aunque la pendiente de la línea de tendencia de los datos es negativa (Figura 2). Por otro lado, la desviación estándar de los datos de largo telomérico disminuye cuando la edad de los individuos aumenta (Tabla 2).

Tabla 2. Valores medio del largo telomérico y desviación estándar (DS) de los individuos de edad conocida.

Edad	1 año	2 años	3 años
n° Individuos	3	2	2
T/S (promedio)	0,935	0,537	0,098
DS	0,833	0,711	0,005

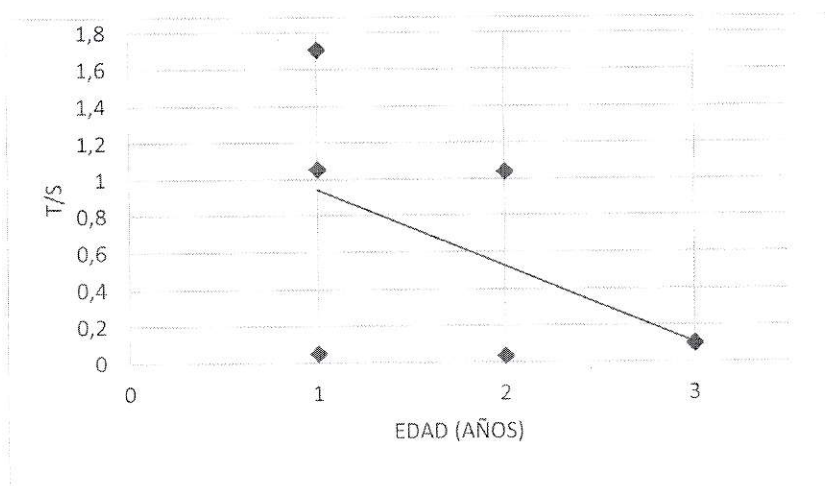


Figura 2. Largo telomérico (T/S) en función de la edad cronológica en individuos de edad conocida. Se muestra la línea de tendencia del conjunto de datos.

3.3 Relación entre edad cronológica y largo telomérico para todos los individuos.

Existe una correlación negativa entre la edad biológica estimada a través del largo telomérico (T/S) y la edad cronológica estimada por el método de captura/recaptura (Todos los individuos, Correlación de Spearman = -0,56; $p = 0,016$; $n=18$. Machos: Correlación de Spearman = -0,82; $p = 0,018$; $n=9$. Hembras: Correlación de Spearman = -0,29; $p = 0,452$; $n=9$). Como muestra la figura 3, los individuos de mayor edad cronológica (Edad mínima posible, estimada por método de captura/recaptura) presentan un menor largo telomérico en ambos sexos, sin embargo la correlación es estadísticamente significativa solo en los machos. Además, en el gráfico de la figura 3 puede verse un grupo de 10 puntos con valor cero en el eje x, que corresponden a los 10 individuos que fueron capturados como adultos por primera vez en el año 2014, por lo que no se sabe su edad exacta y que fueron considerados como de un año de edad, lo cual corresponde a la edad mínima posible.

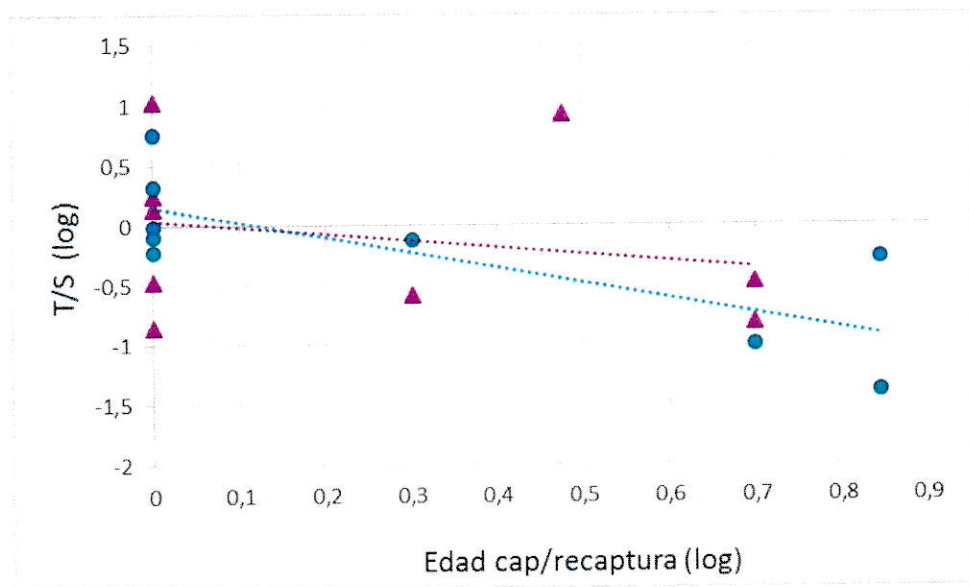


Figura 3. Correlación entre la edad cronológica estimada por método de captura/recaptura y la edad biológica estimada a través el largo telomérico para todos los individuos. Cada triángulo de color rosado representa un individuo hembra. Cada círculo de color azul representa un individuo macho. Además, se muestran las líneas de tendencia de los datos para Hembras y machos con sus respectivos colores.

3.4 Inversión parental en aprovisionamiento

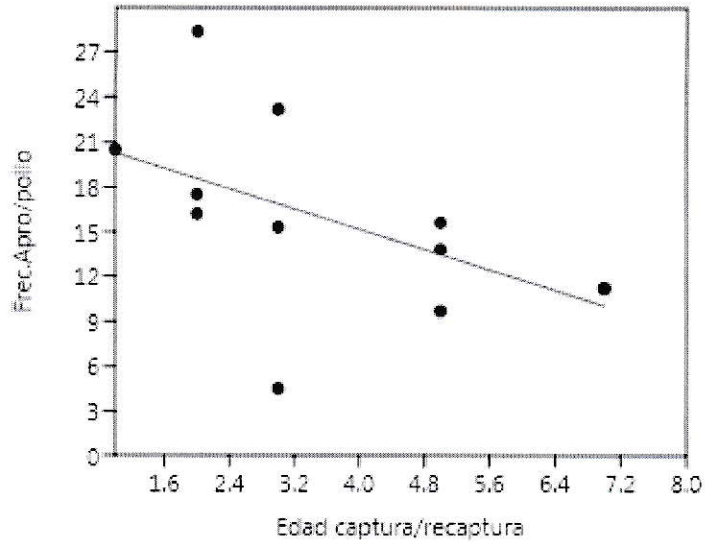
La tasa de aprovisionamiento promedio fue de 21 visitas hr^{-1} tanto en machos como en hembras (Tabla 1). Al corregir por el número de pollos por pareja resulta una tasa de 4,5 visitas hr^{-1} , es decir 4,5 visitas por pollo cada hora. Las larvas corresponden a un 45% de la dieta de los rayaditos, siendo el ítem mayoritario. La frecuencia promedio de limpieza del nido (i.e., extracción de sacos fecales de los pollos) fue de 3 hr^{-1} , en ambos padres.

Debido a que el método de captura/recaptura entrega una estimación de la edad mínima de un individuo, para evaluar la relación entre la edad y la frecuencia de aprovisionamiento no se incluyeron aquellos individuos capturados por primera vez. Entonces, considerando solo las recapturas, la frecuencia de aprovisionamiento se correlaciona significativamente con la edad estimada por método de captura/recaptura (Correlación Spearman = -0,7; $p = 0,01$; $n=12$). La correlación es negativa, es decir los individuos de mayor edad presentan una frecuencia de aprovisionamiento menor (Figura 4. a). Además, al considerar el efecto que pudiera tener la pareja en la conducta de aprovisionamiento, la relación también es negativa significativamente (Figura 4.b: Correlación Spearman = -0,7; $p = 0,003$; $n=12$).

En cuanto a la edad biológica, estimada por el largo telomérico, no hay correlación significativa con la frecuencia de aprovisionamiento, pero la tendencia es consistente con el resultado anterior. En este caso, el valor de la correlación es positivo (Figura 5.a: Correlación Spearman = 0,5; $p = 0,1$; $n=12$), esto quiere decir que los individuos con mayor edad biológica, que son aquellos que tienen los telómeros más cortos, presentan una menor frecuencia de aprovisionamiento. Al igual que para la edad cronológica, al considerar el efecto que pudiera tener la pareja en el aprovisionamiento, la relación con el largo telomérico es también positiva con el aprovisionamiento relativo (Figura 5.b: Correlación Spearman = 0,36; $p = 0,2$; $n=12$). Además, restando el efecto de la edad cronológica sobre el largo telomérico, la relación con el aprovisionamiento también es positiva y es estadísticamente significativa (Figura 6: Correlación Spearman = 0,6; $p = 0,029$; $n=12$).

El peso promedio de los pollos se correlaciona con la edad estimada por captura-recaptura de los padres (Figura 7: Correlación Spearman = -0,69; $p = 0,01$; $n=12$). Aunque, no hay relación entre la frecuencia de aprovisionamiento y el peso de los pollos (Figura 8: Correlación Spearman = -0,01; $p = 0,9$; $n=22$). Tampoco, hay correlación entre la edad la edad estimada por captura-recaptura y el peso de los adultos (Correlación Spearman = -0,16; $p = 0,6$; $n=12$), ni entre el peso de los adultos y de los pollos (Correlación Spearman = 0,4; $p = 0,2$; $n=12$).

a)



b)

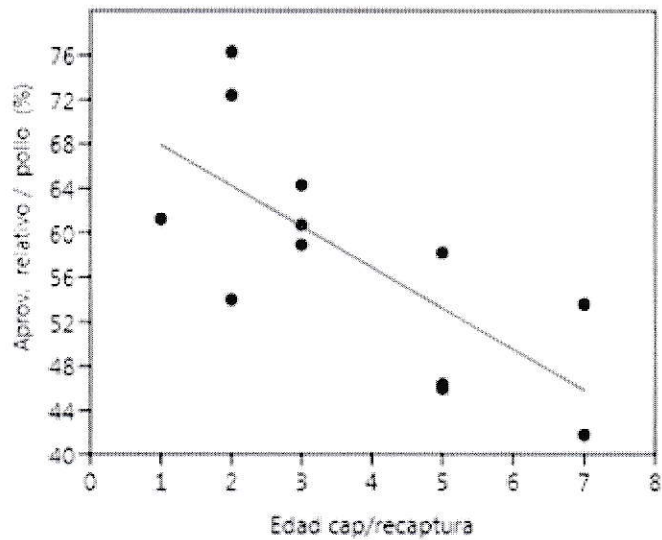
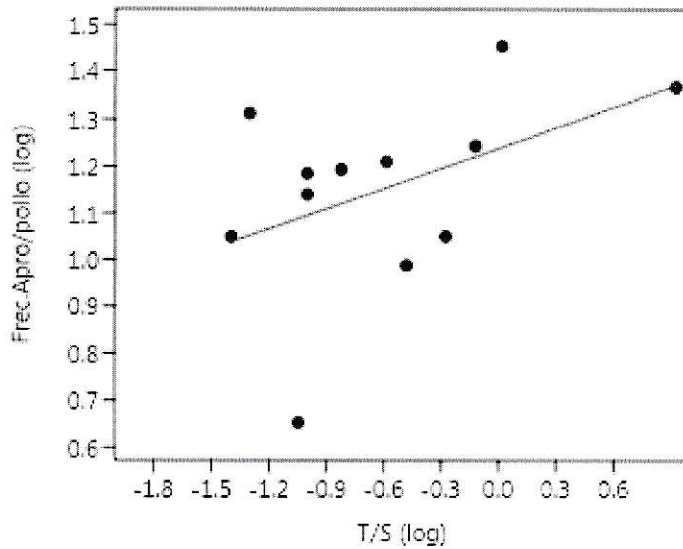


Figura 4. Correlación entre la edad estimada por método de Captura/Recaptura y la frecuencia de aprovisionamiento de presas al nido. a) Frecuencia absoluta; b) frecuencia relativa en relación con su pareja reproductiva.

a)



b)

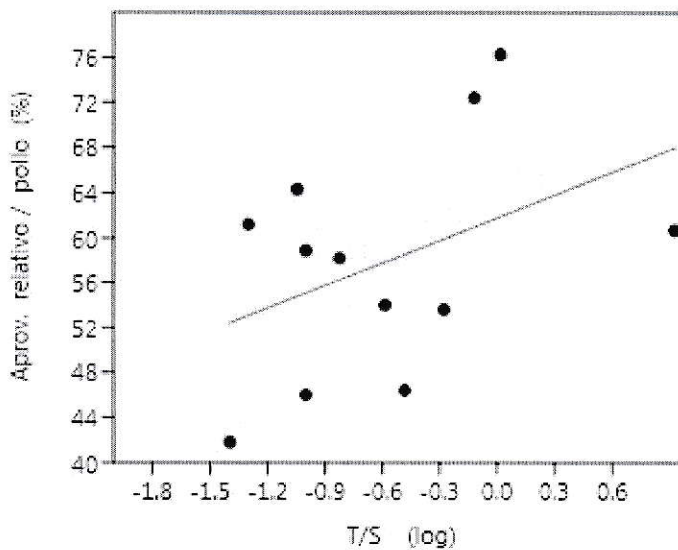


Figura 5. Aprovisionamiento (Frec. Apro/pollo) en función de la edad de los individuos (edad estimada a través del largo telomérico (T/S)), en escala logarítmica. Se muestra la línea de tendencia del conjunto de datos. a) Frecuencia absoluta; b) frecuencia relativa en relación con su pareja reproductiva.

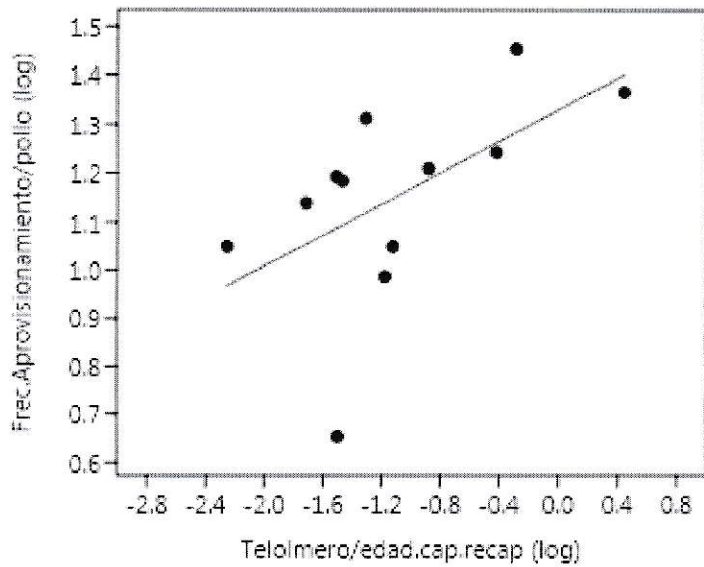


Figura 6. Aprovisionamiento (Frec. Aprovisionamiento/pollo) en función de la edad biológica de los individuos (largo telomérico corregido por la edad cronológica y en escala logarítmica).

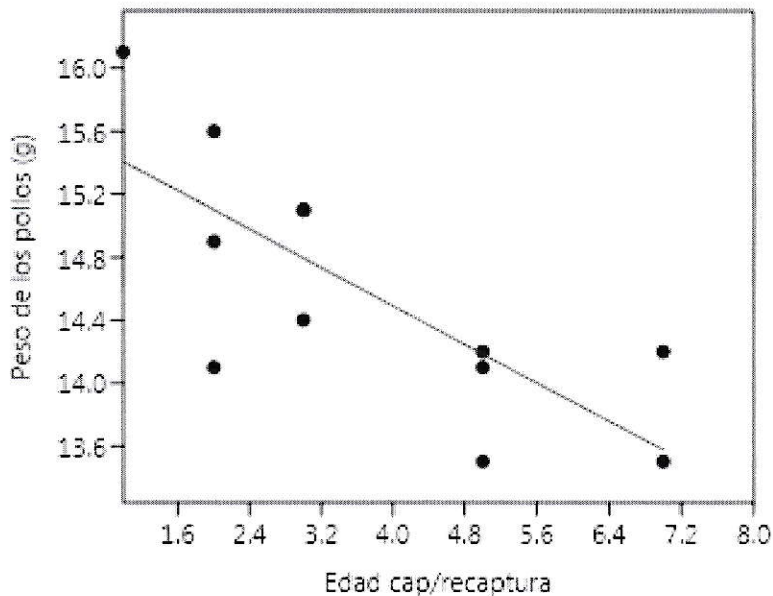


Figura 7. Correlación entre la edad de los padres estimada a través del método de captura-recaptura y el peso promedio de la nidada.

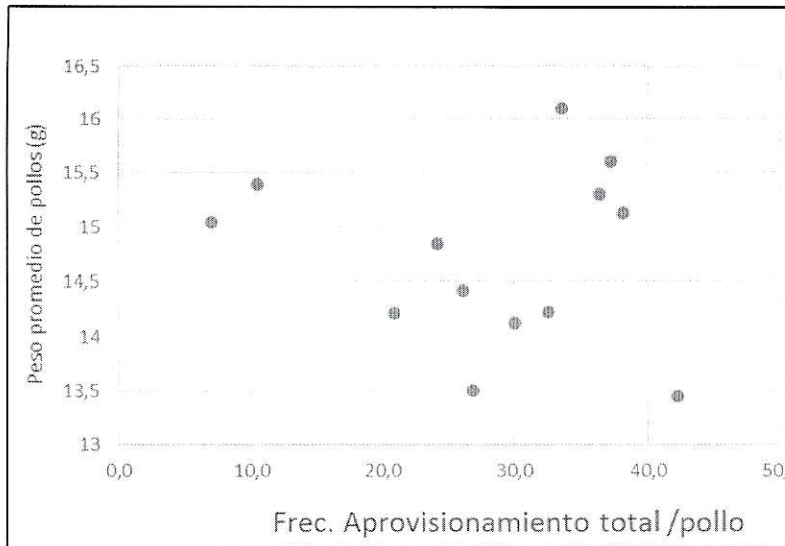


Figura 8. Peso de los pollos de cada nidada (promedio por nidada) en relación a la frecuencia de aprovisionamiento total de presas al nido (Suma del aprovisionamiento entre el padre y la madre, corregido por tamaño de nidada).

3.5 Inversión parental en defensa del territorio

Los rayaditos, defienden pequeños territorios cercanos a su nido con un radio de aproximadamente 40 m tanto en machos como en hembras (basado en la distancia máxima de trino). El área promedio de forrajeo fue de 3054 m² (DS=1636, n=18) y la distancia máxima de trino territorial (distancia máxima, desde el nido, a la cual se observó a cada individuo realizar una conducta territorial) fue en promedio de 41 m (DS=15, n=18). El número promedio de trinos territoriales registrados fue de 14 (DS=11, n=18), durante toda la observación. Ninguna de las variables medidas presenta

diferencias significativas (Test de correlación de Spearman con valor $p > 0.05$) entre machos y hembras (Tabla 1) ni correlación con la edad biológica (largo telomérico) ni cronológica (Captura/Recaptura). La figura 9 muestra un ejemplo de los mapas generados para cada una de las parejas, usando Google Earth Pro 7.1.

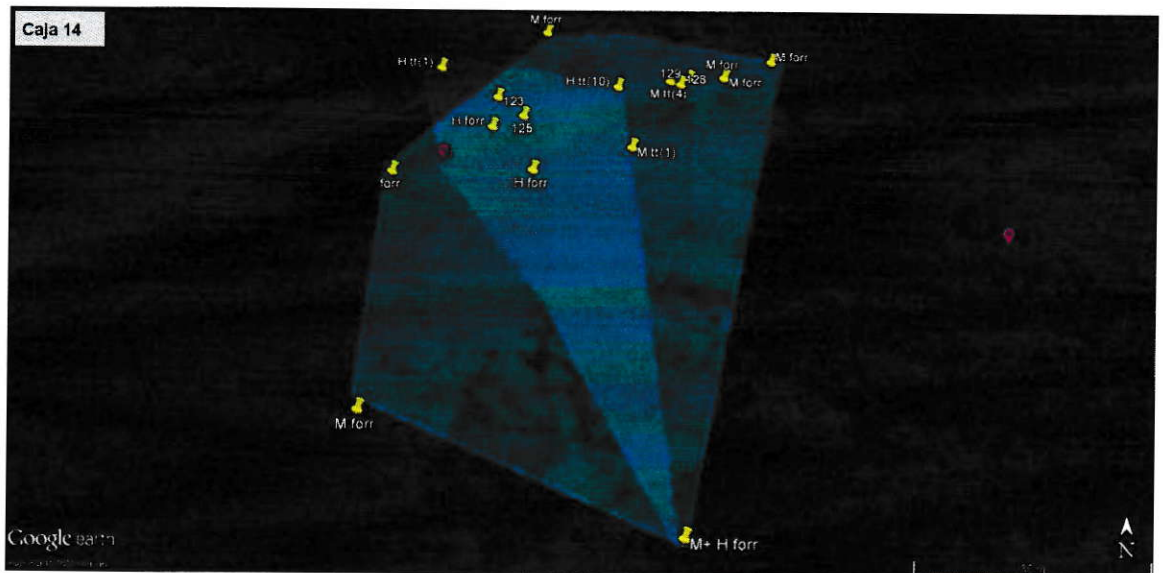


Figura 9. Ejemplo de territorios de macho y hembra de una caja-nido. En este caso, se observan 2 áreas de forrajeo superpuestas, en azul el macho y en rosado la hembra. El símbolo rojo dentro de los polígonos es el nido. **M o F farr:** lugar donde forrajea el macho o la hembra respectivamente. **M o H tt:** lugar donde se observó al macho o la hembra respectivamente, realizar alguna conducta territorial.

4 DISCUSIÓN

4.1 La edad biológica y la edad cronológica

De acuerdo a los resultados de este estudio, existe una relación entre la edad biológica (largo telomérico) y la edad cronológica (captura-recaptura). En el caso de los individuos de edad conocida (Figura 2), la línea de tendencia con pendiente negativa muestra la que los individuos de mayor edad cronológica presentan un menor largo telomérico. Además, considerando a todos los individuos en conjunto esta tendencia se mantuvo y es estadísticamente significativa. Los machos y las hembras adultas por separado también siguen la misma tendencia, pero el hecho de que es estadísticamente significativa solo en los machos probablemente se deba al tamaño de muestra y/o a la desviación estándar que es un poco mayor en las hembras (ver: Tabla 1 y Figura 3). Estos resultados son concordantes con otros estudios tanto en aves (véase e.g., Foote *et al* 2011, Solomons *et al* 2009, Hausmann & Vleck 2002) como en otras especies (véase e.g., Hastie *et al.* 1990, Coviello-McLaughlin & Prowse 1997, Zeichner *et al.* 1999, Scott *et al.* 2006, Hatakeyama *et al.* 2008) y apoyan la hipótesis de que el largo telomérico disminuye por efecto de la edad, que corresponde a la Hipótesis 1 de este estudio.

Una mayor inversión parental, a su vez, constituye uno de los factores que pueden aumentar el estrés oxidativo (Alonso-Alvarez *et al.* 2004, Grinde-Parker *et al.* 2013). Por lo tanto, en especies en las cuales el cuidado parental es realizado por ambos padres y que por ende ambos padres presentan niveles similares de inversión, es esperable que

no se encuentren diferencias en cuanto a los efectos del estrés oxidativo entre machos y hembras. En este sentido, los resultados fueron de acuerdo a lo esperado, ya que no se encontraron diferencias entre machos y hembras para ninguna de las variables consideradas (Tabla 1), lo cual concuerda con otros estudios (véase e.g., Hausmann & Vleck 2002, Solomons *et al.* 2009, Beaulieu *et al.* 2011) y permite apoyar la hipótesis propuesta (Hipótesis 3). En cambio, otros autores han encontrado diferencias en el largo telomérico según el sexo de los individuos en alguna especies de aves marinas como *Macronectes giganteus* (Foote *et al.* 2010), *Larus fuscus* (Foote *et al.* 2011), *Uria lomvia* (Young 2013), donde las diferencias entre machos y hembras podrían deberse a la existencia de diferentes roles durante el cuidado parental.

Algunos autores, como por ejemplo Bauch *et al.* (2013) han mostrado una relación entre el éxito durante la estación reproductiva y el largo telomérico. Bauch *et al.* (2013), muestran en *Sterna hirundo*, que los individuos con telómeros más cortos presentan un mayor éxito durante la estación reproductiva, se reproducen tempranamente durante la temporada y ponen más huevos, que aquellos con telómeros más largos. Además, Bauch *et al.* (2013) encontraron que en el grupo de individuos que mostraba el mayor éxito durante la temporada reproductiva, sus telómeros se acortaban menos que los de éxito intermedio. Resultados como ese sugieren que la relación entre dinámica telomérica y esfuerzo reproductivo puede variar entre individuos. Es decir esos individuos podrían presentar ciertas características metabólicas que le permitan ser más eficientes en sus defensas antioxidantes y así enfrentar mejor el aumento de ROS asociado al aumento en el esfuerzo reproductivo.

Entonces, pese a que existe una relación entre edad biológica y cronológica a nivel poblacional, resulta difícil pensar en esta relación como una herramienta para determinar la edad cronológica en los individuos (principalmente en trabajo de campo con especies silvestres). Debido a que la dispersión de los datos, en este y otros trabajos, sugiere la existencia de diferentes fenotipos que no han sido evaluados, es decir podría existir heterogeneidad individual en cuanto a la manera en que los individuos manejan el balance entre estrés oxidativo y defensas antioxidantes. Beaulieu *et al.* (2011), consideraron este enfoque midiendo el largo telomérico, defensas antioxidantes y costo de reproducción en *Pygoscelis adeliae*. Otros autores, como Grinde-Parker *et al.* (2013) también han considerado el nivel de estrés oxidativo a través del nivel de ROS en la sangre, en el *Plectrophenax nivalis*.

De ahí la importancia de abordar el tema de la edad biológica de manera más integral, considerando el hecho de que el daño oxidativo es el resultado de un balance entre acciones destructivas y reconstructivas a nivel celular. Es decir, para obtener resultados concluyentes se requiere más información acerca del metabolismo del estrés y su relación con el envejecimiento, usando mayor diversidad de marcadores de edad además del largo telomérico. Otros marcadores de daño en el DNA, por ejemplo la 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) y otros marcadores de daños en otras macromoléculas.

4.2 La edad y la inversión parental en aprovisionamiento

Los resultados apoyan la hipótesis de que la edad afecta la inversión parental en el rayadito. La frecuencia de aprovisionamiento varía de acuerdo a la edad de los padres, significativamente en la estimación de edad por captura-recaptura (Figuras 4.a y 4.b) y, aunque no es significativa estadísticamente, la tendencia de los datos basados en la estimación de edad biológica por largo telomérico es consecuente con la estimación tradicional (Figuras 5.a y 5.b). De hecho, al estandarizar la edad cronológica en el análisis, la frecuencia de aprovisionamiento varía significativamente con el largo telomérico (Figura 6). Sin embargo, el sentido de esta relación fue opuesto a lo esperado. Según la predicción de la segunda hipótesis propuesta, se esperaba encontrar una mayor inversión parental en individuos con mayor edad biológica, basado en la teoría clásica de inversión parental y valor reproductivo residual (Fisher 1930, Williams 1966, Steans 1992, Reznick *et al.* 2000). Sin embargo, los resultados señalan que los individuos de mayor edad invierten menos que los adultos más jóvenes, basado en la frecuencia de aprovisionamiento (Figura 4.a: frecuencia absoluta; Figura 4.b: frecuencia relativa en relación con su pareja reproductiva). Además, se encontró una correlación negativa entre el peso promedio de la nidada y la edad cronológica de los padres (Figura 7), es decir los hijos de padres de mayor edad pesan en promedio menos que los hijos de padres jóvenes.

A pesar de que los hijos de los individuos de mayor edad recibieron alimento con menor frecuencia y pesan menos que los hijos de padres jóvenes, no hay relación entre

la frecuencia de aprovisionamiento y peso de los pollos (Figura 8). Por lo que no hay información suficiente como para explicar el mecanismo que causa la diferencia de peso entre nidadas.

En otras especies, la existencia de resultados discordantes con las predicciones de la teoría de valor reproductivo residual, se ha atribuido principalmente a posibles compromisos entre los diferentes componentes de la inversión parental (véase e.g., Priest 2002, Trumbo 2009). En el caso del rayadito, la calidad de la dieta aprovisionada y/o la calidad del nido construido podrían jugar un papel importante, el cual debería ser considerado en futuros estudios.

Tanto la magnitud de la frecuencia de aprovisionamiento como el carácter equitativo del cuidado parental entre machos y hembras, concuerda con estudios previos en el rayadito (Moreno *et al.* 2007, Castaño-Villa 2015, Espíndola-Hernández 2014). La composición mayoritaria de larvas también había sido reportada en un estudio anterior (Espíndola-Hernández 2014), sin embargo en este estudio no fue posible identificar las presas con la misma precisión. Si bien durante la observación de videos se logró identificar algunos lepidópteros y arácnidos, las presas más pequeñas no se pudieron identificar. Posiblemente, esta dificultad en la observación de los videos se debió a una ligera diferencia en el ángulo de grabación, un poco mayor que en años anteriores. Debido a esto, para estudios futuros se recomienda realizar la grabación con un encuadre que entregue una vista lateral de la entrada de la caja-nido tal como se muestra en la figura 9. El uso de una vista lateral (Ver: ángulo α en la figura 9), asegura la posibilidad de observar los anillos de colores en el tarso del ave y la presa que trae a su nido.



Figura 10. Posición sugerida de la cámara con respecto a la caja-nido (encuadre). El ángulo α es menor que el ángulo β . El encuadre usando un ángulo como α , permite una mejor vista lateral de la caja y del tarso del ave al entrar en su nido.

4.3 La edad y la inversión parental en conducta territorial

Los rayaditos, durante el periodo de cuidado parental presentan mayoritariamente una conducta de defensa de nido, no defensa territorial, ya que defienden el área cercana a su nido con un radio de aproximadamente 40 m (Figura 9). Las vocalizaciones territoriales fueron escasas y de frecuencia irregular durante toda la mañana (entre las 07:00 y 11:00 h). Además, machos y hembras presentan una conducta muy similar, con una variabilidad muy similar. Es decir, las vocalizaciones o trinos territoriales, se observaron con muy baja frecuencia y no estuvieron asociados a un momento puntual del día, ni al sexo de los individuos. Debido a esto, con los datos obtenidos en este estudio no es posible evaluar la hipótesis 2 en relación con la inversión parental. Porque la cantidad de conductas territoriales registradas (trino territorial o agresiones entre individuos) fue muy bajo, no es posible realizar una buena estimación de la forma y el tamaño del polígono que describe el territorio de las parejas. Para aumentar ese número y poder calcular el área se utilizaron, además de los puntos de datos territoriales, algunos puntos de lugares de forrajeo. Por lo que las áreas medidas corresponden a las áreas de actividad de los individuos de cada pareja, lo cual corresponde a más a una estimación del “ámbito de hogar” más que de “tamaño de territorio” (ver ejemplo de una de las parejas en la figura 9).

Dentro de las variables medidas (área de forrajeo, distancia máxima de trino territorial y número de trinos territoriales), la distancia máxima de trino territorial y el número de trinos muestran una amplia variabilidad dentro del grupo estudiado, por lo que podrían ser más informativas en relación a otros aspectos del comportamiento del rayadito. Por ejemplo, es posible que estas diferencias en cuanto a conducta territorial no se relacionen con la edad ni el sexo de los individuos, porque pueden estar determinadas por factores individuales. Es decir, la varianza intraespecífica de la conducta territorial podría ser parte de la varianza asociada a personalidad animal en el rayadito. Por lo tanto, en estudios posteriores se sugiere incluir algunas de estas mediciones en los análisis de personalidad.

Finalmente, para mejorar la estimación de la conducta territorial en el rayadito se sugiere aumentar el esfuerzo de muestreo, comenzando las observaciones más tempranamente dentro de la estación reproductiva y observando un mayor número de parejas. Además, es importante realizar alguna estimación de la densidad poblacional de rayaditos, ya que en otras especies se ha demostrado que este factor puede afectar la conducta territorial (Yoon *et al.* 2012).

5 CONCLUSIONES

El compromiso en la asignación de recursos a sobrevivencia y reproducción es un aspecto fundamental en la comprensión de los rasgos de historia de vida de las especies. El estudio de la variación en la asignación de recursos durante la ontogenia, requiere de mayor evidencia empírica tanto en la manera en que se mide la inversión de recursos, como en la forma en que estima la edad de los organismos.

En la población de rayaditos en estudio, ninguna de las variables incluidas presenta sesgos asociados al sexo de los individuos. Se encontró una asociación negativa entre la edad biológica, medida a través del largo telomérico, y la edad cronológica, medida por método de captura-recaptura. Se concluye que la edad biológica se ve afectada por la edad cronológica, pero la amplia dispersión de los datos sugiere que otros factores asociados al daño oxidativo deberían ser considerados en futuros estudios.

Además, se encontró una relación negativa entre la edad y la inversión parental. Pero, contrario a lo esperado, los individuos de mayor edad cronológica invierten menos que los adultos más jóvenes. Los hijos de los individuos de mayor edad recibieron alimento con menor frecuencia y pesan menos que los hijos de padres jóvenes, sin embargo no hay relación entre la frecuencia de aprovisionamiento y peso de los pollos. Por lo que el mecanismo que explicaría esta diferencia no es claro y no se puede determinar a partir de estos resultados. Otros factores, como la calidad de la

dieta provisionada y/o la calidad del nido construido, podrían jugar un papel importante durante las primeras semanas del desarrollo del rayadito.

En cuanto a la conducta territorial, la cuantificación de trinos territoriales y conductas agresivas resulta fáciles de identificar en terreno. Sin embargo, durante el periodo de cuidado parental pasan la mayor parte del tiempo provisionando el nido y la magnitud de las conductas territoriales en general se observan en menor proporción, por lo que se han obtenido una cantidad insuficiente de datos como para concluir acerca del posible efecto de la edad sobre esta conducta. Pese a esto, se logró estimar un radio territorial de aproximadamente 40 m alrededor del nido. Se recomienda realizar las mediciones de mapeo territorial más tempranamente durante la estación reproductiva y por más días.

Finalmente, el efecto de la edad biológica sobre la inversión parental en el rayadito requiere de un análisis más amplio, ya que probablemente existen otros factores que interactúan con los considerados hasta el momento.

6 BIBLIOGRAFÍA

Adler J & G Ritchison (2011) Provisioning behavior of male and female Grasshopper Sparrows. *Wilson Journal of Ornithology* 123: 515-520.

Aljanabi S M & I Martinez (1997) Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Research*, Vol. 25, No. 22: 4692-4693.

Angelier F, Vleck C M, Holberton R L & P P Marra (2013) Telomere length, non-breeding habitat and return rate in male American redstarts. *Functional Ecology*, 27, 342–350. doi: 10.1111/1365-2435.12041

Alabrudzińska J, Kaliński A, Słomczyński R, Wawrzyniak J, Zieliński P & J Bańbura (2003) Effects of Nest Characteristics on Breeding Success of Great Tits *Parus major*. *Acta Ornithologica* 38 (2), 151-154

Alonso-Alvarez C, Bertrand S, Devevey G, Prost J, Faivre B & Sorci G (2004) Increased susceptibility to oxidative stress as a proximate cost of reproduction. *Ecol. Lett.* 7: 363–368.

Bañbura J, Perret P, Blondel J, Sauvages A, Galan M-J & M Lambrechts (2001) Sex differences in parental care in a Corsican Blue Tit *Parus caeruleus* population. *Ardea* 89: 517–526.

Bargsted O (2013) Evaluación de la presencia de crías extra-pareja en *Aphastura spinicauda* (Furnariidae), un paseriforme socialmente monógamo. Tesis de magister, Universidad de Chile. 62 pp.

Bauch C, Becker P H & S Verhulst (2013) Telomere length reflects phenotypic quality and costs of reproduction in a longlived seabird. *Proc R Soc B* 280: 20122540.

Beaulieu M, Reichert S, Maho Y L, Ancel A & F Criscuolo (2011) Oxidative status and telomere length in a long-lived bird facing a costly reproductive event. *Functional Ecology* 25: 577–585

Breitwisch R, Merrit P & G Whitesides (1986) Parental investment by the Northern Mockingbird: Male and Female Roles in Feeding Nestlings. *The Auk* 103: 152–159.

Blackburn E H (1991) Structure and function of telomeres. *Nature* 350, 569–573. (doi:10.1038/350569a0)

Bize P, Criscuolo F, Metcalfe N B, Nasir L & P Monaghan (2009) Telomere dynamics rather than age predict life expectancy in the wild. *Proc R Soc Lond B* 276: 1679-1683. doi:10.1098/rspb.2008.1817. PubMed: 19324831.

Castaño-Villa G J (2015) Selección sexual en un ave socialmente monógama, *Aphrastura spinicauda*, (Furnariidae). Tesis doctoral, Universidad de Chile. 91pp.

Cawthon R (2002) Telomere measurement by quantitative PCR. *Nucleic Acids Research*, Vol. 30, No. 10 e47

Clutton-Brock T H & C Godfray (1991) “Parental investment” en *Behavioural Ecology: An Evolutionary Approach*. Editado por J.R. Krebs y N.B. Davies, pp. 234-262. Boston: Blackwell.

Cody M L (1966) A general theory of clutch size. *Evolution*, 20: 174–184

Coviello-McLaughlin GM & KR Prowse (1997) Telomere length regulation during postnatal development and ageing in *Mus spretus*. *Nucleic Acids. Research*, 25, 3051–3058.

Criscuolo F, Bize P, Nasir L, Metcalfe N B, Foote C G, Griffiths K, Gault E A & P Monaghan (2009) Real-time quantitative PCR assay for measurement of avian telomeres. *J. Avian Biol.* 40: 342347, 2009

Dawkins R & T R Carlisle (1976) Parental investment, mate desertion and a fallacy. *Nature*, 262, 131e133.

Epel E S, Blackburn E H, Lin J, Dhabhar F S, Adler N E, Morrow J D & R M Cawthon (2004) Accelerated telomere shortening in response to life stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(49), 17312–17315.

Espíndola-Hernández P (2014) Dimorfismo sexual en aprovisionamiento parental y en crecimiento a edad temprana en el rayadito *Aphrastura spinicauda*. Tesis de Pregrado, Universidad de Chile. 31pp.

Espíndola-Hernández P, Castaño-Villa G J, Vásquez R A & V Quirici Nutritional bias in relation to brood sex ratio in a non-dimorphic furnariid bird (En revisión)

Fisher R A (1930) *The Genetical Theory of Natural Selection*, Oxford University Press.

Foote C G, Gault E A, Nasir L & P Monaghan (2011) Telomere dynamics in relation to early growth conditions in the wild in the lesser black-backed gull. *J Zool.*; 283: 203–209.

Fridolffson A & H Ellegreen (1999) A simple and universal method for molecular sexing of non-ratite birds. *Journal of Avian Biology*, 30: 1. 116-121

Gao J & S B Munch (2015) Does Reproductive Investment Decrease Telomere Length in *Menidia menidia*? *PLoS ONE* 10(5): e0125674. doi:10.1371/journal.pone.0125674

Goodbred C O & R T Holmes (1996) Factors Affecting Food Provisioning of Nestling Black-Throated Blue Warblers. *The Wilson Bulletin* Vol. 108, No. 3 pp. 467-479

Greider C W & E Blackburn (1985) Identification of a specific telomere terminal transferase activity in *Tetrahymena* extracts. *Cell* 43: 405–413.

Guindre-Parker S, Baldo S, Gilchrist H G, Macdonald C A, Harris C M & O P Love (2013) The oxidative costs of territory quality and offspring provisioning. *J. EVOL. BIOL.* 26: 2558–2565

Hansell M (2000) The cost of nest building. In: *Bird Nests and Construction Behaviour*. pp. 129-151. [Online]. Cambridge: Cambridge University Press. Disponible en: Cambridge Books Online <<http://dx.doi.org/10.1017/CBO9781139106788.006>> [visto el 05/03/2016]

Hastie N D, Dempster M, Dunlop MG, Thompson A M, Green D K & R C Allshire (1990) Telomere reduction in human colorectal carcinoma and with ageing. *Nature*, 346, 866–868.

Hatakeyama H, Nakamura KI, Izumiyama-Shimorriura N, Ishii A, Tsuchida S, Takubo K & N Ishikawa (2008) The teleost *Oryzias latipes* shows telomere shortening with age despite considerable telomerase activity throughout life. *Mechanisms of Ageing and Development*, 129: pp 692.

Hausmann M & C Vleck (2002) Telomere length provides a new technique for aging animals. *Oecologia.*; 130: 325–328.

Hausmann M F & N M Marchetto (2010) Telomeres: Linking stress and survival, ecology and evolution. *Current Zoology* 56 (6): 714–727.

Hausmann M F & R A Mauck (2008) New strategies for telomere-based age estimation. *Molecular Ecology Notes*, 8, 264–274.

Heidinger B J, Blounta J D, Bonera W, Griffiths K, Metcalfea N B & P Monaghana (2012) Telomere length in early life predicts lifespan. *PNAS* vol. 109 (5):1743–1748

Ippi S (2009) Conducta antidepredatoria y territorial en el Rayadito (*Aphrastura spinicauda*): comparaciones interpoblacionales en conducta vocal y de defensa. Tesis Doctoral. Universidad de Chile, Santiago.

Ippi S, R A Vasquez, van Dongen W F D & I Lazzoni (2011) Geographic variation in the vocalizations of the suboscine Thorn-tailed Rayadito *Aphrastura spinicauda*. *Ibis* 153:789–805.

Jaramillo A (2005) Aves de Chile. Lynx ediciones, Barcelona, 240 pp.

Kotrschal A, Ilmonen P & D J Penn (2007) Stress impacts telomere dynamics. *Biol. Lett.* 3, 128–130. doi:10.1098/rsbl.2006.0594

Lack D (1968) Ecological adaptations for breeding in birds. Methuen, London.

Lansdorp P M (2005) Major cutbacks at chromosome ends. *Trends in Biochemical Sciences* 30: 388–395.

Maynard Smith J (1978) Optimization in evolution. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 1978. 9:31–56

Maynard Smith J (1977) Parental investment: a prospective analysis. *Animal Behaviour*, 25, 1–9.

Mitrus C, Mitrus J & M Sikora (2010) Sex Differences in the Rate of Food Provisioning to Nestlings Red-Breasted Flycatchers (*Ficedula parva*). *Annales Zoologici Fennici* 47:2, 144–148

Monaghan P (2010) Telomeres and life-histories: the long and short of it. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1206:130–142.

Moreno J, Merino S, Vásquez R & J Armesto (2005) Breeding biology of the thorn-tailed rayadito (*Furnariidae*) in south-temperate rainforests of Chile. *The Condor* 107(1):69–77

Moreno J, Merino S, Lobato E, Rodríguez-Gironés M A & R Vásquez (2007) Sexual dimorphism and parental roles in the thorn-tailed rayadito (Furnariidae). *The Condor* 109(2):312-320.

Odum E P & E J Kuenzler (1955) Measurement of territory and home range size in birds. *Auk* vol. 72: 128-137

Olovnikov AM (1973) A theory of marginotomy. *Journal of Theoretical Biology*, 41:181–190.

Olovnikov A M (1996) Telomeres, telomerase, and aging: Origin of the theory. *Experimental Gerontology*. Vol.31, 4:443–448. doi:10.1016/0531-5565(96)00005-8

Priest N K, Mackowiak B, Promislow DEL (2002) The role of parental age effects on the evolution of aging. *Evolution* 56:927–935.

Quirici V, Venegas C I, González-Gómez P L, Castaño-Villa G J, Wingfield J C & R A Vásquez (2014) Baseline corticosterone and stress response in the Thorn-tailed Rayadito (*Aphrastura spinicauda*) along a latitudinal gradient. *General and Comparative Endocrinology* 198: 39-46.

Quirici V, Guerrero C J, Krause J S, Wingfield J C & R A Vásquez (2016) The relationship of telomere length to baseline corticosterone levels in nestlings of an altricial passerine bird in natural populations. *Frontiers in Zoology*. 13:1 DOI 10.1186/s12983-016-0133-5

Ralph C J, Geupel G R, Pyle P, Martin, T E, DeSante D F & B Milá (1996) Manual de métodos de campo para el monitoreo de aves terrestres. Gen. Tech. Rep.PSW-GTR-159. Albany,CA: Pacific Southwest Research Station, Forest Service, U.S. Department of Agriculture, 46 p.

Rauter C M, Brodmann P A & H U Reyer (2000) Provisioning behavior in relation to food availability and nestling food demand in the Water Pipit *Anthus spinoletta*. *Ardea* 88(1): 81-90.

Remsen J V (2003) Family Furnariidae (ovenbirds). En: Christie DA, Elliott A, del Hoyo J, editores. *Handbook of the Birds of the World. Broadbills to Tapaculos*. Vol. 8. Lynx Edicions, Barcelona, España.

Reznick D, Nunney L & Tessier A (2000) Big houses, big cars, superfleas and the costs of reproduction. *Trends in Ecology and Evolution* 15: 421–425.

Rozzi R, Massardo F, Mansilla A, Anderson CB, Berghöfer A, Mansilla M, Gallardo MR, Plana J, Berghöfer U, Arango X, Russell S, Araya P, Barros E (2007) La Reserva de Biosfera Cabo de Hornos: un desafío para la conservación de la biodiversidad e implementación del desarrollo sustentable en el extremo austral de América. *Anales del Instituto de la Patagonia* 35: 55-70

Salomons H M, Mulder G A, Van de Zande L, Haussmann M F, Linskens M H K & S Verhulst (2009) Telomere shortening and survival in free-living corvids. *Proc Biol Sci.*; 276: 3157–3165. doi: 10.1098/rspb. 2009.0517 PMID: 19520803

Sasva'ri L (1986) Reproductive Effort of Widowed Birds. *Journal of Animal Ecology*, Vol. 55, no 2, pp. 553-564

Scott NM, Haussmann MF, Elsey RM, Trosclair PL & CM Vleck (2006) Telomere length shortens with body length in Alligator mississippiensis. *Southeastern Naturalist* 5: 685–692.

Stearns S C (1992) *The evolution of life histories*. Oxford: Oxford University Press.

Trivers R L (1972) Parental investment and sexual selection. En B. Campbell (Ed.), *Sexual selection and the descent of man, 1871-1971* (pp. 136-179). Chicago, IL:Aldine. ISBN 0-435-62157-2

Trumbo ST (2009) Age-related reproductive performance in the parental burying beetle, *Nicrophorus orbicollis*. *Behav Ecol* 20:951–956

Sasva'ri L (1986) Reproductive Effort of Widowed Birds. *Journal of Animal Ecology*, Vol. 55, No. 2, pp. 553-564

Romero L M (2004) Physiological stress in ecology: lessons from biomedical research. *Trends Ecol Evol* 19:249–55.

Villagrán C, Armesto JJ, Hinojosa LF, Cuvertino J, Pérez C & C Medina (2004) El enigmático origen del bosque relicto de Fray Jorge. En Squeo F A, Gutiérrez J R y Hernández I R (eds) *Historia natural del parque nacional bosque Fray Jorge*: 173–185. La Serena, Chile: Universidad de La Serena Ediciones.

Von Zglinicki T (2002) Oxidative stress shortens telomeres. *Trends in Biochemical Sciences* 27:339–344.

Wang Z, Rhee DB, Lu J, Bohr CT, Zhou F, Vallabhaneni H, de Souza-Pinto N C & Y Liu (2010) Characterization of Oxidative Guanine Damage and Repair in Mammalian Telomeres. *PLoS Genet* 6(5): e1000951. doi: 10.1371/journal.pgen.1000951

Wedell N, Kvarnemo C, Lessells C K M & T Tregenza (2006) Sexual conflict and life histories. *Animal Behaviour* 71: 999–1011.

Williams G C (1966) Natural selection, the cost of reproduction and a refinement of Lack's principle. *American Naturalist*. 100: 687–690.

Wunderle J M Jr. (1994) Census methods for Caribbean land birds. Gen. Tech. Rep. SO-98. New Orleans, LA: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station. 26 p.

Yoon J, Sillett T S, Morrison S A & C K Ghalambor (2012) Breeding density, not life history, predicts interpopulation differences in territorial aggression in a passerine bird. *Animal Behaviour* 84 515-521

Young R C, Kitaysky A S, Haussmann M F, Descamps S, Orben R A, Elliott K H & A J Gaston (2013) Age, Sex, and Telomere Dynamics in a Long-Lived Seabird with Male-Biased Parental Care. *PLOS ONE* 8(9):e74931. doi:10.1371/journal.pone.0074931

Zeichner S L, Palumbo P, Feng Y R, Xiao X, Gee D, Sleasman J, Goodenow M, Biggar R & D Dimitrov (1999) Rapid Telomere Shortening in Children. *Blood*, Vol 93, No 9: pp 2824-2830