



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**Historia natural del azulejo (*Sialia mexicana*) en el Parque  
Nacional La Malinche (PNLM): sistema de apareamiento  
y crianza.**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**BIÓLOGA**

**P R E S E N T A:**

**IRENE GAONA GORDILLO**



**DIRECTOR DE TESIS:  
DR. CONSTANTINO DE JESÚS MACÍAS  
GARCIA**

**2014**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

1. Datos del alumno

Apellido paterno  
Apellido materno  
Nombre(s)  
Teléfono  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Ciencias  
Carrera  
Número de cuenta

2. Datos del tutor

Grado  
Nombre(s)  
Apellido paterno  
Apellido materno

3. Datos del sinodal 1

Grado  
Nombre(s)  
Apellido paterno  
Apellido materno

4. Datos del sinodal 2

Grado  
Nombre(s)  
Apellido paterno  
Apellido materno

5. Datos del sinodal 3

Grado  
Nombre(s)  
Apellido paterno  
Apellido materno

6. Datos del sinodal 4

Grado  
Nombre(s)  
Apellido paterno  
Apellido materno

7. Datos del trabajo escrito.

Título  
Subtítulo  
Número de páginas  
Año

1. Datos del alumno

Gaona  
Gordillo  
Irene  
55441823 /56229044  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Ciencias  
Biología  
305293790

2. Datos del tutor

Dr.  
Constantino de Jesús  
Macías  
García

3. Datos del sinodal 1

Dra.  
Blanca Estela  
Hernández  
Baños

4. Datos del sinodal 2

Dr.  
Fausto René  
Beamonte  
Barrientos

5. Datos del sinodal 3

M. en C.  
Cecilia  
Cuatianquiz  
Lima

6. Datos del sinodal 4

Mtra.  
Bibiana Carolina  
Montoya  
Loaiza

7. Datos del trabajo escrito.

Historia natural del azulejo (*Sialia mexicana*)  
en el Parque Nacional La Malinche (PNLM):  
sistema de apareamiento y crianza.  
69 págs.  
2014

*Para el físico, el exigente, el ejemplo, el que buscaba y cuestionaba el porqué de todo, el que sin importar que te motivaba a salir adelante,*

*Para mi padre.*

*Para el médico, el amigo, el héroe, el caritativo, el maestro, el de la infinita paciencia,*

*Para mi abuelo.*

Un especial agradecimiento al Dr. Constantino de Jesús Macías García. No sólo por permitirme entrar a su laboratorio sino por nunca perder la fe en mí. Por la infinita paciencia y dedicación a lo largo del trabajo, el enseñarme y explicarme cada duda que me pudiera surgir. El motivarme a seguir adelante aun cuando los obstáculos fueron muchos o muy difíciles. Por ser el maestro, el amigo. Porque de él me llevo una infinidad de experiencias, conocimientos y nuevas habilidades. Por ser tan importante en mi formación como bióloga y por mostrarme lo increíble de la conducta. Gracias.

A la M. en C. Cecilia Cuatianquiz Lima. Cecilia gracias no solo por toda la infinita ayuda que me brindaste al revisar esta tesis sino también en campo ya que jamás me juzgaste. Porque nunca te diste por vencida conmigo cada vez que había que muestrear, que me enseñaste las técnicas para poder llevar a cabo este trabajo. Por tus conocimientos, por tus charlas, por la experiencias que compartimos, por tu excelente humor. Porque sé que más allá del trabajo profesional tuve la oportunidad de conocerte y de tener una amiga invaluable.

A la Dra. Valentina Islas Villanueva. Gracias Valentina por ayudarme con todo el trabajo de laboratorio. Por tener la dedicación y el tiempo de explicarme y enseñarme cada uno de los procedimientos; conocimientos que son invaluable. Por tu buen humor y tu disposición, por tu ayuda. Por la charla y la amistad en esas horas interminables de laboratorio.

A Edgar G. Ávila Luna. Por el apoyo en las salidas al campo para la revisión de las cajas nido en el Parque Nacional la Malinche, por el apoyo en los experimentos de PCR, la ayuda tanto logística como administrativa y en la compra de material.

Al M.en C. José Rubén Pérez Ishiwara. Gracias por el apoyo logístico que me brindó en el trabajo en el laboratorio de Interacción Planta Animal, en particular en el apoyo del desarrollo de técnicas moleculares, así como la gran ayuda que me brindó cuando los experimentos nos funcionaban.

A las increíbles personas que conocí en el CTBC, Fally, René, Amando, Román, Iván. Por sus increíbles charlas y momentos amenos. Porque además de ser mis colegas ahora son mis amigos.

A los revisores de esta tesis por sus comentarios y correcciones, que más allá de ser una crítica los tomé como una forma de crecimiento profesional.

A mi familia, mamá, Tuche y Salvador. Gracias por siempre estar ahí a pesar de los momentos tan difíciles que hemos tenido que atravesar. Gracias por estimular mis ganas de saber más. Por interesarse por el tema de este trabajo. Por la enorme paciencia a lo largo del desarrollo del mismo. Por presionarme a seguir adelante y a no darme por vencida. Por siempre estar orgullosos de mí.

A mi abuela, Bony. Gracias por siempre ser un apoyo a lo largo de mi vida y por compartir experiencias tan increíbles conmigo. Por siempre tener tiempo para escucharme. Por siempre manifestar su punto de vista y ayudarme a buscar una solución a mis problemas. Por ser una persona tan importante en mi vida. Por siempre demostrarme tu cariño.

A mi familia. Por siempre tuvieron tiempo para escuchar de mi trabajo. Por sus dudas y comentarios acerca de la Biología. Por siempre estar en las buenas y en las malas.

A Edgar y Betzabé. Porque más allá de brindarme su apoyo tuve la oportunidad de compartir en campo lo que la biología significa para mí, aun cuando ésta no es su total interés. Por siempre estar conmigo en las buenas y en las malas y por motivarme a superarme y a salir adelante. Por ser la familia que yo escogí y que me escogieron. Por permitirme ser parte de sus vidas y contribuir de cualquier manera a su desarrollo como personas tal y como ustedes lo hicieron y hacen conmigo.

A Iván. Gracias por tu infinito apoyo en campo así como constante motivación. Por apoyarme en todo lo que estuviera a tu alcance sin importar que.

A Gigio, Vick, Miri, Ana, Alejandro y Jimmy. Por ser tan increíbles amigos aun cuando la vida nos ha puesto caminos diferentes. Por escuchar de mis interminables pláticas sobre la Biología.

A Sofía, Emiliano, Kenji y Aaron. Mis biólogos favoritos. Gracias por compartir la misma pasión que yo comparto por esta carrera. Por sus conocimientos y por esas charlas que no tienen precio. Por estar conmigo a lo largo de esta etapa. Por esas prácticas de campo. Por los trabajos en equipo.

A Peter por siempre apoyarme y motivarme a terminar la tesis. Por su infinita paciencia.

A todas aquellas personas que he conocido a lo largo de mi vida y que de alguna manera influenciaron en mi formación tanto personal como académica.

Índice	
Resumen	7
1. Introducción	8
1. 1 Tipos de crianzas	8
1. 1. 1 Crianza cooperativa	9
1. 1. 2 Evolución de la crianza cooperativa	12
1. 2 Historia natural de <i>Sialia mexicana</i>	14
1. 2. 1 Características de la especie	14
1. 2. 2 Distribución de la especie	15
1. 2. 3 Conducta	15
1. 2. 4 Reproducción y crianza	16
1. 2. 5 Presencia y manifestación de la crianza cooperativa	16
1. 2. 6 Promiscuidad	19
2. Objetivos	19
3. Justificación	19
4. Metodología	20
4. 1 Parque Nacional La Malinche o Matlalcuéyotl	20
4. 1. 1 Factores abióticos	21
4. 1. 2 Factores bióticos	21
4. 2 Sitio de estudio	22
4. 2. 1 San José Teacalco	23
4. 2. 2 Los Pilares	25
4. 2. 3 Guadalupe Altamira	26
4. 2. 4 Francisco Javier Mina	27
4. 3 Cajas nido	28
4. 3. 1 Especificaciones	28
4. 3. 2 Trampas	29
4.4 Observaciones y toma de muestra sanguíneas y medidas morfométricas en campo	31
4.5 Estructura genética y grado de parentesco	33
4. 5. 1 Extracción y limpieza del ADN	33
4. 5. 2 PCR	34
5. Resultados	35
5.1 Resultados del campo	35
5.2 Resultados de los análisis del laboratorio	36
6. Análisis de resultados	40
7. Discusiones	40
8. Conclusiones	41
9. Bibliografía	43
10. Apéndices	45

## RESUMEN

Nos propusimos describir las condiciones bajo las cuales *Sialia mexicana* (azulejo de garganta azul) se reproduce y cría a sus pollos en el Parque Nacional La Malinche (PNLM). Aprovechamos la presencia de diferentes tipos de bosque (joven quemado en recuperación, joven altamente perturbado, joven reforestado, maduro) para evaluar de manera preliminar el comportamiento reproductivo de los azulejos; sitios con diferente disponibilidad de anidación, niveles de depredación, perturbación, etc. Para dar seguimiento los individuos colocamos 115 cajas nido. El primer año registramos la conducta de los individuos en cada nido y el segundo año evaluamos las relaciones de parentesco entre los miembros de cada familia (padre, madre e hijos, padre e hijos, padre, ayudante e hijos y madre e hijos). Encontramos que la crianza cooperativa es frecuente en esta población (50% y 28.6% de los nidos en 2012 y 2013 respectivamente); los ayudantes fueron siempre machos. El parasitismo intraespecífico, considerado raro en esta especie, fue detectado en un nido (14.3%). Un individuo identificado como ayudante en 2012 resultó emparentado con uno de pollos del mismo nido en 2013, mientras que el padre putativo no estaba emparentado con ese pollo. Como en poblaciones más norteñas, registramos muchos casos de paternidad extrapareja.

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Tipos de crianza

En una reciente clasificación de Cockburn (2006) propuso que la crianza en aves puede ser dividida de la siguiente manera: aquellos que no proporcionan ningún tipo de crianza: (a) parasitismo por parte de la cría y, aquellos en los que sí se presenta algún tipo de cuidado: (a) cuidado uniparental (cuidado exclusivamente por parte del macho o de la hembra), (b) cuidado biparental o pareado, (c) crianza cooperativa, de tipo facultativo u obligado, aunque consideran que el obligado solo se presenta en casos muy raros, por ejemplo: *Corcorax melanorhamphos* la cual es un ave donde si no hay una ayuda no hay oportunidad de un éxito reproductivo (Hatchwell 2009) y, (d) grupos filopátricos donde no existe una crianza cooperativa. Cabe señalar que las relaciones filogenéticas así como las condiciones ambientales son factores que están jugando un papel importante en la manifestación de los diferentes tipos de cuidado (diferentes especies de una misma familia pueden presentar patrones de comportamiento distinto).

Un caso en particular sobre el parasitismo intraespecífico donde la filogenia y el ambiente están influyendo para la manifestación o no de dicha conducta es en el caso de los ictéridos. Según análisis filogenéticos presentados por Mermoz & Ornelas (2004) concluyeron que, al menos para este género, ha sido una condición presente durante algún tiempo de su evolución. Proponen que tres de las cinco especies parasitarias del dicho género son del tipo generalistas donde pueden tener hasta 200 especies de hospederos de donde elegir. También señalaron que una de las características que les permiten tener tanto éxito como parásitos, en comparación con otros miembros de la familia Icteridae, es que sus huevos presentan un cascarón más delgado lo que, junto con un rápido desarrollo embrionario, permite que tengan una eclosión mucho más temprana en contraste con sus compañeros de nido; característica que les permite tener un mayor acceso a la atención de los padres (cuidado, alimentación). Reportaron que en los últimos 50 a 150 años que las especies parasitarias de *Molothrus* han expandido su distribución así como han aumentado el número de hospederos que utilizan.

El cuidado biparental es la conducta prevaleciente en aves; el 75% de las especies conocidas lo presentan, aunque se infiere que podría alcanzar el 81%. El 1% de las especies presentan parasitismo o utilizan fuentes geotermales para el desarrollo de sus crías. Otro 1% presentan cuidado uniparental por parte del macho. El 8% del total de las especies presentan un cuidado uniparental por parte de la hembra. Y el 9% restante de éstas presentan crianza cooperativa, ocupando el segundo lugar en métodos de crianza (Cockburn 2006).

Un factor relacionado con la filogenia que puede determinar el tipo de cuidado parental es la condición atricial (esta condición hace referencia a todas aquellas especies que nacen con los ojos y conductos auditivos cerrados y con poca movilidad y capacidad de termoregular)/ precocial (especies que eclosionan con los sistemas motores y sensoriales mucho más desarrollados y son capaces de termoregular a las pocas horas de nacidos). Dicha condición marca una gran diferencia, por ejemplo: 257 de 1052 especies precociales (24%) presentan cuidado uniparental, mientras que 605 de 8401 de las especies atriciales (7%) presentan este patrón. En contraste, dentro de la crianza cooperativa el papel se invierte: 4% de las especies precociales la presentan contra el 11% de las atriciales.

Un sistema particularmente llamativo por las implicaciones que conlleva es la crianza cooperativa, dicho comportamiento se puede considerar como una forma de socialidad. En el caso de los sistemas biológicos podemos observar que existen especies de insectos eusociales que son estériles (como por ejemplo las hormigas) hasta aquellas de mayor tamaño como un roedor o un primate, los cuales no necesariamente son estériles (Griffin & West 2002). La eusocialidad, según Bruda *et al.* (2000), se refiere a aquella condición donde existe: (a) una monopolización de la reproducción por parte de algunos individuos de la comunidad, (b) solapamiento entre las generaciones y (c) una cooperación en el cuidado de las crías. Definido de esta manera, la eusocialidad puede ser considerada como un sinónimo de la crianza cooperativa, aunque la diferencia radica en cómo se distribuye el éxito de la reproducción de los miembros del grupo tomando en cuenta su tiempo de vida (Bruda *et al.*

2000). La única diferencia notable de la eusociabilidad entre los insectos, abejas u hormigas y los mamíferos (como por ejemplo: la rata topo desnuda), es el término de castas. Dentro de los insectos las castas son de tipo permanente (unos individuos permanecen estériles durante toda su vida, mientras otros existen simplemente para la reproducción) mientras que en los mamíferos son de tipo transitorias, es decir, dentro de la población los individuos tienen la potencialidad de reproducirse, ya que no son estériles (Bruda *et al.* 2000). Si incluimos dicha condición a la definición inicial de crianza cooperativa es que nos podemos percatar que dicho término encaja mejor con la eusociabilidad sin castas, condición semejante a la de los mamíferos que la presentan.

Particularmente en aves, una de las formas de mejorar el desempeño en un actividad, en este caso en la reproducción y la crianza exitosa, es a través de la experiencia personal pero también a través de la observación o teniendo una participación como ayudante (DuVal 2013). Se ha observado en muchas especies de aves que algunos individuos no reproductores contribuyen al cuidado de los pollos de otras parejas, lo que se conoce como crianza cooperativa.

Se han establecido diferentes teorías para poder explicar la crianza cooperativa como una conducta que contribuye a la adecuación de aquellos individuos que la presentan. Una de ellas fue la propuesta por Hamilton (1964), y es conocida como la adecuación inclusiva; dicha idea señaló que ésta puede ser imaginada como la adecuación personal de un individuo debida a su producción de descendientes adultos, despojada de todos los componentes que pueden ser adjudicados al ambiente social del individuo, pero agregando a los individuos hijos de otros, que sobreviven como consecuencia de sus actos altruistas, pero contados no como unidades, sino como fracciones calculadas a partir del parentesco (por ejemplo, promover la supervivencia de dos sobrinos es equivalente a promover la de un hijo). Otra de las teorías para explicar dicho comportamiento es que se promueve un incremento en el tamaño del grupo. Ésta señala que los individuos tienen mayor esperanzas de sobrevivir y reproducirse en grupos de tamaño considerable, no solo por el efecto de dilución de los riesgos de depredación, sino también por el reclutamiento de nuevos individuos (Kokko *et al.* 2001, Riehl 2013).

### 1.1.1 Crianza cooperativa

El término de crianza cooperativa hace referencia a un sistema de crianza donde los pollos que ya han crecido permanecen con los padres, dentro de su territorio natal, para ayudarlos en la defensa del territorio, construcción del nido y la alimentación, protección, crianza de su nueva puesta (Kraaijeveld & Dickinson 2001, Hatchwell 2009, DuVal 2013, Wild & Koykka 2014). Así mismo, Cockburn (2006) estableció que una especie se puede considerar cooperativa cuando más del 10% de los nidos están atendidos por más de dos individuos (Cockburn 2006, Hatchwell, 2009).

Con los estudios de filogenética que se han llevado a cabo en los últimos años, se ha señalado que existen 852 especies con crianza cooperativa; especies que representan el 9% de la avifauna total (Cockburn 2006, Charmantier *et al.* 2007, Hatchwell 2009, Riehl 2013). En dichos estudios se hacen inferencias en algunas especies que habitan en las regiones tropicales y subtropicales ya que sus hábitos hacen complicado su estudio (como por ejemplo: el hecho de que habiten en las copas de los árboles); inferencias con la que diferentes especies de una familia podrían estar presentando comportamientos similares (Covas *et al.* 2004, Ligon & Burt 2004, Cockburn 2006, Hatchwell 2009). A continuación presentamos un ejemplo de la filogenia sobre la aparición de la crianza cooperativa:



Figura 1a. Se muestra uno de las posibles soluciones a la evolución. En cuadrado se presenta la aparición de la crianza cooperativa y en círculo todas las desapariciones. Para hacerlo consideramos que el clado presentaba esta conducta si al menos una de las especies dentro de él presentaba ayudantes (árbol obtenido de Jönsson y Fjeldså [2006] y las especies con crianza cooperativa se revisaron de Riehl [2013]).

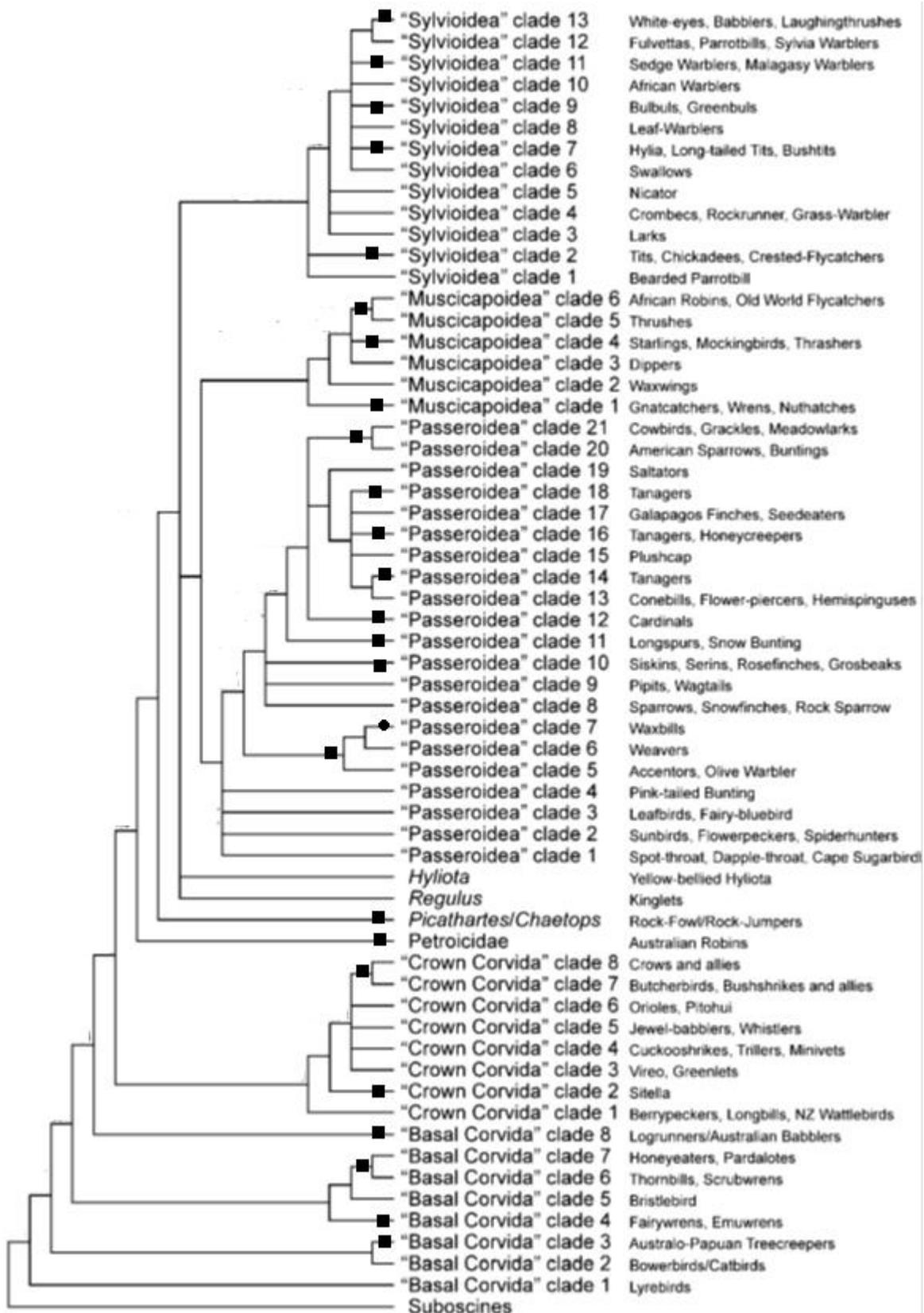


Figura 1b. Se muestra uno de las posibles soluciones a la evolución. En cuadrado se presenta la aparición de la crianza cooperativa y en círculo todas las desapariciones. Para hacerlo consideramos que el clado presentaba esta conducta si al menos una de las especies dentro de él presentaba ayudantes (árbol obtenido de Jønsson y Fjeldså [2006] y las especies con crianza cooperativa se revisaron de Riehl [2013]).

La hipótesis de que la condición de crianza cooperativa apareció tempranamente (Figura 1a) y que los cambios subsecuentes fueron mayoritariamente desapariciones, requiere 25 cambios de estado dentro del linaje de los Oscinos, lo que es igualmente parsimonioso que la hipótesis de 25 eventos independientes de aparición de crianza cooperativa (Figura 1b). En esta reconstrucción hemos usado la ocurrencia de reportes de crianza cooperativa en al menos una especie de cada linaje como evidencia de que todo el linaje presenta crianza cooperativa, lo que seguramente subestima el número de eventos de desaparición del carácter en la filogenia completa (es decir; seguramente algunos géneros serían polimórficos respecto al sistema de crianza, lo que no podemos saber en ausencia de descripciones del sistema de crianza de todas las especies representadas aquí únicamente a nivel de género). Por tanto, nosotros proponemos provisionalmente que la crianza cooperativa ha aparecido independientemente en muchos linajes de pájaros oscinos, incluyendo el de los tordos y azulejos.

Por otra parte, Riehl (2013) señaló que solo se tiene información de 213 especies de aves sobre la relación genética que existe dentro de un grupo de individuos, misma información que ha sido recopilada mediante análisis moleculares. Ésta permitió hacer la siguiente clasificación de las especies con crianza cooperativa (n=213): (a) pareja de aves solamente con ayudantes que presentan relaciones de parentesco (n=118), (b) pareja de aves con ayudantes sin parentesco o tanto con ayudantes con parentesco como sin parentesco (n=40) y (c) poligamias cooperativas (esta hace referencia a la crianza en grupos sociales estables donde existen al menos tres adultos que comparten la reproducción y la crianza de un mismo nido, n=55), ésta a su vez se dividen en: grupos donde los individuos reproductores no presentan relación de parentesco (n=31) y grupos donde los individuos reproductores pueden o no presentar relaciones de parentesco (n=24). La promiscuidad, el parasitismo intraespecífico y la adición de nuevos miembros que no poseen vínculos sanguíneos con los grupos familiares a los que se unen pueden llegar a dañar las relaciones genéticas dentro del mismo al grado de que los beneficios indirectos (selección de parentesco) se vuelven insignificantes. Por otro lado, la formación de grupos polígamos con manifestación de la cooperación está siendo favorecida más por los beneficios mutuos que por el conflicto sobre la reproducción. Todas estas evidencias sugieren que los beneficios directos de la crianza cooperativa sobre la adecuación son lo suficientemente altos para mantenerla aun cuando los vínculos familiares son bajos, en especial en aquellas especies donde la crianza independiente es muy complicada o cuando los individuos de la especie tienen a vivir por muchos años (Riehl 2013). La pareja se encarga del cuidado y defensa del nido en la época de crianza mientras que los grupos familiares son los encargados de defender el territorio en las temporadas cuando no es la época reproductiva (Keyser *et al.* 2004, Charmantier *et al.* 2007).

En comparación con las especies que no presentan este tipo de conducta, las aves con crianza cooperativa tienden a vivir en lugares donde el invierno es más bien cálido y no hay muchas fluctuaciones de temperatura; dicha condición permite que las aves se vuelvan residentes. El convertirse en residentes provoca una disminución en los lugares de anidación (Arnold & Owens 1999, Cockburn 2006).

### 1.1.2 Evolución de la crianza cooperativa

Charmantier *et al.* (2007) señalaron que existen diferentes fuerzas que favorecen la crianza cooperativa, entre ellas figuran: (a) un retraso en la dispersión por parte de los ayudantes, (b) limitaciones ambientales (altas tasas de depredación, poca disponibilidad y calidad del espacio para anidar, escasez de alimentos u otros recursos) y/o (c) la posibilidad de aumentar su adecuación inclusiva. Dichas variaciones ambientales, así como el costo asociado y el resultado de dicha reproducción son los principales factores que están afectando la decisión de los individuos en cuanto a retrasar su dispersión o reproducción independiente (Arnold & Owens 1999, Covas *et al.* 2004). Se ha demostrado que dentro de las limitaciones ambientales que favorecen la crianza cooperativa se encuentran el espacio disponible y de buena calidad para la anidación así como la cantidad de alimento disponible (Arnold &

Owens 1999). Por su parte, cuando los machos fracasan al momento de reproducirse y deciden ayudar en otro nido se le conoce como “ayuda redirigida”; dicha ayuda no implica un sacrificio por parte del macho ya que éste no tiene oportunidad de criar independientemente (Kraaijeveld & Dickinson 2001). Es decir, los ayudantes se presentan cuando el balance costo-beneficio pesa en contra de la dispersión y el intento de criar independientemente y a favor de retrasar la crianza, posponer su reproducción y la crianza cooperativa (Hatchwell 2009).

Riehl (2013) señaló que probablemente la crianza cooperativa evolucionó mediante dos vías: (a) un retraso en la dispersión del nido parental para obtener un sitio para la reproducción de los críos (Covas *et al.* 2004), el cual conduce a la formación de grupos familiares donde la selección de parentesco (*kin selection*) es la principal promotora de la cooperación y (b) una competencia entre individuos no emparentados, la cual condujo a grupos polígamos donde existió una oportunidad de reproducción más o menos igualitaria. En el caso de la formación de los grupos familiares, la crianza cooperativa se presentó en grupos monógamos donde existía una relación de parentesco y dicha relación promovió este comportamiento. En caso de que la hembra no estuviera emparentada con el ayudante se infiere que pudieron surgir los grupos sociales. Se cree que este modelo se desarrolló a partir del parasitismo intraespecífico, donde ambas partes se vieron beneficiadas; los intrusos se quedaron a contribuir a la crianza y alimentación del nido y los dueños del nido permitieron el depósito de los huevos así como a sus progenitores, dicho fenómeno se manifiesta cuando el costoso de crianza es bajo y los beneficios de defender y proveer al nido son altos.

Específicamente para aquellos grupos donde los miembros no están emparentados, Riehl (2013) señaló que las principales razones por las que la crianza cooperativa entre individuos sin relación se presenta son: (a) un retraso en la dispersión con altas tasas de mortandad y promiscuidad; al existir altas tasas de muerte dentro del grupo, los ayudantes podrían adquirir un estatus reproductivo más rápidamente, en este caso se pueden observar los padrastros, (b) una dispersión en busca de nuevos grupos; al no estar emparentados el macho migrante podría obtener un acceso a la hembra residente y en caso de no tener éxito permanecer como ayudante del nido y posteriormente buscar un estatus reproductivo y la posible formación de tríos, y (c) formación de coaliciones, esto sucede cuando individuos del mismo sexo se unen para ganar un territorio y así poder compartir la reproducción y crianza.

Ligon & Burt (2004) mencionaron que el cuidado alop parental habría evolucionado primeramente para promover una baja en la tasa de la mortalidad anual de los individuos de una especie así como promover ambientes más estables, (hábitat con condiciones de alimentación y espacios disponibles) lo cual promovió que las aves se volvieran sedentarias. Al existir un mayor sedentarismo se produjo una saturación del hábitat, dando como resultado un proceso de retroalimentación positiva. Dicha saturación condujo a una calidad óptima del espacio disponible muy limitado para la crianza independiente la cual es un factor decisivo en el retraso o no de la reproducción. Dicha teoría se basa en la hipótesis de saturación propuesta por Selander (1964): donde las crías permanecen en su territorio natal, esperando encontrar algún lugar disponible cuando las oportunidades de dispersión y de la reproducción y crianza independiente son limitadas o nulas en ambientes donde la saturación es muy alta (Hatchwell 2009). La condición de ser atriciales, la cual se encuentra presente en muchos linajes de aves, jugó un papel importante en la evolución de la crianza cooperativa. Ya que “[. . .] el ser atriciales y el alto nivel de inversión parental que se requiere permite que la ayuda sea una estrategia adaptativa” (Hatchwell 2009). Aunque la cooperación también se ha registrado en el 4% de las aves precociales, por ejemplo especies de las familias Rheidae, Anserantidae, Psophiidae, entre otras (Cockburn 2006, Hatchwell 2009).

Los “tipos de personalidad”, la conducta agresiva del macho, el ambiente mismo, la herencia del territorio para la crianza e inclusive la cultura de las aves podrían estar influenciando en la evolución y manifestación de esta conducta (Charmantier *et al.* 2007). Es decir, en muchas especies se tiene una predisposición genética para la manifestación de dicho comportamiento pero al final es el

ambiente el que está determinando la manifestación o no de la crianza cooperativa.

Una hipótesis que podría explicar la decisión de ser ayudante vista a largo plazo fue la propuesta por Covas & Griesser (2007): la hipótesis adaptativa del retraso en la dispersión, ésta trata a la dispersión como una decisión que toma en cuenta el costo-beneficio de dicha acción a largo plazo (sobre el tiempo de vida de un individuo) más que a corto plazo (la oportunidad de llenar una vacante para su reproducción inmediata) (Hatchwell, 2009). Dickinson *et al.* (1996) también propusieron las siguientes razones: cuando los machos no son capaces de la crianza independiente, falla en el nido, pérdida de la hembra o cuando no hubo éxito en conseguirla así como la incapacidad de éste por proteger su paternidad. A pesar de que es una conducta más o menos común, cuando uno de los padres muere, los ayudantes adultos dejan de prestar sus servicios en el nido (Dickinson *et al.* 1996). El ayudante lo abandona ya que la no es tan fuerte con los críos y el costo aumenta demasiado y la adquisición de experiencia no lo compensa.

Dentro de los beneficios en la adecuación que pueden estar promoviendo la crianza cooperativa se mencionan: (a) los beneficios inmediatos: algunos ayudantes participan activamente en la reproducción durante el periodo de ayuda, en el caso de que la hembra no este emparentada con el ayudante, (b) los beneficios indirectos: si los ayudantes están emparentados con la pareja reproductora sus genes podrían estarse transmitiendo indirectamente, y (c) los beneficios tardíos directos: el hecho de retrasar su reproducción y adquirir experiencia les podría estar confiriendo habilidades para tener una reproducción exitosa en el futuro y en el caso de que no estuvieran emparentados, el ayudante podría ganar un estatus reproductivo en caso de que el macho reproductor falleciera o si la hembra decidiera cambiar de pareja (DuVal 2013, Riehl 2013). Esta conducta se ve promovida cuando el costo de retardar la crianza se ve compensada por los beneficios indirectos (Wild & Koykka 2014). Riehl (2013) propuso que cuando las ventajas de mantener un grupo de individuos sin relación parental son lo suficientemente altas, los ayudantes se pueden beneficiar simplemente contribuyendo al aumento de propio grupo, tanto por el hecho de que la eliminación de la competencia es más fácil, el acceso a recursos se simplifica, y la depredación se ve repartida entre las miembros del grupo. Por ejemplo, en *Malarus splendens* se ha encontrado que aquellas hembras que reciben ayudantes en su nido presentan un índice de mortandad significativamente más bajo (76%) que las de los nidos sin ayudantes (55%) (Rowely & Russell 1990). Por otro lado, Wild y Koykka (2014) señalaron que la crianza cooperativa disminuye cuando existe la posibilidad de una competencia entre los ayudantes y las crías por la herencia del territorio.

En el presente trabajo describimos la historia natural de *Sialia mexicana* en el Parque Nacional La Malinche (PNLM) como una primera aproximación al comportamiento que presenta dicha especie en su distribución sureña.

1.2 Historia natural de *Sialia mexicana* (la historia natural de la especie aquí presentada describe a la de aquellos individuos presentes en los Estados Unidos a menos de que se indique lo contrario [ver referencias en el texto])

El azulejo es un ave perteneciente a la familia Turdidae, la cual a su vez se encuentra dentro del orden de los Paseriformes. (Conabio *et al.* 1996, Keyser *et al.* 2004).

### 1. 2. 1 Características de la especie

Son tordos de tamaño pequeño que se alimentan principalmente de insectos (Fiehler *et al.* 2006). Es un ave que presenta un marcado dimorfismo sexual o son sexualmente dicromáticos, que aun cuando su papel principal es en la reproducción, también se tiene información de que sirve para la identificación de juveniles y adultos (Dickinson *et al.* 1996). Los adultos presentan plumas azul brillante y con bordes frescos, mientras que los juveniles presentan plumas de un color grisáceo y con bordes desgastados, especialmente en machos (Shizuka & Dickinson 2005). Los machos presentan una coloración azul cobalto en las partes superiores de la cabeza, mentón y cuello y en la cola, tiene una media luna en el pecho y en la espalda de color café y el vientre es de color grisáceo. En contraste, las hembras

presentan una coloración más discreta: el abdomen es de color café, la cabeza y garganta son grises, las alas y la espalda presentan una coloración azul mate. Los juveniles presentan una coloración muy parecida a la de la hembra pero tienden a ser más grises y presentan plumas azules en la base de la cola y en las alas (Conabio *et al.* 1996).

Practican el cuidado biparental donde el macho invierte energía en la vigilancia y protección de la hembra con la que se aparean, sobre todo en los días de apareamiento, y así poder asegurar su paternidad (resguardo de la hembra). Se piensa que las hembras tienen cópulas extrapareja porque: (a) el hecho de resistirse a la cópula forzada es más costoso o (b) por la ganancia en cuestiones genéticas o fenotípicas (Dickinson & Leonard 1996). Dickinson y Leonard (1996) registraron que al menos un tercio de los nidos que utilizaron para su estudio presentaron cópulas extrapareja.

### 1.2.2 Distribución de la especie

Habitán en bosques de coníferas de tipo caducifolio o bosque mixto, en regiones abiertas con árboles dispersos y sabanas, en regiones subtropicales y templadas (AOU 1983). Se encuentra restringida a Norteamérica; al oeste de Estados Unidos y al sur de la Columbia Británica hasta el sur de México (Keyser *et al.* 2004). La mayoría de las poblaciones que se localizan al norte de los Estados Unidos son migratorias altitudinales o de corta distancia; la crianza ocurre en la parte sur de la Columbia Británica y Alberta al oeste de Montana y Washington hasta el norte de Baja California, aunque no se presentan en los estados de Nevada, el norte Utah, el sur de Idaho y Wyoming. Se les puede observar en el oeste de Colorado y en la zona adyacente de Utah hasta México. En el verano, estas aves son residentes del bosques del sur y oeste de Colorado (Keyser *et al.* 2004, Spence 2005, Fiehler *et al.* 2006). En México, el azulejo reside todo el año en la misma región tanto en la época reproductiva como no reproductiva, y se les observa en Baja California, Michoacán, Morelos, Puebla y el oeste de Veracruz (Conabio *et al.* 1996), así mismo también se les puede localizar en Tlaxcala.



Figura 2. Distribución de *Sialia mexicana* (Información obtenida y modificada de New World Range Map. (2007). NatureServe. Obtenido el 22 de marzo de 2014 en [http://eol.org/data\\_objects/14496193](http://eol.org/data_objects/14496193), mapa obtenido de Google Maps©, 2014).

### 1.2.3 Conducta

El azulejo mexicano es una especie territorial y socialmente monógama, donde existen cópulas extrapareja. Presenta un parasitismo intraespecífico. Existe un cuidado biparental donde el macho

contribuye con un la mitad de los viajes para la obtención de alimento y en algunos casos se presenta una crianza cooperativa. Debido a que la hembra es la que tiende a dispersarse del territorio natal, como en la mayoría de las aves, (Greenwood 1980), ésta podría ser la razón del porque hay una mayor cantidad de machos ayudantes que de hembras. Los machos son altamente territoriales (Dickinson & Leonard 1996, Dickinson *et al.* 1996, Dickinson 2004, Keyser *et al.* 2004, Shizuka & Dickinson 2005, Fiehler *et al.* 2006, Charmantier *et al.* 2007).

### 1.2.4 Reproducción y crianza (Figura 3)

En áreas no perturbadas los azulejos requieren de cavidades para anidar, mientras que en aquellas zonas donde ha habido perturbación y/o desarrollo urbano las cajas nido han demostrado ser una alternativa (Keyser *et al.* 2004, Duckworth 2006, Fiehler *et al.* 2006).

La construcción de los nidos comienza aproximadamente en marzo. Las hembras son las encargadas de la construcción de este así como de la incubación. Se tienen registros de la puesta del primer huevo entre el 8 de marzo al 2 de mayo y la mayoría de las parejas no presentan más que una puesta exitosa, aunque hay otras establecen otra puesta después de que las primeras crías ya han emplumado (Dickinson & Leonard 1996, Dickinson *et al.* 1996, Kraaijeveld & Dickinson 2001, Duckworth 2006, Fiehler *et al.* 2006). La incubación dura 14 días. Durante el periodo de anidación, los machos son los encargados de proporcionarle alimento a las hembras en el nido y acompañarlas durante el forrajeo (Dickinson & Leonard 1996, Dickinson *et al.* 1996, Kraaijeveld & Dickinson 2001, Keyser *et al.* 2004, Duckworht 2006, Fiehler *et al.* 2006). A partir del día 20 comienzan a aparecen las plumas en los críos (Dickinson & Leonar 1996).

Los machos adultos tienen mayor posibilidad de sobrevivir que las hembras y conforme avanza la temporada el éxito de la puesta va declinando. Si ambos padres sobreviven a la estación, lo más probable es que permanezcan juntos (Dickinson *et al.* 1996, Keyser *et al.* 2004, Fiehler *et al.* 2006).

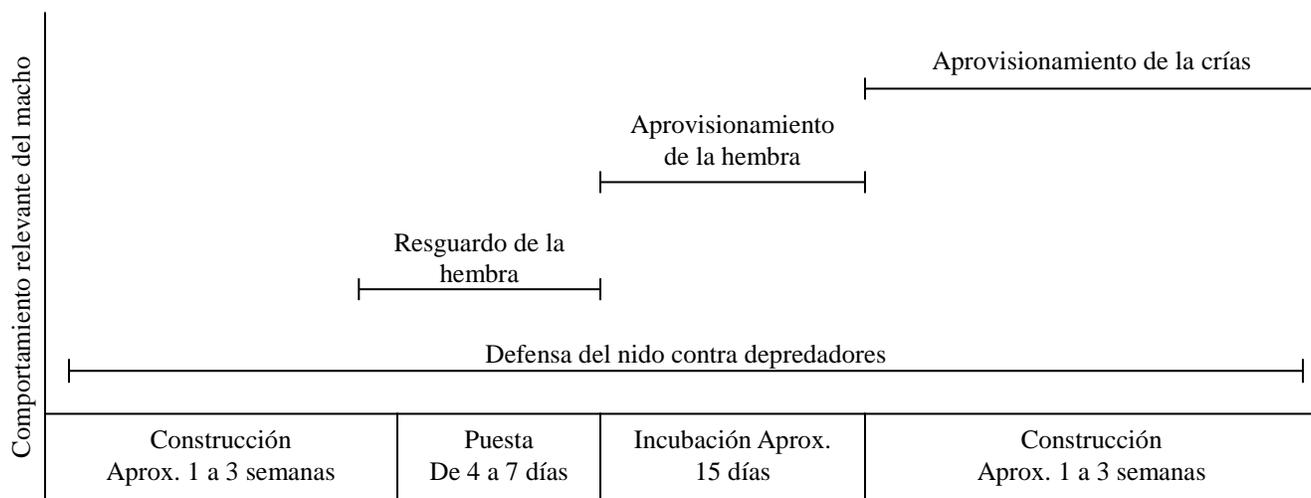


Figura 3. Resumen de las conductas más predominantes del macho durante la reproducción y crianza. (Tomado y traducido de Duckworth, 2006)

### 1.2.5 Presencia y manifestación de crianza cooperativa

En el azulejo mexicano o de garganta azul (*Sialia mexicana*) se ha reportado que en los EEUU entre el 2% y el 14% de los nidos presentan ayudantes. Dichos ayudantes contribuyen en la alimentación de los pollos y a la defensa del nido (Charmantier *et al.* 2007). Los machos tienden a ser más filopátricos que las hembras estos son los que suelen presentarse como ayudantes (Kraaijeveld & Dickinson 2001) Done a su vez, los machos podrían heredar eventualmente el territorio parental. Otro factor que está promoviendo a que los machos se presenten como ayudantes es debido a la diferencia

en las oportunidades entre machos y hembras en cuanto a la reproducción (Riehl 2013). Dickinson *et al.* (1996) obtuvieron que 86.4% fueron ayudantes machos juveniles mientras que el 100% de los ayudantes adultos son de este sexo. Por un lado, los ayudantes adultos ayudan a la crianza de sus hermanos y sobrinos y, por el otro, los juveniles ayudan a sus padres. Kraaijeveld & Dickinson (2001) reportaron que del 3 al 16% de los nidos estudiados presentaron un adulto como ayudante. Las contribuciones de los ayudantes al nido tomando en cuenta si es adulto o juvenil se ha registrado que donde son adultos la contribución de estos es de 33% en la alimentación en contraste con los juveniles que solo contribuyen con el 21% (Dickinson *et al.* 1996).

Por lo regular los ayudantes en del azulejo son machos y tienen algún grado de parentesco con la pareja que pone los huevos (Dickinson 2004, Charmantier *et al.* 2007). Presentar un lazo familiar puede reducir el conflicto sobre la reproducción (Hatchwell 2009), ya que la competencia por llevarla a cabo se ve disminuida (Riehl 2013). En *S. mexicana*, los ayudantes se presentan en nidos dentro a su territorio natal (Charmantier *et al.* 2007), al menos en poblaciones norteñas.

Algunas razón que se ha establecido del porque se presentan los ayudantes dentro de dicha especie es porque han fracasado en su propia puesta o el éxito reproductivo que pudiera alcanzar es muy bajo (Hatchwell 2009), lo que se puede relacionar con el hecho de ser cavadores secundarios, lo que limita la disponibilidad de sitios de anidación. A pesar de que los ayudantes no pueden discriminar a simple vista si el macho es el padre de los críos, ellos pueden llegar a determinar la paternidad dependiendo del comportamiento de la hembra frente a cópulas extrapareja, la cual podrían estar evaluando mediante su experiencia copulando con el hembra (Dickinson 2004). Dependiendo de la respuesta de las hembras ante dichos estímulos podría ser un indicador para los ayudantes en determinar la relación real del macho con las crías; dicha relación podría estar actuando como factor determinante sobre los ayudantes en cuanto invierten en la alimentación del nido (Dickinson 2004). Aun cuando se tiene evidencia sólida de que los ayudantes no tienen paternidad en el nido, Dickinson (2004) señaló que cuando la hembra no tiene relación de parentesco con el ayudante y existen cópulas extrapareja, el ayudante incrementará los viajes de alimentación por el simple hecho de que alguno de los críos podría ser propio.

Dentro de los beneficios directos que los ayudantes obtienen (Tabla 1) figuran la oportunidad de ocupar un territorio vacante o de heredarlo (Rowely & Russell 1990, Dickinson 2004). Charmantier *et al.* (2007) reportaron que sólo el 5.5% de población heredó el territorio de crianza para su propia puesta, pero si solo se consideraba a los ayudantes el porcentaje ascendía hasta un 30%. La crianza cooperativa aumenta la posibilidad de supervivencia cuando se está en grupos familiares, así como la adquisición de nuevas experiencias (Rowely & Russell 1990). Dicha experiencia podría resultar en un mayor éxito reproductivo futuro así como en el aumento en las oportunidades de reproducción (Dickinson 2004). El incremento en el número de descendientes que un individuo puede llegar a producir como consecuencia de ayudar es otro beneficio directo de ser ayudante (Dickinson *et al.* 1996). Los ayudantes podrían estar obteniendo acceso a la hembra sino existe relación de parentesco (Dickinson 2004).

Dentro de los beneficios indirectos (Tabla 1) se señalan el hecho de estar ayudando al desarrollo de parientes (Rowely & Russell 1990) que generan un aumento en la adecuación debido a la subsistencia y producción de familiares (Hamilton 1964, Dickinson *et al.* 1996). El aumento en la paternidad del nido por parte del pariente del ayudante podría ser otro beneficio indirecto presente en esta especie (Dickinson *et al.* 1996). El ligero aumento que tienen en la adecuación al ayudar a la alimentación de los parientes es mayor, cuando la reproducción independiente no es viable (lo que supondría quedarse en su nido y no hacer absolutamente nada; Dickinson 2004), lo que supone recibir un beneficio indirecto al contribuir al aumento en el tamaño de los pollos así como aumentar el éxito de crías emplumadas (Kraaijeveld & Dickinson 2001).

Tabla 1. Hipótesis de los beneficios de los ayudantes en los nidos (Tomado de Dickinson *et al.*, 1996). <sup>a</sup> Hipótesis no sustentada, <sup>b</sup> Predicción no probada por falta de información, <sup>c</sup> Hipótesis sustentada.

Hipótesis	Predicción
<b>Beneficios directos</b>	
Aumento en la supervivencia de los ayudantes <sup>a</sup>	(a) Las tasas de retorno de las aves que ayudan deberían ser más altas que en aquellas aves de la misma edad que no ayudan. <sup>a</sup>
Aumento en la probabilidad de una crianza futura <sup>a</sup>	(a) Los ayudantes adquieren territorio o pareja más rápido que aquellos que no ayudan, esto debido a la habilidad de formar coaliciones con sus hermanos, heredar una pareja o adquirir una porción del territorio de sus padres. <sup>a</sup> (b) Las aves de dos años con ambos padres en el área de estudio deberían de ayudar más que aquellas aves de tres o cuatro años con padres en el área de estudio. <sup>a</sup>
Aumento en la probabilidad de una crianza presente <sup>b</sup>	(a) Los ayudantes tienen mayor probabilidad de conseguir fertilización extrapareja que aquellos que no lo hacen. <sup>b</sup>
Aumento en el éxito reproductivo <sup>a</sup>	(a) Debido a la experiencia adquirida, los ayudantes deberían de tener un mayor éxito al momento de su primer intento de puesta que aquellos que nunca ayudaron. <sup>a</sup> (b) Los ayudantes deberían recibir ayuda de aquellos pollos a los que ayudaron a crecer. <sup>a</sup>
<b>Beneficios indirectos</b>	
Aumento en la supervivencia de los criadores <sup>a</sup>	(a) Los ayudantes deberían de reducir la carga de trabajo o el riesgo asumido por los padres. <sup>c</sup> (b) La tasa de retorno de los padres con ayuda debería de ser más alto que de aquellos que no la recibieron. <sup>a</sup>
Aumento en la producción de crías no propias <sup>c</sup>	(a) Los ayudantes deberían ayudar a la descendencia que está emparentada con ellos. <sup>c</sup> (b) Los ayudantes deberían de ayudar a criar a los pollos con una relación de parentesco más cercana que a los que tienen una relación distante. <sup>c</sup> (c) los nidos con ayudantes deberían de tener un mayor éxito y mayor número de pollos emplumados que en aquellos que no. <sup>c</sup>

Dentro de los costos para los ayudantes Dickinson (2004) señaló que la decisión de ser ayudante también podría tener un costo directo en la adecuación pero que para mitigarlo muchos de ellos consumen alimento en lugar de proveer a las crías a las cuales están ayudando. Conforme pasa el tiempo, los ayudantes realizan menos viajes en busca de alimento para compartir con los miembros del nido. Dicha conducta probablemente se deba a que el balance beneficio-costo se está viendo afectado o por alguna condición relacionada propia de la edad (Dickinson 2004).

En cuanto a los beneficios para los padres, los estudios en el azulejo mexicano muestran que aquellas parejas que reciben ayuda ponen más huevos, tienen un mayor número de eclosiones y un mayor número de polluelos emplumados en comparación con aquellas parejas en las que no hubo crianza cooperativa (Dickinson *et al.* 1996, Charmantier *et al.* 2007). Un gran beneficio que esté permitiendo el desarrollo y presencia de dicha conducta es que los ayudantes no presentan paternidad dentro del nido (Dickinson *et al.* 1996).

### 1.2.6 Promiscuidad

La reducción del esfuerzo parental al momento de perder la certeza de la paternidad debería depender del balance costo-beneficio del cuidado, que debería ser medido como el impacto que éste tiene en la alimentación de los pollos al momento de la supervivencia y del éxito reproductivo en las crías del macho, devaluado por su grado de parentesco, contra el impacto que tiene la alimentación de los pollos en la supervivencia y posibilidad de reproducción del propio macho. En nuestra especie, dado que el azulejo es socialmente monógamo, en la que se han registrado cópulas extrapareja, el macho reproductor buscaría evitar la invasión de otros machos al territorio de la pareja mediante resguardo de la hembra antes de la puesta y durante el periodo de la misma. La incapacidad del macho de distinguir a sus propias crías de aquellas provenientes de la cópula extrapareja (condición prevaleciente en la mayoría de los passeriformes), lo que supone que disminuir o anular el cuidado parental podría resultar en un costo significativo para sus propias crías, donde la decisión de abandonar el nido podría ser maladaptativa (Dickinson 2003).

En algunos experimentos se obtuvo evidencia de que cuando el macho de la pareja es retirado manualmente y retenido en una jaula, la hembra incrementa notablemente su búsqueda de cópulas extrapareja, siendo los individuos de mayor edad, en comparación con su pareja inicial, los más buscados (Dickinson 2001, Dickinson 2003). Existen dos posibles explicaciones del porqué de la cópulas extrapareja: (a) el costo de resistir por parte de la hembra es alto cuando existe una invasión constante por parte del macho, persistencia e inclusive agresiva, siendo aquí la vigilancia por parte del macho benéfica ya que contribuye a reducir dicho acoso, y (b) cuando la hembra busca obtener ganancias fenotípica y genéticas, en cuyo caso el resguardo de macho entra en un conflicto ya que reduce la oportunidades de la hembra de lograr su cometido (Dickinson & Leonard 1996, Dickinson 2001). Dickinson (2003) encontró que al menos la mitad de las hembras reproductivas tenían un huevo en su nido como resultado de una cópula extrapareja. Donde también observó que no existe una reducción en la atención del macho con el nido, inclusive con “evidencias” de que en éste hay crías ajenas, aunque probablemente no esté contribuyendo con alimentación tan nutritiva ni se involucre demasiado en la defensa del nido.

## 2. OBJETIVOS

Buscamos hacer una descripción sobre la reproducción y crianza que presentan los individuos de azulejo (*Sialia mexicana*) presentes en el Parque Nacional La Malinche (PNLM). Para ello, 1) registraremos las actividades que lleven a cabo los individuos en dichos periodos (construcción del nido, material del mismo, participantes, fecha y número de huevos en la puesta, fecha y número de eclosiones, número de volantones, entre otras). Pretendemos 2) evaluar si la población utiliza a la crianza cooperativa como estrategia de cuidado parental. 3) En caso de encontrar que en efecto es frecuente pretendemos llevar a cabo análisis de paternidad para establecer primeramente si existe o no algún vínculo de parentesco entre el macho reproductor y el ayudante, y segundo si las crías de nido son descendientes del macho reproductor y, 4) verificar si existe alguna contribución genética por parte del ayudante al nido. El análisis genético nos permitirá además calcular el grado de diferenciación genética (índice  $F_{st}$ ) entre las diferentes subpoblaciones que encontremos, y calcular la diversidad genética poblacional; dado que el grado de endogamia influye en el balance entre costos de la crianza cooperativa y beneficios genéticos indirectos, ésta medida ayudará a interpretar nuestra descripción del sistema de crianza en la población del azulejo mexicano del PNLM.

La asociación entre la temperatura y el fotoperiodo en regiones templadas es muy dependiente de la fecha pero en las regiones subtropicales la estacionalidad se pierde, por lo que buscamos evaluar si en el PNLM se encuentran relacionadas con la temporada de crianza.

## 3. JUSTIFICACIÓN

Se ha propuesto que la crianza cooperativa implica una disminución en la adecuación de aquellos individuos que la practican, ya que lo hacen acosta de criar nidadas propias. En este trabajo se pretende acumular evidencia que permita entender la relación entre costos y beneficios de la crianza cooperativa en una población sureña del azulejo mexicano. La literatura indica que las poblaciones norteñas de *S. mexicana* practican cópulas extrapareja. Por otro lado, la evidencia indica que las cópulas extrapareja son mucho menos frecuentes en los trópicos que en regiones templadas (Wikelski *et al.* 2003, Stutchbury & Morton 2008), ya que existe una disminución en los niveles de testosterona y la reducción del tamaño de las gónadas en aquellas especies tropicales (Wikelski *et al.* 2003). Dado que la prevalencia de cópulas –y por tanto de paternidad- extrapareja determina el grado de inversión parental de los machos territoriales, e influye en la probabilidad de que ocurra crianza cooperativa por machos externos (ver más arriba), pretendemos evaluar en nuestra población (sub-tropical) la prevalencia de paternidad extrapareja y su posible relación con el número de adultos que contribuyen al cuidado parental en cada nido.

La evaluación de la diversidad genética de nuestras poblaciones cumple varios propósitos. A pesar de que la población presente en el PNLM no se encuentra amenazada o en peligro de extinción, sí ha sufrido los efectos provocados por la tala, la cual conlleva a una fragmentación de la población inicial y su aislamiento de otras poblaciones de la Faja Volcánica Trans-Mexicana, así como a una reducción tanto de la cantidad como calidad de los espacios disponibles para la anidación. Mediante análisis moleculares obtendremos información sobre la dinámica de desplazamiento por parte de las hembras (siendo en aves el principal mecanismo para evitar la endogamia) -lo que se inferirá a partir de la descripción de la diferenciación genética entre poblaciones ( $F_{st}$ )-. Esta medida también influye en la magnitud de los beneficios genéticos que pueden obtener los organismos que practiquen la crianza cooperativa, ya que a mayor endogamia aumenta la probabilidad de promover los genes propios al ayudar a sacar adelante crías ajenas.

#### 4. METODOLOGÍA

Para cumplir nuestros objetivos fue preciso: a) colocar cajas nido en cada uno de los sitios de estudio; b) determinar si existe crianza cooperativa, la cual se evaluó mediante observaciones; c) determinar el éxito reproductivo, fecha en que comienza la construcción del nido y el tipo de material, número de huevos, número de pollos y número de volantones (aquellos que salen volando del nido); y d) evaluar la estructura de la población, y establecer si existió más de un contribuyente masculino a las diferentes nidadas (paternidad múltiple). Por lo que a continuación describimos la metodología.

##### 4.1 Parque Nacional La Malinche (PNLM)

Toda la obtención de datos y trabajo de campo se llevaron a cabo en el Parque Nacional La Malinche.



Figura 4. Distribución general del PNLM (Semarnat & CONAP, Plan de manejo Parque Nacional La Montaña Malinche o Matlalcuéyatl, 2013).

#### 4.1.1 Factores abióticos

El volcán la Malinche o Matlalcuéyotl es parte del Eje Neovolcánico Transversal y es considerado ruina volcánica. Localizado dentro de los estados de Tlaxcala y Puebla:  $19^{\circ} 08'$  a  $19^{\circ} 20'$  N y  $98^{\circ} 08'$  a  $97^{\circ} 55'$  O, en él se estableció el Parque Nacional La Malinche -PNLM-(Figura 4) (Ruiz-Soberanes & Gómez-Álvarez 2010, Loranca-Bravo *et al.* 2013 Semarnat & CONAP, Plan de manejo Parque Nacional La Montaña Malinche o Matlalcuéyatl 2013). Cuenta con una extensión de 45, 711 hectáreas (Ruiz-Soberanes & Gómez-Álvarez 2010) con altitudes que van desde los 2200 msnm a 4461 msnm (Ruiz-Soberanes & Gómez-Álvarez 2010, Loranca-Bravo *et al.* 2013).

Las diferentes regiones donde se llevará a cabo el estudio se localizan en la parte meridional del volcán desde los 2640 a los 2974. 2 msnm donde el clima es templado semiárido con lluvias en verano, templado semihúmedo con lluvias en verano y templado subhúmedo y semifrío con temperaturas anuales de  $11^{\circ}\text{C}$  a  $15^{\circ}\text{C}$ . El volcán está asociado a la cuenca del Río Atoyac y a la cuenca de Guadalupe (Semarnat & CONAP, Plan de manejo Parque Nacional La Montaña Malinche o Matlalcuéyatl, 2013).

#### 4.1.2 Factores bióticos

Dentro de las asociaciones vegetales observamos bosque de pino, encino y oyamel (2800-3300 msnm): donde podemos encontrar *Pinus hartwegii* (donde se colocaron todas las cajas nido), *Quercus sp.* y *Abies religiosa* (esta última especie presente en el bosque joven), por otro lado también de los 2600 a los 2800 msnm se observan zonas de cultivo (Ruiz-Soberanes & Gómez-Álvarez 2010), siendo éstas de importancia para el estudio ya que son la principal causa de la fragmentación de la población inicial.

## 4.2 Sitio de estudio

Las cajas nido fueron colocadas en regiones de vegetación mixta con árboles de oyamel-pino-encino de las especies *Pinus montezumae*, *P. hartwegii*, *Abies religiosa* y *Quercus sp.* Éstas se encuentran a lo ancho del cono del PNLM con un rango altitudinal de 2856 – 3262 msnm y fueron seleccionadas en un estudio previo donde se comparó la abundancia de aves usuarias de cavidades secundarias entre bosque maduro y bosque joven (C. Cuatianquiz datos no publicados). En dicho estudio el tipo de bosque se determinó por el diámetro a la altura del pecho (DPA) de los árboles, donde un DPA mayor a 30 cm corresponde a un árbol maduro y entre 15-30 cm a un árbol joven, medida que ha sido utilizada en diferentes estudios (Weikel & Hayes 1999, Huhta *et al.* 2004, Martin *et al.* 2004). De acuerdo a esta característica las regiones de bosque joven se encuentran en los límites del PNLM cerca de cultivos y los árboles tienen un DAP  $X = 29.73 \pm 12.55$  a diferencia de bosque maduro DAP  $X = 48.06 \pm 33.59$ . Además de que en las regiones utilizadas en esta tesis se observaron individuos de *Sialia mexicana* en el estudio de C. Cuatianquiz y durante la temporada reproductiva utilizaron cajas nido colocadas en el 2010, dato que es congruente con la distribución de *S. mexicana*, la cual habita en bosques forestales abiertos (Hurteau *et al.* 2008). La parcela de Teacalco que corresponde a bosque joven quemado desde el 2009 que C. Cuatianquiz inició con el estudio con aves usuarias de cavidades secundarias se encontró en esa condición, sin que haya registro del año en que fue quemado; la parcela de Altamira es un bosque joven cercado que se utiliza como sendero interpretativo elaborado por la Coordinación General de Ecología para actividades de Educación Ambiental y que aparte de observar *S. mexicana* se utilizó para evitar el robo de cajas nido, el cual hubo en otros años en otras regiones; la región de Pilares es bosque joven con una gran actividad de pastoreo y uso de recursos naturales por parte de los locales de la comunidad de Pilares. Javier Mina es la única parcela de bosque maduro donde se observó *Sialia mexicana*, probablemente por la cercanía a la comunidad, sin embargo los pobladores cuidan del bosque y regularmente le dan mantenimiento prueba de ello es que hubo robo de cajas.

El primer periodo de estudio de campo se llevó a cabo de Febrero a Agosto de 2012. Las regiones utilizadas fueron: los Pilares, San José Teacalco y Guadalupe Altamira. En total se utilizaron 43 cajas (23 cajas eran de un estudio previo) colocadas en las regiones de San José Teacalco (12 cajas) y Los Pilares (11 cajas), y las 20 cajas restantes se colocaron en la región de Guadalupe Altamira.

Durante el segundo periodo, el cual se llevó a cabo desde Febrero a Julio de 2013, se tomaron las mismas regiones (San José Teacalco, Los Pilares y Guadalupe Altamira), donde se colocaron 20 cajas nuevas en las regiones de San José Teacalco y 20 más en los Pilares, y, además, se tomó en cuenta: Francisco Javier Mina, donde se utilizaron 12 cajas de un estudio anterior y se colocaron 20 nuevas; en total se tuvieron 111 cajas (Figura 5).

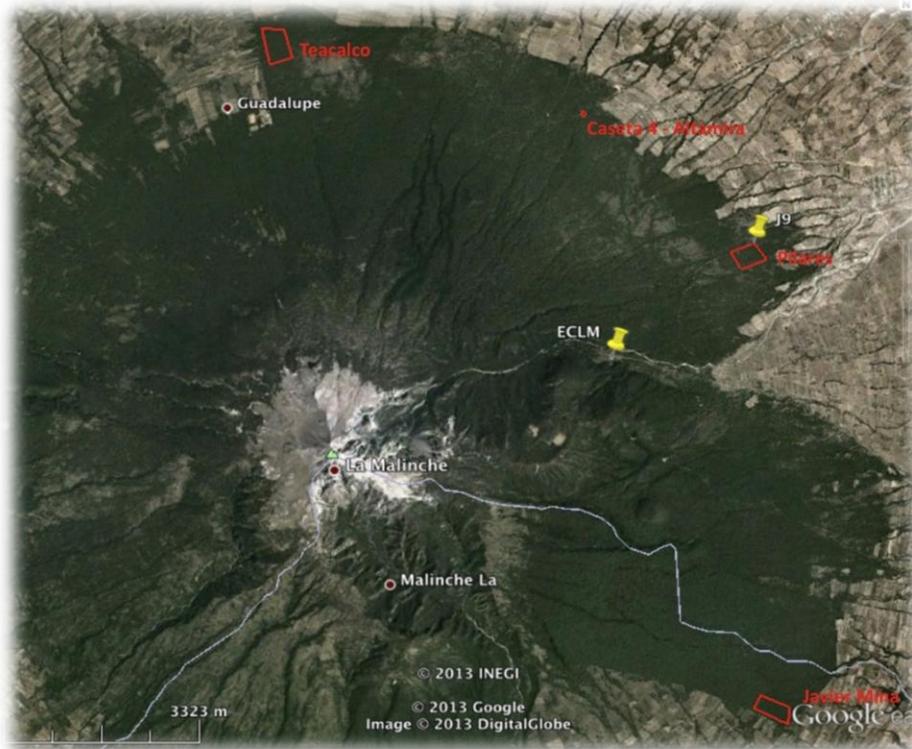


Figura 5. Localización de las regiones utilizadas para llevar el estudio de campo. Las regiones de: San José Teacalco, Los Pilares y Guadalupe Altamira fueron utilizadas en ambos periodos del estudio. La región de Francisco Javier Mina solamente se utilizó para el estudio del 2013. El punto localizado con ECLM hace referencia a la Estación Científica la Malinche. Mapa y localización de los puntos obtenidos de GoogleEarth© 2013.

#### 4.2.1 San José Teacalco (Teacalco)

Teacalco (2974. 2 msnm en promedio) presenta un bosque joven quemado en recuperación. Presenta incendios anuales con recambio de flora constante. En la temporada reproductiva del año 2012, se utilizaron 12 cajas previamente colocadas en dicha región (Figura 6, la información sobre coordenadas específicas en el apéndice 1 tabla 1).



Figura 6. Localización en mapa de las 12 cajas colocadas en la región de San José Teacalco. Las latitudes y longitudes son las mostradas en el Apéndice 1 Tabla 1. Mapa y localización de los puntos obtenidos de GoogleMaps© 2012.

Durante el periodo siguiente (2013), se utilizaron las mismas 12 cajas anteriores y 20 nuevas. A continuación se muestran la localización de las nuevas cajas, para conocer las coordenadas ir al apéndice 1 tabla 2:



Figura 7. Localización en mapa de las 20 cajas colocadas en la región de San José Teacalco. Las latitudes y longitudes son las mostradas en el Apéndice 1 Tabla 2. Mapa y localización de los puntos obtenidos de GoogleEarth© 2014.

#### 4.2.2 Los Pilares (Pilares)

Región (2892.4 msnm en promedio) que presenta un bosque de tipo joven es la localidad con la mayor perturbación. Se utilizaron (2012) 11 cajas colocadas en un estudio previo, las coordenadas específicas se encuentran en el apéndice 1 tabla 3:



Figura 8. Localización en mapa de las 11 cajas colocadas en la región de Pilares. Las latitudes y longitudes son las mostradas en el Apéndice 1 Tabla 3. Mapa y localización de los puntos obtenidos de GoogleMaps© 2012.

Durante el 2013 se utilizaron todas las cajas del punto 1, la caja 6 del punto 2, ya que la otra fue robada, la caja 10, las tres cajas del punto 10 y la caja del punto 11, la caja del punto 12 no fue incluida en el estudio ya que nunca se encontró nido. Donde se colocaron 20 cajas nuevas, a continuación se muestra el mapa, para referencia de las coordenadas ir al apéndice 1 tabla 4:

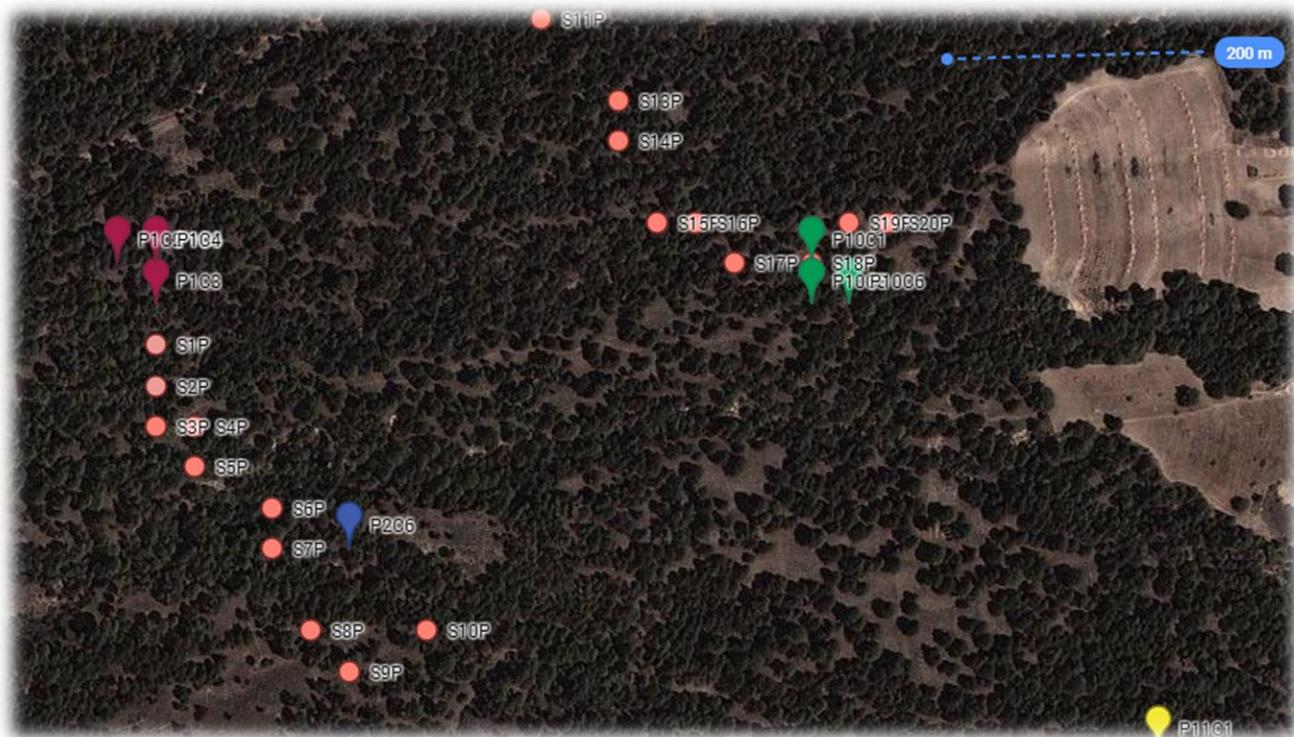


Figura 9. Localización en mapa de las cajas colocadas en la región de Los Pilares. Las latitudes y longitudes son las mostradas en el Apéndice 1 Tabla 4. Las cajas que fueron colocadas en el 2013 se encuentran señaladas con un punto en el mapa. Mapa y localización de los puntos obtenidos de GoogleMaps© 2014.

#### 4.2.3 Guadalupe Altamira (Caseta 4)

Guadalupe Altamira (2836 msnm en promedio) es un bosque joven cercado. Se colocaron 20 cajas (2012) y a continuación se muestra en el mapa (para referencia de las coordenadas de cada caja ver el apéndice 1 tabla 5):



Figura 10. Localización en mapa de las 20 cajas colocadas en la localidad de Altamira. Las latitudes y longitudes son las mostradas en el Apéndice 1 Tabla 5. Mapa y localización de los puntos obtenidos de GoogleMaps© 2012.

En esta región, se utilizaron todas las cajas excepto las 9 y 10 porque fueron robadas. En esta región no se colocaron cajas nuevas ya que la saturación buscada seguía siendo la óptima.

#### 4.2.4 Francisco Javier Mina (Javier Mina)

Presenta un bosque maduro (en promedio a 2640 msn) y se utilizó para el segundo periodo del estudio en campo -año 2013. A continuación se muestran el mapa, las coordenadas, tanto de las cajas utilizadas con anterioridad (12) así como las colocadas en el 2013 (20), se localizan en el apéndice 1 tabla 6 y 7:

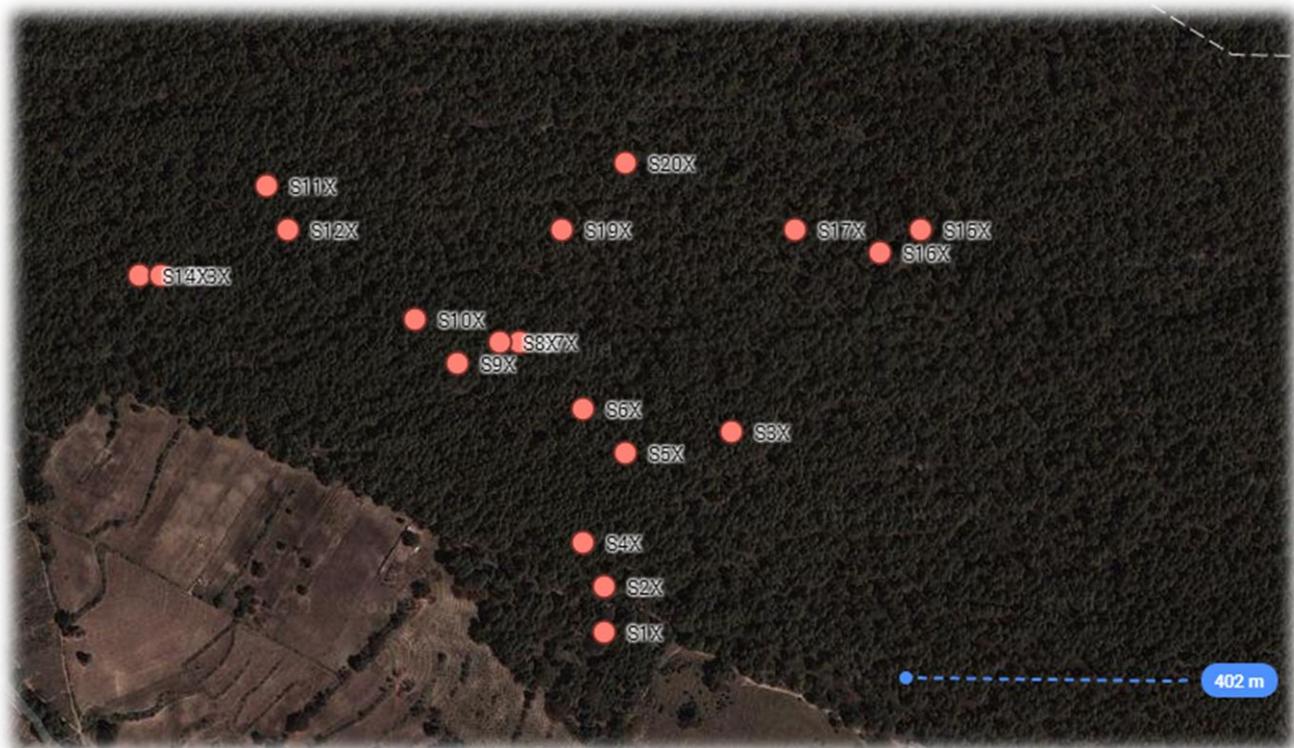


Figura 11. Localización en mapa de las 20 cajas colocadas en la localidad de Francisco Javier Mina para el año 2013. Las latitudes y longitudes son las mostradas en el Apéndice 1 Tabla 7. Mapa y localización de los puntos obtenidos de GoogleMaps© 2014.

La tabla 2 presenta un resumen de las cuatro regiones estudiadas con las respectivas cajas que fueron monitoreadas por año de estudio:

Tabla 2. Resumen de las cajas utilizadas en ambos periodos (2012 y 2013) en cada una de las regiones. A excepción de Javier Mina que solo se tomó en cuenta para el estudio del 2013.

Año de estudio	Región	Cantidad de cajas monitoreadas
2012	San José Teacalco	12
	Los Pilares	11
	Guadalupe Altamira	18
2013	San José Teacalco	32
	Los Pilares	29
	Guadalupe Altamira	18
	Javier Mina	32

#### 4.3 Cajas Nidos

##### 4.3.1 Especificaciones

Las cajas nido se construyeron con triplay de pino. Se les hizo un agujero 4 cm de diámetro en la cara frontal para evitar la depredación por parte de aves de mayor tamaño. Sus dimensiones interiores son de 12. 8 x 25. 1 o 29. 8 (según el lado del que se esté hablando) x 16. 4 cm (Keyser *et al.* 2004, Feiehler *et al.* 2006, para ver las ilustraciones de las cajas ir al apéndice 2).

Se les colocó un asa de alambre sostenida mediante cáncamos redondos localizados en las caras laterales de la caja. En el caso de Altamira, simplemente insertamos el asa en las ramas para mantenerlas en los árboles. En San José Teacalco, Javier Mina y Pilares fue necesario colocar un cincho de plástico y un broche de metal para fijarlas al árbol.



Figura 12. En la fotografía del lado izquierdo se muestra el cáncamo utilizado para perforar las caras laterales de la casa así como parte del asa de alambre, en la del lado derecho se muestra como con ayuda del asa se pudieron sostener las cajas nido.

### 4.3.2 Trampas

Las trampas utilizadas en el primer año (2012) consistieron en perforar la cara lateral de la caja (a una distancia de 6 cm de altura x 5.5 cm de ancho) con ayuda de una broca, en el agujero se insertó un cilindro hueco de metal y en el interior de este un tubo con un ojal en uno de los extremos. Sobre el tubo se colocó una lámina estireno (Figura 12).

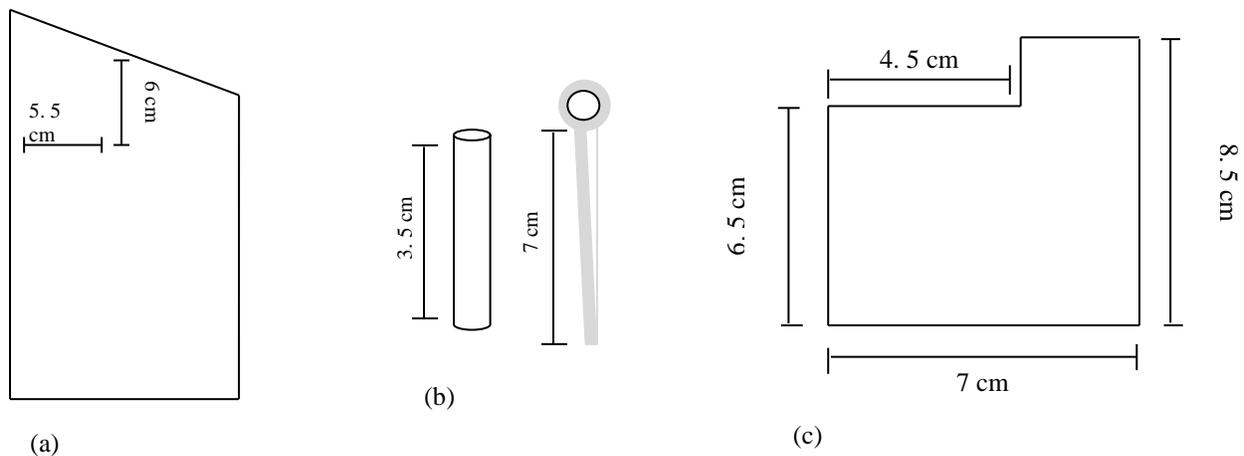


Figura 13. En la parte (a) se muestran las medidas a las cuales se hizo el agujero para poder insertar el cilindro y el tubo (b) para poder sostener la lámina de poliestireno, en (c) se muestran las medidas de la lámina de estireno utilizada como trampa.

La lámina de estireno se recargó sobre el tubo de metal y se fijó con cinta gris, en esta posición la trampa se encontraba desactivada (Figura 14a). Con ayuda de un cordel, colocado en el ojal del extremo de tubo, se tiraba del dispositivo para que la lámina de estireno cerrara el agujero de la caja; la trampa se encontraba activada (Figura 14b).

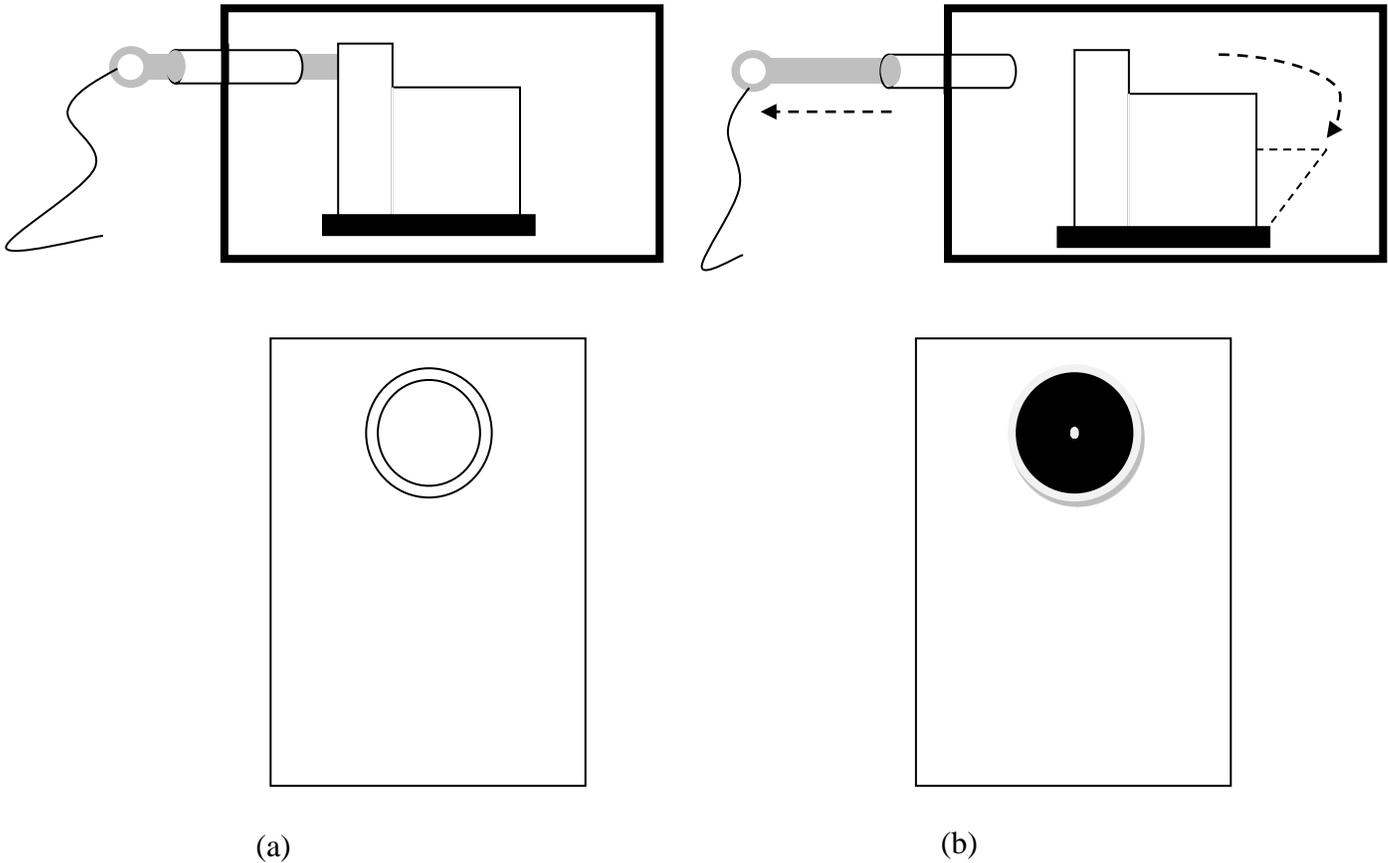


Figura 14. En (a) se puede observar la posición de desactivada de la trampa, ya que la lámina de estireno está colocada sobre el tubo del metal, en (b) la trampa esta activada ya que se ha retirado el soporte de la lámina y ésta, a su vez, ha tapado el agujero de la caja evitando la salida de los pájaros. En las partes superiores se tiene una vista desde el interior de la caja y en los dibujos inferiores se tiene una vista frontal y exterior de la misma.

En el 2013 se utilizó un una trampa estilo ratonera (Figura 15), la cual consistió en colocar un resorte en la parte de frontal exterior de la caja a la altura de la agujero de la entrada y con ayuda de un cartón y un hilo la trampa se activaba, cubriendo el agujero desde afuera para no permitir la salida de los individuos.



Figura 15. Fotografía de la trampa de ratonera utilizada para la captura de los individuos adultos en el periodo de 2013. Cortesía de la M. en C. Cecilia Cuatinaquiz Lima y el Dr. René Beamonte Barrientos.

El cambio de trampas entre los dos años se debió a que la primera no bloqueaba el hoyo de la caja ni a la velocidad correcta lo que permitía a los adultos salir de la caja y evitar su captura, esta falla en la técnica no nos permitió capturar a ningún adulto en el 2012. Al momento de hacer el cambio en las trampas (2013) se pudo llevar a cabo la captura de los adultos que se encontraban dentro de las cajas y así se consiguió anillarlos y extraer la sangre de cada individuo.

4.4 Observaciones, toma de muestras sanguíneas y medidas morfométricas en campo (Para observar el proceso de manejo de los individuos en campo ir al apéndice 3)

Durante la temporada reproductiva de 2012 todas las cajas fueron visitadas semanalmente desde febrero hasta agosto. Cada nido se observó durante un periodo de 15 minutos. Dos o tres observadores se ubicaron a 1.5 metros o 2 metros de distancia del nido focal. Las observaciones de conducta se realizaron con ayuda de binoculares: determinábamos si existía transporte de material para la fabricación del nido al interior de las cajas, identificamos a los individuos (tanto en cantidad así como en el sexo de cada uno de ellos presentes en los alrededores de éstas) así como contribuciones a la alimentación, defensa del nido, entre otras. Al final del periodo de observación, se procedió a bajar cada una de las cajas para fotografiar el interior con el propósito de determinar la situación del nido: comienzo en la construcción del nido, el nido construido, presencia de huevos, pollos y abandono del mismo. Con ayuda de una pértiga de 9 metros, se pudieron revisar las cajas que se colocaron en la región de Guadalupe Altamira debido a su fácil acceso (Figuras 16 y 17) y con ayuda de equipo para escalar: escaleras, cintas y arnés, aquellas cajas colocadas en San José Teacalco, Javier Mina y Los Pilares (Figuras 18 y 19).



Figuras 16 y 17. Método para la inspección del interior con ayuda de una pértiga. En la fotografía de la derecha se puede observar como dichas cajas, aparte de encontrarse a una altura relativamente baja con respecto al suelo, eran de fácil acceso.



Figuras 18 y 19. Método para inspección del interior de las cajas cuyo acceso era complicado.

Para los nidos de *Sialia mexicana* se registró y fotografió el material de anidación, en caso de encontrar huevos se midió el volumen (ancho x largo [mm]) y los pollos encontrados fueron pesados utilizando balanzas de resorte [gr.] y se obtuvieron la longitud ala, tarso y cola [mm].



Figura 20. Se puede observar como los huevos eran tomados con un guante de látex para no dejar impregnado nuestro aroma y, así, evitar el abandono del nido por parte los padres. El Vernier fue utilizado para la toma del largo y ancho de cada uno de los huevos.

Dos semanas después del tiempo estimado de eclosión, los pollos fueron anillados (anillos 1B de colores de PVC) y se tomó una muestra de 3 mL. de sangre. Las muestras fueron diluidas inmediatamente en 200 uL de EDTA al 0.1M. Para asegurarnos de que el nido había sido abandonado visitamos las cajas por al menos 1 mes después del último avistamiento, en cuyo caso también tomamos fotos para constar este suceso. Si observábamos de utilizar el nido y/o re-uso de la caja tomamos el registro pertinente.

Las muestras de sangre de la temporada de campo del año 2013, fueron centrifugadas para separar el plasma del paquete celular, el plasma fue extraído y colocado en otro tubo, mientras que el paquete celular se congeló a  $-4^{\circ}\text{C}$  hasta su transportación al laboratorio, para su posterior utilización en la obtención del ADN. El método cambió de año a año porque las muestras fueron recolectadas por el Dr. René Beamonte y la M. en C. Cecilia Cuatianquiz y ellos ocuparon el plasma celular para llevar a cabo otro estudio.

#### 4.5 Estructura genética y grado de parentesco

##### 4.5.1 Extracción y limpieza del ADN

Para la extracción de ADN se utilizó el siguiente protocolo: dividimos la muestra en dos tubos Eppendorf, una de ellas se almacenó a  $-20^{\circ}\text{C}$  y al otro tubo le añadimos 600  $\mu\text{L}$  de Buffer de Lisis (EDTA 0.1 M, Tris 0.2M pH 8.5 y SDS 1%) y centrifugamos a máxima velocidad (14 000 rpm) durante dos minutos. Agregamos 15  $\mu\text{L}$  de Proteinasa K (5  $\mu\text{L}$  por día) e incubamos a  $55^{\circ}\text{C}$  durante 4 días; durante los 3 primeros días de incubación añadimos la Proteinasa K, se mezcló mediante inversión del tubo y se colocaron durante 5 horas en un agitador de laboratorio y el último día simplemente se hicieron movimientos de inversión y se agitaron durante 4 horas.

Una vez disuelto el coágulo, agregamos 3  $\mu\text{L}$  de RNAasa A, se mezclaron por inversión e incubamos, en baño María, por 45 minutos a una temperatura de  $37^{\circ}\text{C}$  (muestras del 2012). Para las muestras del 2013 no se añadió RNAasa. Una vez que los tubos (2012 y 2013) se encontraban temperatura ambiente, se les añadió 5  $\mu\text{L}$  de KAc (acetato de potasio) a 5M, todos los tubos se mezclaron durante 20 segundos con ayuda de un Vortex y se centrifugaron a 14 000 rpm durante 3 minutos. Extrajimos 600  $\mu\text{L}$  del sobrenadante y lo colocamos en un tubo Eppendorf nuevo. Al sobrenadante se le añadimos 600  $\mu\text{L}$  de isopropanol al 100% ( $4^{\circ}\text{C}$ ) y se mezclamos por inversión hasta conseguir precipitación del ADN. Estos tubos fueron almacenados a  $-20^{\circ}\text{C}$  durante toda la noche.

Al día siguiente, centrifugamos las muestras durante 2 minutos a 14 000 rpm, decantamos todo el líquido presente en el tubo y los colocamos sobre papel absorbente para eliminar cualquier residuo de alcohol. Seguido a esto, utilizamos 600  $\mu\text{L}$  de etanol estéril al 70% y centrifugamos durante 1 minuto a máxima velocidad, decantamos el sobrenadante y los colocamos nuevamente sobre papel absorbente, todo este procedimiento se repitió una vez más. Permitimos que todo el etanol se evaporara por

completo de los tubos. Una vez que los botones estaban completamente secos agregamos de 50µL a 100µL de agua bidestilada (H<sub>2</sub>O<sub>dd</sub>), dependiendo del tamaño del botón. Dichos tubos se incubaron en baño María hasta que éste se había disuelto por completo. Para la mayoría de los tubos (2012 y 2013) fue necesario hacer una segunda limpieza, en este caso de fenol-cloroformo. Consistió en que una vez que los tubos alcanzaron la temperatura ambiente, añadimos 550µL o 500µL de fenol-cloroformo dependiendo de la cantidad de volumen que se le hubiera colocado: ya fuera 50µL o 100µL de muestra, respectivamente. Agregamos 600µL de fenol-cloroformo-alcohol isoamílico (1:0. 98:0. 02 mililitros) a los tubos con la muestra de ADN. Revolvimos mediante inversión y centrifugamos durante 15 minutos a 14 000 rpm. Posteriormente, recuperamos la fase superior del tubo y la colocamos en un nuevo Eppendorff.

A esta fase se le añadimos 600µL de un mezcla de cloroformo-alcohol isoamílico (1:0. 04 mililitros), mezclamos por inversión y centrifugamos durante 5 minutos a 14 000 rpm. Siendo la fase superior la que se recuperamos, colocamos en un tubo Eppendorff nuevo y añadimos 600µL de isopropanol al 100% recién salido del refrigerador. Una vez más se dejaron reposar a -20°C durante la noche y proseguimos a limpiar con etanol e hidratar con H<sub>2</sub>O<sub>dd</sub>, como se mencionó anteriormente. Permitimos que los tubos alcanzaran una temperatura ambiente, se mezclaron con ayuda de un Vortex y para poder determinar la concentración de cada uno de los tubos utilizamos un Nanodrop 2000 UV-Vis Spectrophotometer®. Una vez obtenidas las lecturas de concentración, proseguimos a llevar a todos los tubos a una concentración de 10ng/µL.

#### 4.5.2 PCR

Los microsatélites que utilizamos para llevar a cabo los PCRs, así como la secuencia de cada uno de ellos y la temperatura de recocido fueron tomados del artículo de Ferree *et al.* (2008). Para ver las especificaciones de cada uno de ellos consultar el Apéndice 4 Tabla 1. Por su parte, para preparar los tubos para PCR usamos las siguientes cantidades:

Tabla 3. En ella se muestra las concentraciones necesarias para llevar a cabo una reacción en un tubo de muestra por microsatélite. \* Los 5µL de H<sub>2</sub>O<sub>dd</sub> que se le agregan aparte de lo requerido por la reacción es para poder tener un blanco negativo.

Reactivo	Volumen [µL]
Buffer	1. 5
MgCl <sub>2</sub>	0. 97
dNTP's	0. 8
Oligo <i>forward</i>	0. 3
Oligo <i>reverse</i>	0. 3
Taq	0. 075
H <sub>2</sub> O <sub>dd</sub>	6. 655 + 5*

El ciclo (termociclador Techne TC-512®) fue el siguiente:(a) 5 minutos de desnaturalización a 95°C, (b) 35 ciclos con las siguientes especificaciones: 1) desnaturalización: 45 segundos a 94°C, 2) recocido: 60 segundos a 55°C o 63°C (la temperatura de recocido varía según la Tabla 1 del Apéndice 4 obtenida de Ferree *et al.* [2008]), donde decidimos variar las temperaturas con el fin de obtener mejores resultados, y 3) extensión: 60 segundos a 72°C, y (c) 20 minutos de extensión a 72°C (Ciclo obtenido y modificado de Ferree *et al.*, 2008).

Una vez obtenido el PCR verificamos que las secuencias de interés hubieran amplificado para

lo que se utilizaron geles de agarosa. El gel se preparó con 0.42gr de agarosa, 30mL de TBE al 0.5 y 5 $\mu$ L de bromuro de etidio. Para correr el gel se usó una corriente de 120 volts durante 18 minutos. Visualizamos los geles con un trans-iluminador.

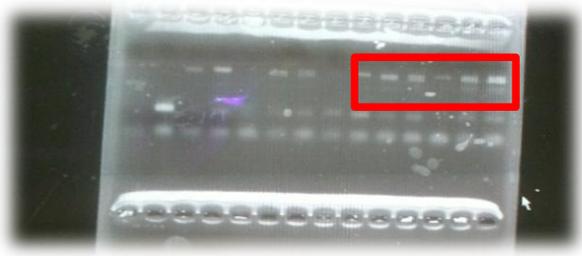


Figura 21. Gel de agarosa. El rectángulo muestra las bandas de algunas de las muestras donde se puede apreciar que efectivamente la secuencia de interés si amplificó.

Para obtener las secuencias, enviamos los PCR a DNA Core Sequencing Facility, Urbana, Illinois, EUA. Cuando las secuencias estuvieron listas utilizamos GeneMapper 3.7<sup>®</sup> para visualizarlas.

Utilizamos los siguientes análisis de los alelos para saber qué tan fragmentada se encontraba nuestra población (consultar los alelos de cada uno de los individuos en el Apéndice 5 Tabla 1): Micro-Checker 2.2.3<sup>®</sup> se utilizó para evaluar los alelos nulos (apéndice 6 tabla 1), Genepop 4.2<sup>®</sup> con el fin de obtener el índice  $F_{st}$ , Fstat 2.9.3.2<sup>®</sup> para conocer la riqueza alélica de la población, Arlequin 3.1<sup>®</sup> para verificar si nuestra población se encuentra en equilibrio Hardy-Weinberg así como los índices de diversidad molecular y Cervus 3.0.3<sup>®</sup> para poder llevar a cabo los análisis de paternidad (con el fin de conocer todas las condiciones de los programas utilizados consultar el apéndice 7). En los análisis de paternidad únicamente se tomaron las muestras obtenidas en el 2013 y tomamos en cuenta los microsatélites Smex1, Smex5, Smex6 y Smex15- mientras que los otros dos se dejaron como nulos. En las regiones donde obtuvimos más de dos nidos (Teacalco y Javier Mina) se utilizaron a los demás machos adultos así como hembras “ajenas” al nido en cuestión para ver cómo se comportaban los resultados. Si se quiere observar toda la información obtenida mediante Cervus 3.0.3. <sup>®</sup> consultar el Apéndice 8 Tabla 1.

5. RESULTADOS (En algunos casos no pudimos llevar a cabo pruebas estadísticas porque que nuestra muestra fue muy pequeña, además de que se trató de hacer un trabajo descriptivo sobre una aproximación a como es la historia natural del azulejo en el PNLM)

### 5.1 Resultados del campo

Encontramos que el 100% de los nidos del azulejo construyen sus nidos usando hojas aciculares de *Pinus sp.* y ocasionalmente observamos plumas pertenecientes a los padres (en el anexo 11 se presentan fotografías de los nidos donde se puede esta condición).

El tamaño de puesta varió entre años, en el primer periodo -2012- de 10 nidos la puesta fue de 1 - 5 huevos y en promedio midieron 21.8 x 16.5 mm, en el segundo periodo -2013- de 22 nidos la puesta fue de 3 - 5 huevos y en promedio midieron 21.0 x 16.2 mm. En ambos años la coloración del huevo fue azul. En el primer periodo eclosionaron de 2 - 5 huevos y en el segundo periodo 3 - 4 huevos, el peso de los pollos fue en promedio 28.66 $\pm$ 4.6 gr en el primer periodo y 31.32 $\pm$ 3.09 gr en el segundo. El número de volantones fue de dos a cinco (2012) y tres a cuatro (2013). Para más detalle acerca de la descripción de los nidos así como las medidas morfométricas tanto de los huevos (peso y largo y ancho) así como de las de los pollos (peso, ala, cola y tarso, ver Apéndice 9).

Durante el primer periodo solo registramos nidos en las localidades de Pilares y Teacalco, donde observamos las puestas el 11 de mayo de 2012 en Pilares y el 17 de mayo para Teacalco y en cuanto a las eclosiones observamos que para Pilares se registró el 1 de junio de 2012 y en Teacalco el 31 de mayo. A pesar de que la primera puesta fue en Pilares, la primera eclosión se registró en Teacalco ya que el primer nido fue depredado. En el caso de Altamira (Caseta 4) encontramos dos intentos de nidos, lo que nos hace suponer que por ser el primer año en el que les presentábamos las cajas no estaban acostumbrados a ellos. En el segundo periodo -2013- se encontraron 22 nidos en las

localidades de Pilares, Teacalco y Javier Mina, pero para hacer un comparativo solo se tomaron: (a) Javier Mina: aquellos nidos en los que se pudieron capturar a ambos padres (2 nidos), y (b) Teacalco y Pilares: aquellos nidos en los que se pudieron capturar a ambos padres y/o que ocuparan las mismas cajas del año pasado, en este caso tres fueron reocupadas (Teacalco) y dos donde se logró capturar a ambos padres (Pilares y Teacalco), esta condición se adoptó porque los reactivos de laboratorio fueron limitados, por lo que de las regiones que se habían obtenido datos el primer año (2012) y del segundo (2013) fueron prioridad para poder hacer el análisis comparativo, mientras que de la región de Javier Mina sólo se tomaron cuenta aquellos nidos donde se tenían a ambos padres para poder presentar mayor información de cómo es el comportamiento de la especie. Sin contemplar los demás nidos, que no cumplían con las condiciones previamente planteadas, registramos las puestas en las siguientes fechas: 1 de mayo de 2013 en Pilares y Teacalco y el 4 de mayo en Javier Mina. En cuanto a las eclosiones observamos que en Pilares y Teacalco fueron el 16 de mayo de 2013 y en Javier Mina el 19 de mayo.

Nosotros designamos la categoría de ayudantes a aquellos machos que defendían el nido, aparte de la pareja reproductora, y/o contribuían con la alimentación de los crías (el ayudante llevaba el alimento a alguno de los padres y estos últimos fueron los encargados de llevarlo a los pollos). A pesar de que en el primer periodo (2012) no pudimos capturar ninguno de los adultos pudimos distinguir a los ayudantes, ya que al momento de manipular la caja fuimos atacados por más de un macho, así mismo mientras hacíamos las observaciones pudimos ver a varios individuos llevando alimento en el pico. Durante el segundo periodo (2013) pudieron capturar a uno de los ayudantes, mismo que nosotros habíamos anillado como cría en el 2012. Durante los dos periodos pudimos observar que siete de 17 nidos (41.2%) recibieron ayuda de más de un macho (100% de los ayudantes fueron machos). El 5.9% de las cajas fueron saqueadas por los habitantes de la región, una de las 17 cajas donde encontramos nidos de azulejo fue robada, el 5.9% de las cajas fueron depredadas por algún animal, 5.9% de los nidos presentaron una puesta tardía y con un huevo con una menor coloración y en una de las 17 cajas se encontró un ayudante anillado en el 2012 (si se requiere un mayor información sobre cada caja consultar el Apéndice 10 y/o si se quiere conocer la evolución de cada uno de los nidos consultar el Apéndice 11).

## 5.2 Resultados de los análisis del laboratorio

### Evaluación de paternidad:

Nuestra imposibilidad de atrapar adultos durante 2012 redujo substancialmente la posibilidad de cuantificar la presencia de paternidad extrapareja. En todo caso, usando los cuatro marcadores y 38 alelos (Smex1 con 8 alelos, Smex5 con 7, Smex6 con 11 alelos y Smex15 con 12) fue posible determinar que en el 2013 17 crías (77.3%) no eran hijos del padre o de la madre putativos, y en total en 6 nidos (85.7%; un solo nido se consideró como sin paternidad extrapareja ya que la hembra si estaba emparentada con los críos y el macho no se pudo analizar) hubo críos extrapareja; la incidencia de crías extrapareja varió de 0 a 100% de las crías de cada nido; Tabla 4.

Tabla 4. Se muestra las diferentes condiciones de parentesco que encontramos en cada uno de los nidos (2013). En el caso de NA es porque no se pudo capturar al sujeto para hacer la comparación o número de microsátélites amplificados no hacia confiable la prueba. Por otro lado, el \* indica aquel nido donde el ayudante presento paternidad con un crío dentro del nido.

Año	Localidad	Caja	Críos de otro padre		Total
			Padre	Madre	
2013	Pilares	S18P	3	2	3
		P1C10	NA	0	3
	Teacalco	P4C4	4	NA	4*
		P3C3	NA	2	3

	S8T	0	3	3
Javier Mina	S1X	1	0	2
	S17X	4	1	4

Los índices de  $F_{st}$  se muestran a continuación así como sus respectivos valores de “p”:

Tabla 5. Índices de  $F_{st}$  por población obtenida mediante Genepop 4. 2®, los valores de “p” se obtuvieron mediante Fstat 2. 9. 3. 2®, dichos valores se obtuvieron después de 300 permutaciones, el nivel indicativo nominal ajustado (5%) para múltiples comparaciones es de: 0. 016667.

Población	Pilares	Teacalco
Teacalco	0. 0101 (p=0. 07333)	
Javier Mina	0. 0287 (p=0. 09333)	0. 0649 (p=0. 02)

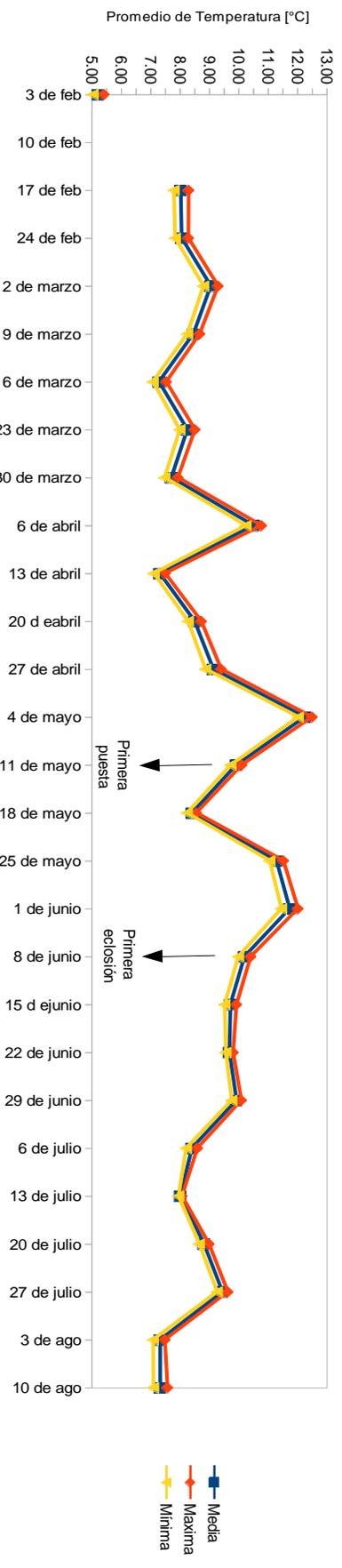
La diversidad genética poblacional se resume a continuación:

Tabla 6. Tabla de Diversidad Genética Poblacional. En ella se muestran los valores de total de alelos (T. A. ), riqueza alélica (R. A. ), heterocigosidad observada (H. O. ), heterocigosidad esperada (H. E. ) y el valor de p (p<sub>val</sub>) por alelos por población, así mismo al final de la tabla se puede observar el valor de la heterocigosidad observada total (H. O. T. ) de todos los alelos por población.

<b>Población Microsatélite</b>	<b>Pilares</b>	<b>Teacalco</b>	<b>Javier Mina</b>
<b>Smex 1</b>	T. A. = 7	T. A. = 8	T. A. = 6
	R. A. = 6.298	R. A. = 6.381	R. A. = 5.369
	H. O. = 0.73333	H. O. = 0.76923	H. O. = 0.8
	H. E. = 0.85057	H. E. = 0.80995	H. E. = 0.71579
	p <sub>val</sub> = 0.57628	p <sub>val</sub> = 0.31022	p <sub>val</sub> = 0.6925
<b>Smex 5</b>	T. A. = 5	T. A. = 7	T. A. = 5
	R. A. = 4.712	R. A. = 5369	R. A. = 5
	H. O. = 0.81818	H. O. = 0.6087	H. O. = 0.875
	H. E. = 0.7619	H. E. = 0.77588	H. E. = 0.775
	p <sub>val</sub> = 0.6729	p <sub>val</sub> = 0.11518	p <sub>val</sub> = 0.69454
<b>Smex 6</b>	T. A. = 7	T. A. = 12	T. A. = 6
	R. A. = 6.369	R. A. = 7.882	R. A. = 6
	H. O. = 0.93333	H. O. = 0.88	H. O. = 0.875
	H. E. = 0.86437	H. E. = 0.88327	H. E. = 0.78333
	p <sub>val</sub> = 0.14012	p <sub>val</sub> = 0.71245	p <sub>val</sub> = 0.96861
<b>Smex 15</b>	T. A. = 11	T. A. = 10	T. A. = 8
	R. A. = 9.12	R. A. = 7.515	R. A. = 7.639
	H. O. = 1	H. O. = 0.68	H. O. = 0.7
	H. E. = 0.91667	H. E. = 0.86531	H. E. = 0.87895
	p <sub>val</sub> = 0.24683	p <sub>val</sub> = 0.00275	p <sub>val</sub> = 0.03752
	H. O. T= 0.87121	H. O. T= 0.73448	H. O. T= 0.8125

La temperatura fue registrada para descartar que ésta estuviera influyendo de manera directa en determinar el momento de puesta. Los que el estudio nos reveló es que la puesta está relacionada con la temporada de Lluvias y el fotoperiodo. A continuación se muestran las gráficas con los promedios de cada año:

Temperatura promedio del 2012



Temperatura promedio del 2013

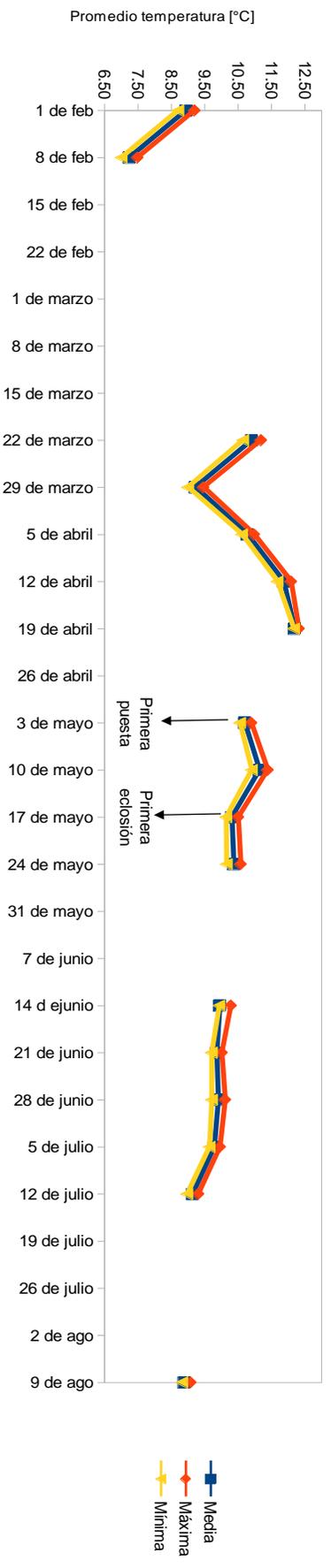


Figura 22. Se muestran las temperaturas promedio de cada una de las semanas desde Febrero hasta Agosto del 2012 y 2013, respectivamente. Para la obtención de dichos promedio se tomaron todas las temperaturas de una semana y se eligió el viernes en cada caso para colocar la temperatura promedio semanal. En las zonas donde no hay datos es porque el termómetro de la estación falló.

Para hacer una comparación que nos permitiera asegurar si existió o no una diferencia significativa en cuanto a las temperaturas al momento de la puesta se llevó a cabo una prueba de t de Student. Encontramos que la temperatura al inicio de la puesta era de  $10.4 \pm 1.19$  (d.e) °C en 2012, y de  $11.2 \pm 0.43$  °C en 2013 (t [Aspin-Welch para muestras con varianzas heterogéneas]=1.4, g.l.=10,  $p=0.22$ ).

## 6. ANÁLISIS DE RESULTADOS

En nuestro estudio en el Parque Nacional La Malinche observamos que, en ambos periodos, la puesta de huevos comienza en mayo, con el fin de la temporada de lluvias, y el final de la temporada de crianza concluye en los primeros días de junio, asociada a un incremento en la temperatura ambiental. El material de la construcción de los nidos es muy particular a la especie, donde son fabricados tanto por el macho como por la hembra con hojas aciculares de *Pinus sp.*

En campo, pudimos observar que la contribución de ambos padres comienza desde la fabricación del nido hasta que los pollos lo abandonan, pasando por la defensa, alimentación resguardo, entre otras actividades. También observamos que en algunos casos existe una tercera y hasta cuarta contribución de otro macho a la defensa así como a la alimentación de los pollos.

En el primer periodo: (a) en Pilares dos de los cinco nidos estudiados presentaron más de un macho a la defensa del nido y que (b) en Teacalco tres de los cinco nidos presentaron la misma condición, lo que representa que el 50% de los nidos que estudiamos presentaron ayudantes (2012). En el siguiente periodo del estudio observamos que: (a) en Pilares uno de un nido estudiado presenta dicha condición, (b) en Teacalco uno de los cuatro nidos presenta más de un macho a la defensa y alimentación del nido y que (c) en Javier Mina en ninguno de los 2 nidos se observa dicha conducta, en total el 28.6% de los nidos estudiados presentan crianza cooperativa (2013).

Los índices de  $F_{st}$  (Tabla 5) nos indican que no existe una diferencia significativa en la estructura de las diferentes localidades al ajustar el nivel de significancia por comparaciones múltiples a 0.01667.

En cuanto a la diversidad genética poblacional (Tabla 6) encontramos que existe una diversidad alélica alta, lo que nos está indicando que son poblaciones aisladas sino que tienen contacto entre sí. Aunque cabe destacar que el microsatélite Smex15 en las localidades de Teacalco y Javier Mina no se encuentran en equilibrio Hardy-Weinberg, lo que señala que hay un factor que está actuando específicamente sobre dichos alelos; factor conocido como flujo génico, aunque también podría atribuirse a que el tamaño de la muestra fue muy pequeño.

## 7. DISCUSIONES.

A pesar de que las cajas nidos fueron ocupadas por otras especies cavatorias, en algunos casos pudimos observar que el azulejo esperó a que terminara la crianza de la otra especie para utilizarlas, simplemente adecuando el nido con las hojas aciculares. Pudimos observar que al final de la temporada reproductiva, cuando la temperatura ambiental se eleva, una pareja intentó tener una puesta, dicha puesta solo presentó un huevo; suponemos que era de baja calidad porque aunque no lo cuantificamos su color era mucho más claro que el de todos los demás huevos con los que trabajamos. De acuerdo con Moreno & Osorno (2003) el color del huevo es un indicativo de la calidad genética de la hembra, así como de la calidad y viabilidad del huevo, por lo que esta observación, aunque anecdótica, sugiere que *S. mexicana* es un buen modelo para evaluar la hipótesis de Moreno & Osorno (2003).

Recordando que Cockburn (2006) estableció para que una especie sea considerada como del tipo cooperativa tienen que existir por lo menos ayudantes en el 10% de los nidos, podemos incluir a nuestra especie, *Sialia mexicana*, dentro de dicho grupo, ya que como se mencionó con anterioridad, en el 2012 el 50% y en el 2013 el 28.6% de los nidos fueron atendidos por más de dos machos. Observamos que los individuos que están ocupando dichas cajas son relativamente jóvenes y que los

que se están presentando como ayudantes pueden ser o sus crías o sus contemporáneos, determinamos la condición de adulto o juvenil con base en los bordes de las plumas: los adultos suelen presentar plumas azul brillantes con bordes bien definidos, mientras que los juveniles presentan plumas de color más grisáceo y con bordes desgastados (Shizuka & Dickinson 2005). Si bien no se trata de una falta de espacio para la anidación probablemente estén permaneciendo como ayudantes tanto por los beneficios indirectos de selección de parentesco o *kin selection* (Hatchwell, 2009) así como con la posibilidad de ocupar un territorio vacante o de heredarlo e inclusive, en caso de no existir una relación de parentesco con la hembra, llegar a tener acceso a la misma (Rowely & Russell, 1990, Dickinson, 2004, Riehl, 2013, wild & Koykka, 2014).

Para los análisis de paternidad (2013) solo se utilizaron 4 microsatélites, mediante los cuales obtuvimos que sólo en el 40% de los casos la hembra que se asignó como madre y en el 20% de los nidos el padre presenta paternidad exclusiva dentro del mismo. En el caso de los machos se tomaron cinco de los 7 nidos, ya que en los dos no se pudo capturar al macho. Encontramos que el ayudante (individuo anillado en el 2012) presentó mayor compatibilidad genética con uno de los críos que el macho reproductor (Teacalco P4C4; Tabla 4).

Considerado como raro, el parasitismo intraespecífico (Dickinson & Akre, 1998) se manifestó en uno de los 7 nidos (14.3%). Las cópulas extrapareja son frecuentes dentro de la población, lo cual permite que haya nidadas con paternidades múltiples.

Encontramos que existe un intercambio de alelos entre las diferentes poblaciones del estudio, muy probablemente por parte de las hembras ya que son ellas las que tienden a dispersarse de su ámbito hogareño (Greenwood 1980, Keyser et al. 2004). A pesar de que observamos que no hay diferencia significativa entre las localidades, suponemos que entre Teacalco y Javier Mina podría llegar a existir una fragmentación, dicho fenómeno lo atribuimos a que ambas localidades son las que se encuentran más alejadas entre sí (Tabla 5); la destrucción del hábitat y la eliminación de las regiones subóptimas convertiría en hostiles a los espacios que mantienen el intercambio de genes entre las diferentes poblaciones. En la tabla de diversidad genética poblacional (Tabla 6) observamos que la migración está ayudando a que las diferentes localidades no se vuelvan poblaciones aisladas, es decir, que nuestras poblaciones no se vean afectadas por el flujo génico y, por lo tanto, se encuentren en equilibrio Hardy-Weinberg, aunque como se mencionó anteriormente, el microsatélite Smex15 si se está viendo afectado o por flujo génico o por que la muestra no es representativa de la población. El alto nivel en el valor de la heterocigosidad en las localidades es otro indicativo de que la endogamia no es un factor que esté afectando directamente a la población. La genética de esta población no se encuentra empobrecida debido al intercambio de genes entre las diferentes localidades a pesar de la distancia entre ellas.

La actividad humana ha influenciado en el paisaje. Existe la dispersión de los individuos a través de las diferentes localidades aún en los ambientes subóptimos (sembradíos), donde muy probablemente el índice de depredación pudiera ser más elevado.

A pesar de tratarse de una población sub-tropical, la temporada de crianza ocurrió en las mismas fechas en ambos años, independientemente de la temperatura ambiental, lo que sugiere que el disparador de la reproducción, como en las poblaciones norteañas, es el fotoperiodo.

## 8. CONCLUSIONES

Mediante los análisis moleculares obtuvimos que existe un alto grado de heterocigosidad dentro de las localidades, este fenómeno podría ser un indicativo que en aquellos casos donde el ayudante busca el acceso a la hembra no existe una relación familiar entre ambos individuos. A pesar de que se ha reportado que raras veces el ayudante tiene descendencia propia dentro del nido (Dickinson & Akre 1998), encontramos que en al menos un nido, el ayudante tenía relación de padre-hijo con una de las crías. Dentro de las funciones de los ayudantes, observamos las contribuciones de éste con el nido: la alimentación y defensa. La primera consistió en que éste llevaba alimento al macho considerado como padre y éste a su vez lo introducía al nido. La defensa la cual se presentaba cuando los pollos emitían

sonido de alarma o cuando nos observaban manipulando a los individuos. Posiblemente como consecuencia de la incapacidad del macho para discriminar entre sus propias crías y aquellas engendradas por cópulas extrapareja, no detectamos ninguna instancia de abandono por parte de los padres (macho adulto), así como tampoco registramos abandono por parte de los ayudantes.

Encontramos parasitismo intraespecífico (Dickinson & Akre 1998) fue un fenómeno que nosotros encontramos en nuestra investigación: donde la cría guardaba una relación de parentesco con el macho reproductor más no con la hembra. Indicativo de que el pollo fue el resultado del comportamiento típico de la especie: cópulas extrapareja, en este caso la hembra tampoco abandonó del nido.

La alta riqueza alélica dentro de las diferentes localidades nos permite entender que no son aisladas entre sí, sino que a pesar de que las actividades humanas han influido negativamente en su ambiente sigue existiendo el intercambio genético a lo largo del volcán. Resultado de que es una especie que se ha adaptado correctamente al entorno, ya que no solo resisten a los cambios climáticos, incendios, entre otro sino que también han sabido sobrellevar exitosamente la intervención del ser humano en la región.

El mayor problema con el que nosotros nos encontramos al momento del estudio en campo fue el robo y manipulación inadecuada por parte de los habitantes de la región. A pesar de los esfuerzos de diversos investigadores en educar a los pobladores aledaños al volcán en cuál es la importancia de las cajas nidos (sobrevivencia de las especies cavatorias) y los beneficios que les pueden generar el mantenimiento de dichas cajas (algunas especies que habitan en ellas son insectívoros lo cual puede ser un control de plagas) el robo y maltrato aún continúa.

Con un muestreo mucho más intensivo, tanto de individuos como de varias épocas reproductivas, podríamos fácilmente conocer la dinámica de esta especie en el PNLN, ya que con los pocos datos que nosotros recopilamos durante estos dos años pudimos: (a) observar un fenómeno que ha sido reportado como poco común en la especie: parasitismo intraespecífico, (b) observar conductas típicas reportadas para la especie: crianza cooperativa, cópulas extrapareja, anidación en cajas nido, y (c) un riqueza alélica importante dentro de las localidades del estudio.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

- AMERICAN ORNITHOLOGIST'S UNION. (1983). Check-list of North American Birds. EUA. 6th edition.
- ARNOLD K. & I. Owens. 1999. Cooperative breeding in birds: the role of ecology. *Behav. Ecol.* 10: 465- 471.
- BRUDA, H. , R. Honeycutt & S. Begall. 2000. Are naked can common mole-rats eusocial and if so, why? *Behav. Ecol. Sociobiol.* 47: 293- 303.
- CHARMANTIER, A. , A. Keyser & D. Promislow. 2007. First evidence of heritable variation in cooperative breeding behavior. *Proc. R. Soc. B.* 274: 1757-1761.
- COCKBURN, A. 2006. Prevalence of different modes of parental care in birds. *Proc. R. Soc. B.* 273: 1375- 1383.
- CONABIO, INE & E. Scheinfeld. 1996. Guía de aves de canora y de ornato. Ed. Instituto Nacional de Ecología. México D. F. Pág: 50.
- COVAS, R. , C. Doutrelant & du Plessis, M. 2004. Experimental evidence of a link between breeding conditions and the decision to breed or to help in a colonial cooperative bird. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 271: 827-832.
- COVAS, R. & M. Griesser. Life history and the evolution of family living in birds. 2007. *Proc. R. Soc. B.* 274: 1349-1357.
- DICKINSON, J. 2001. Extrapair copulations in western bluebird (*Sialia mexicana*): female receptivity favors older males. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 50: 423-429.
- DICKINSON, J. 2003. Male share of provisioning is not influenced by actual or apparent loss of paternity in western bluebirds. *Behav. Ecol.* 14: 360-366.
- DICKINSON, J. 2004. A test of the importance of direct and indirect fitness benefits for helping decisions in western bluebirds. *Behav. Ecol.* 15: 233- 238.
- DICKINSON, J & J. Akre. 1998. Extrapair paternity, inclusive fitness, and within-group benefits of helping in western bluebird. *Molecular Ecology.* 7: 95-105.
- DICKINSON, J. , W. Koenig & F. Pitelka. 1996. Fitness consequences of helping behavior in the western bluebird. *Behav. Ecol.* 7: 168- 177.
- DICKINSON, J. & M. Leonard. 1996. Mate attendance and copulatory behaviour in western bluebirds: evidence of mate guarding. *Anim. Behav.* , 52: 981-992.
- DUCKWORTH, R. 2006. Behavioral correlations across breeding contexts provide a mechanism for cost of aggression. *Behav. Ecol.* 17: 1101- 1019.
- DUVAL, E. 2013. Does cooperation increase helpers' later success as breeders? A test of the skills hypothesis in the cooperatively displaying lance-tailed manakin. *Journal of Animal Ecology.* 82: 884-893.
- FERREE, E. , J. Dickinson, D. Kleiber, C. Stern, J. Haydock, M. Stanback, V. Schmidt, L. Eisenberg & C. Stolzenburg. 2008. Development and cross-species testing of western bluebird (*Sialia mexicana*) microsatellite primers. *Molecular Ecology Resources.* 8: 1348-1350.
- FIEHLER, C. , W. Tietje & W. Fields. 2006. Nesting success of Western Bluebirds (*Sialia mexicana*) using nest boxes in vineyard and oak-savannah habitats of California. *The Wilson Journal of Ornithology.* 118(4): 552-557.
- GREENWOOD, P. J. 1980. Mating systems, philopatry and dispersal in birds and mammals. *Anim. Behav.* 28: 1140-1162.
- GRIFFIN, A & S. West. 2002. Kin selection: fact and fiction. *TRENDS in Ecology & Evolution.* 17(1): 15- 20.
- HAMILTON, W. 1964. The genetical evolution of social behaviour. *J. Theoret. Biol.* 7: 1-16.
- HATCHWELL, B. 2009. The evolution of cooperative breeding in birds: kinship, dispersal and life history. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 364: 3217-3227.
- HUHTA, E., T. Aho, A. Jântti, P. Suorsa, M. Kuitunen, A. Nikula & H. Hakkarainen. 2004. Forest

- fragmentation increases nest predation in the Eurasian Treecreeper. *Conservation Biology*. 18 (1): 148-155.
- HURTEAU, S., T. Sisk, B. Dickinson & W. Block. 2008. Variability in nest density, occupancy, and home range size of Western Bluebirds after forest treatments. *For. Sci.* 56 (1): 131-138.
- JØNSSON, K. & Fjeldså, J. (2006). A phylogenetic supertree of oscine passerine birds (Aves: Passeri). *Zool. Script.*, **35**, 149–186.
- KEYSER, A. , M. Keyser & D. Promislow. 2004. Life-history variations and demography in Western Bluebirds (*Sialia mexicana*) in Oregon. *The Auk* 121(1): 118-133.
- KRAAIJEVELD, K. & J. Dickinson. 2001. Family-based winter territoriality in western bluebirds, *Sialia mexicana*: the structure and dynamics of winter groups. *Animal Behaviour*. 61: 109- 117.
- KOKKO, H. , R. Johnston & T. Clutton-Brock. 2001. The evolution of cooperative breeding through group augmentation. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 268:187- 196.
- LIGON J. D. & D. B. BURT. 2004. Evolutionary origins. En: *Ecology and evolution of cooperative breeding in birds*. (Editores: W. D. Koenig & J. Dickinson). Ed. Cambridge University Press. Cambridge, Reino Unido. Pp: 5-34.
- LORANCA-BRAVO, S. J. , Rodríguez-Estrella, R. , Bautista-Ortega, A. & Cuatianquiz-Lima, C. 2013. Nuevos registros de aves en el Parque Nacional La Malinche, Tlaxcala, México. *Acta Zoológica Mexicana*. 29(2): 441-447.
- MARTIN, K., K. Aitken & K. Wiebe. 2004. Nest sites and nest webs for cavity-nesting communities in interior British Columbia, Canada: nest characteristics and niche partitioning. *The Condor*. 106: 5-19.
- MERMOZ, M & J. F. Ornelas. 2004. Phylogenetic analysis of life-history adaptations in parasitic cowbirds. *Behav. Ecol.* 15: 109-119.
- MORENO, J. & J. L. Osorno. 2003. Avian egg colour and sexual selection: does eggshell pigmentation reflect female condition and genetic quality? *Ecology Letters*. 6:803-806.
- RIEHL, C. 2013. Evolutionary routes to no-kin cooperative breeding in birds. *Proc. R. Soc.* 208: 20132245.
- ROWLEY, I. & E. M. Russell. 1990. Splendid fairy-wrens: demonstrating the importance of longevity. En: *Cooperative Breeding in Birds: Long-term Studies of Ecology and Behaviour*. (Editores: P. B. Stacey & W. D. Koenig). Ed. Cambridge University Press. Cambridge, Reino Unido. Pp: 1-30.
- RUIZ-SOBERANES, J. A. & G. Gómez-Álvarez. 2010. Estudio mastofaunístico del Parque Nacional Malinche, Tlaxcala, México. *Therya*. 1(2): 97-110.
- SELANDER, R.K. 1964. Speciation in wrens of the genus *Campylorhynchus*. *Univ. Calif. Publ. Zool.* 74:1-224.
- SEMARNAT & CONANP (Comp. ). 2013. Plan de manejo Parque Nacional La Montaña Malinche o Matlalcuéyatl. México. 205 págs.
- SPENCE, J. 2005. Western bluebird. En: *The Arizona Breeding Bird Atlas*. (Editores: T. Corman & C. Wise-Gervais) Ed. UNM Press. EUA. Pp: 430-431.
- SHIZUKA, D. & J. Dickinson. 2005. Using molt limits to age Western Bluebirds. *J. Field Ornithol.* 76(2): 193-196.
- STUTCHBURY, B. & E. Morton. 2008. Recent advances in the behavioral ecology of tropical birds. *The Wilson Journal of Ornithology*. 120(1): 26-37.
- WEIKEL, J. & J. Hayes. 1999. The foraging ecology of cavity-nesting birds in young forests of the northern coast range of Oregon. *The Condor*. 101: 58-66
- WIKELSKI, M., M. Hau, W. D. Robinson & J. C. Wingfield. 2003. Reproductive seasonality of seven neotropical passerine species. *The Condor*. 105(4): 683-695.
- WILD, G. & C. Koykka. 2014. Inclusive-fitness logic of cooperative breeding with benefits of natal philopatry. *Phil. Trans. R. Soc.* 369:20130361.

## 10. APÉNDICES

### Apéndice 1

Tabla 1. Se muestran las latitudes y longitudes de cada una de las 12 cajas presentes en la localidad de San José Teacalco. Por razones de logística y registro se mantuvo la numeración previa, la cual fue utilizada en el estudio previo.

San José Teacalco (prom. 2974. 2 msnm)		
Punto	Número de Caja	Ubicación
P-1	C-1	N 19°17' 22", W 98°02' 29"
	C-4	N 19°17' 22", W 98°02' 28. 6"
	C-10	N 19° 17' 21. 85", W 98° 02' 28. 6"
P-2	C-1	N 19° 17' 27", W 98° 02' 20"
	C-2	N 19° 17' 29", W 98° 02' 21"
	C-3	N 19° 17' 31", W 98° 02' 20"
P-3	C-2	N 19° 17' 31", W 98° 02' 20"
	C-3	N 19° 17' 43", W 98° 02' 27"
	C-4	N 19° 17' 41", W 98° 02' 28"
P-4	C-3	N 19° 17' 38", W 98° 02' 35"
	C-4	N 19° 17' 37", W 98° 02' 32"
	C-5	N 19° 17' 36", W 98° 02' 34"

Tabla 2. Se muestran las latitudes y longitudes de cada una de las 20 cajas presentes en la localidad de San José Teacalco colocadas para el año 2013.

San José Teacalco (prom. 2974. 2 msnm)	
Sitio	Ubicación
S1T	N 19° 17' 74", W 98° 2' 64"
S2T	N 19° 17' 72", W 98° 2' 63"
S3T	N 19° 17' 70", W 98° 2' 61"
S4T	N 19° 17' 67", W 98° 2' 59"
S5T	N 19° 17' 65", W 98° 2' 57"
S6T	N 19° 17' 64", W 98° 2' 56"
S7T	N 19° 17' 63", W 98° 2' 53"
S8T	N 19° 17' 62", W 98° 2' 48"
S9T	N 19° 17' 66", W 98° 2' 46"
S10T	N 19° 17' 64", W 98° 2' 44"
S11T	N 19° 17' 49", W 98° 2' 40"
S12T	N 19° 17' 48", W 98° 2' 39"
S13T	N 19° 17' 45", W 98° 2' 38"
S14T	N 19° 17' 41", W 98° 2' 37"

S15T	N 19° 17' 40", W 98° 2' 39"
S16T	N 19° 17' 42", W 98° 2' 40"
S17T	N 19° 17' 42", W 98° 2' 44"
S18T	N 19° 17' 40", W 98° 2' 43"
S19T	N 19° 17' 38", W 98° 2' 43"
S20T	N 19° 17' 42", W 98° 2' 48"

Tabla 3. Se muestran las latitudes y longitudes de cada una de las 11 cajas presentes en la localidad de Pilares utilizadas en el 2012. Por razones de logística y registro se mantuvo la numeración anterior, la cual fue utilizada en el estudio previo.

Los Pilares (prom. 2892. 4 msnm)		
Punto	Número de Caja	Ubicación
P-1	C-2	N 19° 15' 35", W 97° 58' 14"
	C-3	N 19° 15' 35", W 97° 58' 15"
	C-4	N 19° 15' 36", W 97° 58' 15"
	C-6	N 19° 15' 36", W 97° 58' 14"
P-2	C-6	N 19° 15' 29", W 97° 58' 09"
	C-10	N 19° 15' 24", W 97° 58' 24"
P-10	C-1	N 19° 15' 36", W 97° 57' 57"
	C-3	N 19° 15' 35", W 97° 57' 56"
	C-6	N 19° 15' 36", W 97° 57' 56"
P-11	C-1	N 19° 15' 25", W 97° 57' 27"
P-12	C-4	N 19° 15' 12", W 97° 58' 15"

Tabla 4. Se muestran las latitudes y longitudes de cada una de las 20 cajas presentes en la localidad de Los Pilares colocadas para el año 2013

Los Pilares (prom. 2892. 4 msnm)	
Sitio	Ubicación
S1P	N 19° 15' 34", W 97° 58' 14"
S2P	N 19° 15' 33", W 97° 58' 14"
S3P	N 19° 15' 32", W 97° 58' 14"
S4P	N 19° 15' 32", W 97° 58' 13"
S5P	N 19° 15' 31", W 97° 58' 13"
S6P	N 19° 15' 30", W 97° 58' 11"
S7P	N 19° 15' 29", W 97° 58' 11"

S8P	N 19° 15' 27", W 97° 58' 10"
S9P	N 19° 15' 26", W 97° 58' 09"
S10P	N 19° 15' 27", W 97° 58' 07"
S11P	N 19° 15' 42", W 97° 58' 04"
S12P	N 19° 15' 42", W 97°
S13P	N 19° 15' 40", W 97° 58' 02"
S14P	N 19° 15' 39", W 97° 58' 02"
S15P	N 19° 15' 37", W 97° 58' 01"
S16P	N 19° 15' 37", W 97° 58'
S17P	N 19° 15' 36", W 97° 57' 59"
S18P	N 19° 15' 36", W 97° 57' 57"
S19P	N 19° 15' 37", W 97° 57' 56"
S20P	N 19° 15' 37", W 97° 57' 55"

Tabla 5. Se muestran las latitudes y longitudes de cada una de las 20 cajas presentes en la localidad de Altamira (2012). En este caso cada una de las cajas colocadas era nueva así como la localidad misma.

Guadalupe Altamira (prom. 2836 msnm)	
Número de caja	Ubicación
C-1	N 19° 16' 57. 1", W 97° 59' 41. 3"
C-2	N 19° 16' 58. 2", W 97° 59' 40. 7"
C-3	N 19° 16' 59. 1", W 97° 59' 40. 3"
C-4	N 19° 16' 59. 7", W 97° 59' 40. 7"
C-5	N 19° 17' 00. 9", W 97° 59' 40. 7"
C-6	N 19° 17' 02. 4", W 97° 59' 41. 5"
C-7	N 19° 17' 02. 7", W 97° 59' 42. 5"
C-8	N 19° 17' 03. 0", W 97° 59' 43. 7"
C-9	N 19° 17' 02. 6", W 97° 59' 44. 5"
C-10	N 19° 17' 02. 0", W 97° 59' 45. 8"
C-11	N 19° 17' 00. 9", W 97° 59' 45. 9"
C-12	N 19° 16' 58. 6", W 97° 59' 45. 4"
C-13	N 19° 16' 58. 2", W 97° 59' 43. 6"
C-14	N 19° 16' 58. 1", W 97° 59' 42. 9"
C-15	N 19° 16' 59. 5", W 97° 59' 43. 5"
C-16	N 19° 17' 00. 2", W 97° 59' 43. 6"
C-17	N 19° 17' 00. 8", W 97° 59' 43. 1"
C-18	N 19° 17' 01. 6", W 97° 59' 43. 1"
C-19	N 19° 16' 59. 1", W 97° 59' 41. 7"
C-20	N 19° 16' 56. 7", W 97° 59' 42. 1"

Tabla 6. Se muestran las latitudes y longitudes de cada una de las 12 cajas presentes en la localidad de Francisco Javier Mina. Todas las cajas fueron colocadas en estudios previos y utilizadas en el 2013.

Francisco Javier Mina (prom. 2640 msnm)		
Punto	Caja	Ubicación
1	1	N 19° 11' 16", W -97° 57' 45"
	2	N 19° 11' 25", W 97° 57' 44"
	4	N 19° 11' 16", W 97° 57' 44"
2	1	N 19° 11' 21", W 97° 57' 54"
	3	N 19° 11' 23", W 97° 57' 56"
	5	N 19° 11' 24", W 97° 57' 57"
3	1	N 19° 11' 24", W 97° 58' 07"
	2	N 19° 11' 25", W 97° 58' 08"
	3	N 19° 11' 22", W 97° 58' 07"
4	1	N 19° 11' 16", W 97° 57' 56"
	2	N 19° 11' 15", W 97° 57' 57"
	3	N 19° 11' 17", W 97° 57' 58"

Tabla 7. Se muestran las latitudes y longitudes de cada una de las 20 cajas presentes en la localidad de Francisco Javier Mina. Todas las cajas fueron colocadas en el 2013.

Francisco Javier Mina (prom. 2640 msnm)	
Sitio	Ubicación
S1X	N 19° 11' 20", W 97° 57' 75"
S2X	N 19° 11' 22", W 97° 57' 75"
S3X	N 19° 11' 29", W 97° 57' 69"
S4X	N 19° 11' 24", W 97° 57' 76"
S5X	N 19° 11' 28", W 97° 57' 74"
S6X	N 19° 11' 30", W 97° 57' 76"
S7X	N 19° 11' 33", W 97° 57' 79"
S8X	N 19° 11' 33", W 97° 57' 80"
S9X	N 19° 11' 32", W 97° 57' 82"
S10X	N 19° 11' 34", W 97° 57' 84"
S11X	N 19° 11' 40", W 97° 57' 91"
S12X	N 19° 11' 38", W 97° 57' 90"

S13X N 19° 11' 36", W 97° 57' 96"

S14X N 19° 11' 36", W 97° 57' 97"

S15X N 19° 11' 38", W 97° 58'

S16X N 19° 11' 37", W 97° 58' 02"

S17X N 19° 11' 38", W 97° 58' 06"

S18X N 19° 11' 38", W 97° 58' 10"

S19X N 19° 11' 38", W 97° 58' 17"

S20X N 19° 11' 41", W 97° 58' 14"

## Apéndice 2

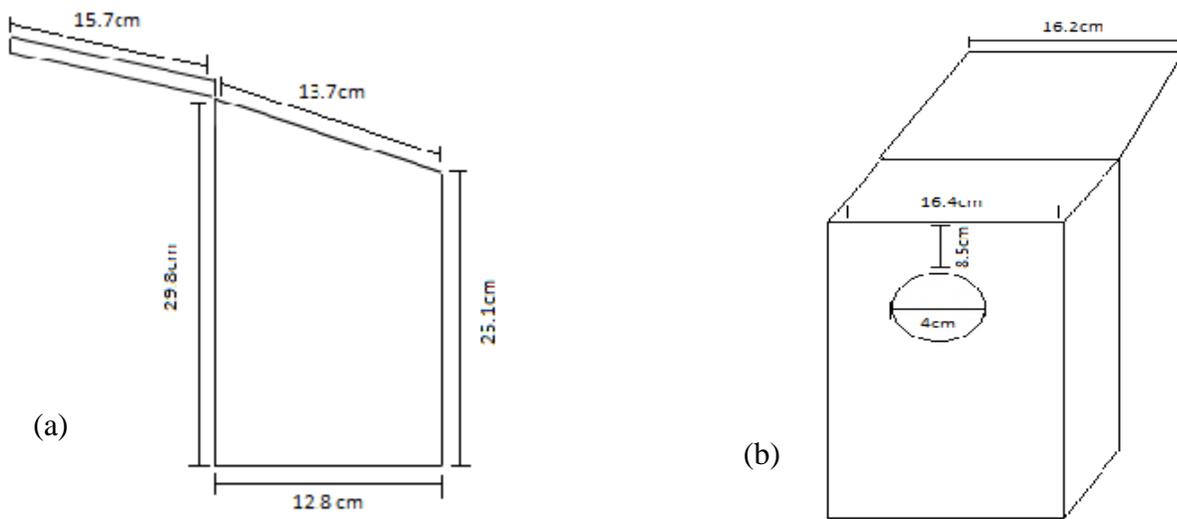


Figura 1. Se muestran las diferentes medidas de las cajas nido utilizadas para el estudio. En (a) se muestra la cara lateral y en (b) la cara frontal de cada una de ellas

### Apéndice 3



Figuras 1, 2, 3, 4 y 5. En las fotografías superiores tanto de la derecha como de la izquierda se puede observar el manejo que tienen los pollos tanto para la toma de medidas morfométricas así como para la obtención de la sangre. En la fotografía del centro se puede observar la forma de almacenamiento de las muestras de sangre obtenidas. En la fotografía inferior izquierda, se aprecia cómo fue anillado un individuo de al menos semana y media de nacido, por otra parte, en la fotografía inferior derecha se puede observar a un volantón de al menos 3 semanas de nacido así como los anillos que lleva en su pata, es en este punto en el que revisamos que los anillos no causaran interferencia con sus actividades cotidianas

## Apéndice 4

Tabla 1. En ella se puede apreciar los diferentes microsaéties utilizados para cada una de las muestras de sangre obtenidas, así mismo se puede observar que la temperatura de recocido varía en uno de ellos. (Tabla obtenida y modificada de Ferree *et al.*, 2008)

Locus	Etiqueta fluorescente y secuencia del primer (5'-3')	Motivo	T (°C)	Número de alelos	Tamaño del rango del alelo (pb)
Smex1	F: 6FAMAAGTGCATTCTCTGAAGAAAAG R: <b>GTTTCT</b> CCAAAGTTGTCAGTTATCACA	(CAT) <sub>12</sub>	56	13	130-164
Smex5	F: PETCACAGCACCTCCTCCTA R: <b>GTTTCT</b> GAAATAGCAACAGGGATTACAC	(GAT) <sub>14</sub> ... (CT) <sub>7</sub>	56	14	155-190
Smex6	F: 6FAMGAAGCTAACGTAACCAAATCTG R: <b>GTTTCT</b> TCAGCACCAACATATACAGAAG	(CT) <sub>3</sub> (CACAT) <sub>14</sub>	56	15	229-308
Smex9	F: 6FAMGCCTCTGCCATCCCTCTA R: <b>GTTTCT</b> AAAACCAAAGTTACCCAAGCA	(ATGT) <sub>6</sub>	56	14	180-225
Smex13	F: NEDCCTCTAGTTTCCAAGCCATATT R: <b>GTTTCT</b> TGTTAAATGGGGATTCTCAG	(TCTA) <sub>9</sub>	62	13	151-187
Smex15	F: VICCATCAACAAAACCTTTTCTCAG R: <b>GTTTCT</b> CCTGGCATTGCATCACTTAC	(CTAT) <sub>7</sub> ...	56	35	213-330

## Apéndice 5

Tabla 1. Se muestran los alelos de los seis microsátelites con los que se trabajaron ambos periodos del estudio. Para obtener cada uno de los alelos se utilizó GeneMapper 3. 7®.

Localidad	Año	Caja	Individuo	Sexo	Microsatélite 1		Microsatélite 5		Microsatélite 6		Microsatélite 9		Microsatélite 13		Microsatélite 15	
					Alelo A	Alelo B	Alelo A	Alelo B	Alelo A	Alelo B						
Pilares	2012	P2C10	4		148	148	172	184	239	274	194	206	156	156	254	262
			8		145	163	172	175	259	274	198	206	156	156	226	278
			10		139	163	172	172	239	259	194	206	156	156	218	254
		P11C1	5		145	145	172	184	239	249	206	206	156	160	222	262
			7		139	151	172	178	249	269	194	206	156	156	222	246
			9		151	151	166	178	254	269	218	224	156	172	246	258
			12		139	151	0	0	249	269	194	202	156	156	222	270
		P10C3	13		151	163	172	172	269	269	194	218	156	156	246	270
			6		151	154	172	184	239	274	206	206	156	156	270	274
			14		151	163	178	184	239	259	206	206	160	160	270	274
	2013	S18P	948	Macho	139	154	0	0	244	249	182	182	0	0	250	262
			892	Hembra	145	154	166	184	259	274	206	206	156	156	270	274
			889		145	151	166	178	254	259	206	206	160	160	0	0
			884		142	148	0	0	249	269	0	0	0	0	0	0
883				163	163	0	0	254	259	214	214	0	0	0	0	
Teacalco	2012	P1C10	1		139	142	0	0	239	249	194	202	172	172	254	254
			2		139	142	175	181	249	249	194	202	160	172	254	270
			3		139	139	172	184	249	269	194	206	172	172	226	270
			11		139	142	172	181	239	269	202	206	160	172	222	226
		P3C2	15		148	151	169	172	239	269	194	218	160	160	226	262
			18		139	163	172	178	244	274	194	218	156	160	262	262
			20		139	163	169	172	239	256	0	0	156	156	0	0
	P3C3	16		0	0	169	178	269	269	182	182	0	0	0	0	
		17		139	163	169	178	244	269	182	182	164	164	222	254	
	P4C4	19		145	145	172	172	264	269	182	182	160	172	222	278	
		21		142	163	172	172	269	288	0	0	0	0	222	278	
		898	Hembra	139	145	178	181	259	259	206	214	156	156	262	274	
	2013	T410	988		139	157	178	178	259	279	194	194	156	156	274	274
981				139	151	178	178	259	279	206	214	156	160	274	274	

		985		145	151	0	0	249	259	182	182	152	160	254	262	
		990	Macho	148	151	0	0	239	254	182	218	156	172	246	278	
		983	Macho	145	145	172	172	264	269	182	182	160	172	222	278	Ayudante
	T44	678		145	151	169	172	264	274	194	194	156	156	222	262	
		679		154	154	172	172	249	264	182	194	156	156	222	246	
		674		139	145	0	0	0	0	194	218	156	156	0	0	
		675		151	157	166	172	269	306	182	182	172	172	222	278	
		543	Hembra	139	148	169	172	239	244	194	218	156	160	262	262	
	T33	677		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	262	262	
		673		151	163	178	178	239	269	202	222	156	160	0	0	
		680		139	145	169	169	244	249	194	202	160	172	262	262	
		894	Macho	139	139	0	0	0	0	202	222	156	160	250	262	
	S8T	891	Hembra	0	0	178	178	0	0	194	202	152	152	0	0	
		976		0	0	0	0	249	259	194	202	152	160	250	250	
		975		139	148	166	178	0	0	202	202	152	160	262	274	
		973		139	139	166	184	244	259	202	202	152	156	250	266	

Javier Mina 2013	S1X	893	Macho	151	151	0	0	239	274	0	0	156	156	218	246		
		941	Hembra	142	151	172	181	244	249	210	218	156	156	262	274		
		689		145	151	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		686		145	151	172	184	239	249	218	218	156	172	250	274		
		688		151	151	0	0	0	0	0	0	0	0	0	246	262	
			685	Macho	145	154	172	172	239	239	194	214	156	156	218	262	
			987	Hembra	0	0	169	172	0	0	194	218	156	156	258	278	
		S17X	684		145	151	166	169	239	259	194	194	156	156	254	254	
			687		148	151	166	169	239	259	194	218	156	160	258	258	
			681		148	151	166	169	239	254	194	194	156	160	258	278	
			690		148	163	166	172	254	259	194	218	156	160	258	258	

## Apéndice 6

Se utilizó Micro-Checker 2. 2. 3® para verificar la presencia de alelos nulos dentro del análisis, mediante este programa se decidió solo utilizar 4 de los 6 microsatélites que originalmente se habían amplificado. A continuación se muestra el resumen general de los 6 microsatélites utilizados:

Tabla 1. Resumen obtenido después del análisis llevado a cabo por Micro Checker®. Es importante señalar que el intervalo de confianza fue del 95%.

Locus	Alelos nulos	Oosterhout	Chakraborty	Brookfield 1	Brookfield 2
Smex 1	No	0. 0328	0. 0361	0. 0313	0. 207
Smex 5	No	0. 0467	0. 0454	0. 0377	0. 3653
Smex 6	No	-0. 0288	-0. 355	-0. 0266	0. 8289
Smex 9	Si	0. 0963	0. 1175	0. 0938	0. 2881
Smex 13	Si	0. 1426	0. 1645	0. 1099	0. 2919
Smex 15	Si	0. 077	0. 083	0. 072	0. 2586

Tabla 2. Muestra el resumen de microsatélite Smex9. F. A. O. se refiere a la frecuencia alélica observada.

Clase	F. A. O.	Oosterhout	Chakraborty	Brookfield 1	Brookfield 2
182	0. 1591	0. 0955	0. 1404	0. 1442	0. 1132
194	0. 8182	0. 3258	0. 2808	0. 2883	0. 2264
198	0. 0114	0. 0114	0. 01	0. 0103	0. 0081
202	0. 1477	0. 134	0. 1304	0. 1339	0. 1051
206	0. 1591	0. 134	0. 1404	0. 1442	0. 1132
210	0. 0114	0. 0114	0. 01	0. 0103	0. 0081
214	0. 0341	0. 0347	0. 0301	0. 0309	0. 0243
218	0. 1364	0. 134	0. 1203	0. 1236	0. 097
222	0. 0227	0. 023	0. 0201	0. 0206	0. 0162

Tabla 3. Muestra el resumen del microsatélite Smex13. F. A. O. se refiere a la frecuencia alélica observada.

Clase	F. A. O.	Oosterhout	Chakraborty	Brookfield 1	Brookfield 2
152	0. 0652	0. 0559	0. 0545	0. 0581	0. 0462
156	0. 5326	0. 429	0. 445	0. 4741	0. 3771
160	0. 2883	0. 2339	0. 1907	0. 2032	0. 1616
164	0. 0217	0. 0109	0. 0182	0. 0194	0. 0154
172	0. 1522	0. 1277	0. 1271	0. 1355	0. 1078

Tabla 4. Muestra el resumen del microsatélite Smex15. F. A. O. se refiere a la frecuencia alélica observada.

Clase	F. A. O.	Oosterhout	Chakraborty	Brookfield 1	Brookfield 2
218	0. 0341	0. 0347	0. 0313	0. 0316	0. 0253
222	0. 125	0. 134	0. 1146	0. 116	0. 0927
226	0. 0455	0. 0465	0. 0417	0. 0422	0. 0337
246	0. 0795	0. 083	0. 0729	0. 0738	0. 059
250	0. 0568	0. 0465	0. 0521	0. 0527	0. 0421
254	0. 1023	0. 083	0. 0983	0. 0949	0. 0758
258	0. 0682	0. 0465	0. 0625	0. 0633	0. 0506
262	0. 2159	0. 1882	0. 198	0. 2004	0. 1601
266	0. 0114	0. 0114	0. 0104	0. 0105	0. 0084
270	0. 0682	0. 0707	0. 0625	0. 0633	0. 0506
274	0. 1136	0. 0955	0. 1042	0. 1055	0. 0843
278	0. 0795	0. 083	0. 0729	0. 0738	0. 059

## Apéndice 7

Genepop 4. 2 ® se utilizó para obtener los índices de Fst (índice que nos indica las variaciones alélicas de las diferentes localidades) por población para todos los loci bajo las siguientes condiciones: se utilizó la opción 6 “Fst. & other correlations” y la única modificación que se le hizo fue en la sección de “Allele identity (F- statistics)” seleccionar la opción 2 “ For all population pairs” los demás valores se tomaron como el programa los predetermina (Figura 1), así mismo, con ayuda del mismo programa, se utilizó para la conversión a un formato diferente, para ello se ocupó la opción 7 “Data format conversions” donde se seleccionó el primer formato “GENEPOP format ==> FSTAT (F statistics) format”, así como la opción “GENEPOP format ==> ARLEQUIN project “y se modificó la opción de “Microsatellite”, los demás valores se dejaron como el programa marca (Figura 2). Para poder obtener los valores de riqueza alélica y hacer una prueba de diferenciación pareada se utilizó el programa de Fstat 2. 9. 3. 2® en el cual las opciones que se utilizaron fueron las siguientes: en la sección de “Gene diversities and F-statistics”, subsección “Per locus and samples statistics” solamente se seleccionó la opción de “Allelic richness”, en la subsección “Global statistics” no se seleccionó ninguna opción, en la parte inferior de la pantalla se seleccionó la opción “Pairwise tests of differentiation” y en la subsección “Nominal level for multiple tests” se marcó la opción “1/100” (Figura 3). Para evaluar el equilibrio Hardy-Weinberg y los índices de diversidad molecular se utilizó el programa de Arlequin 3. 1®, en donde en la opción de “Settings” se seleccionó “Linkage disequilibrium” y la subopción de “Hardy-Weinberg” (H-W) así como la opción de “Molecular diversity indices” (Figura 4). Para los análisis de paternidad se utilizó el programa Cervus 3. 0. 3® donde se tomaron las opciones de predeterminado (Figura 5).

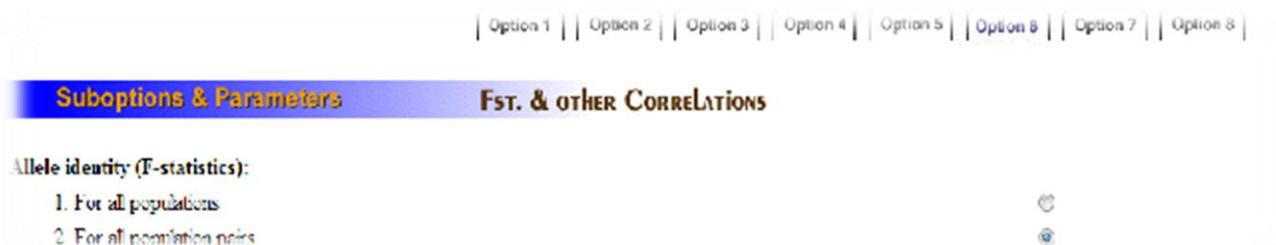


Figura 1. Se muestran la única condición que se modificó para la obtención de los índices de Fst con ayuda de Genepop 4. 2 ®

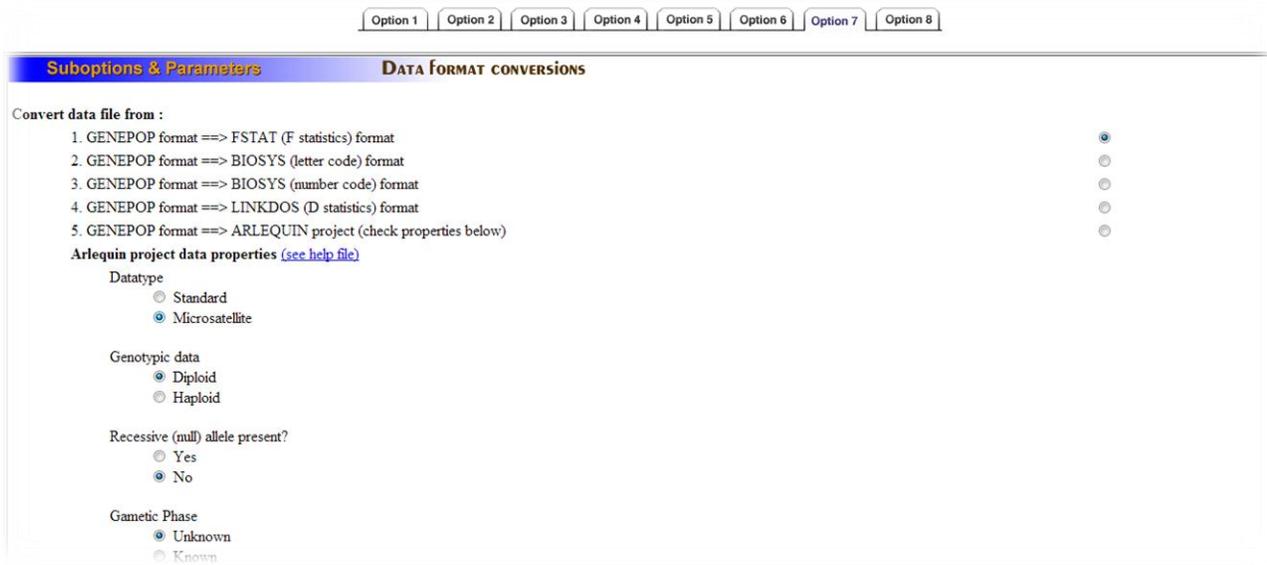


Figura 2. Se muestran las condiciones utilizadas para la conversión del archivo a un archivo reconocible para Fstat 2. 9. 3. 2 @.

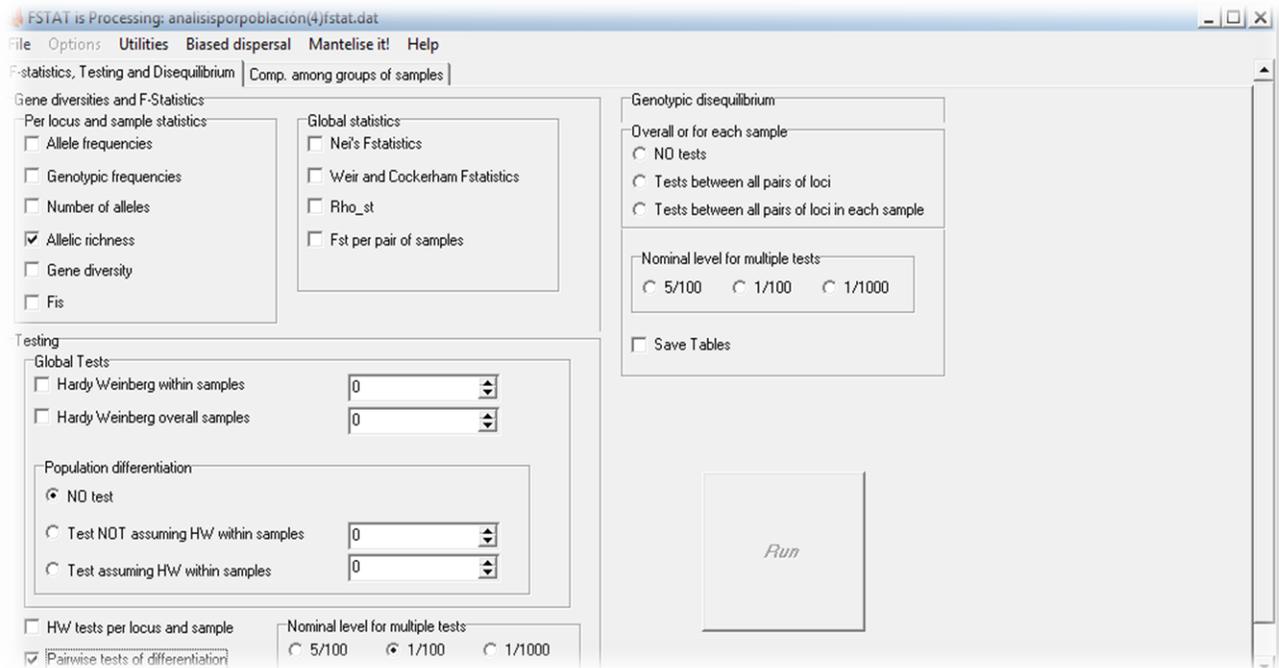


Figura 3. Se muestran las condiciones utilizadas para la obtención de la riqueza alélica y de la prueba de diferenciación pareada mediante Fstat 2. 9. 3. 2 @.

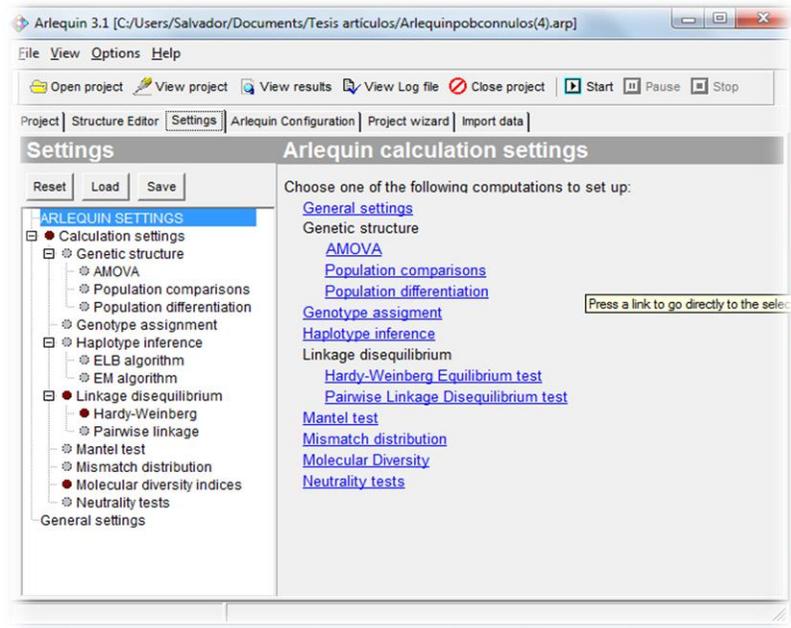


Figura 4. Se muestran las condiciones utilizadas para la obtención de los valores de H-W así como los índices de diversidad molecular mediante la utilización de Arlequin 3. 1®.

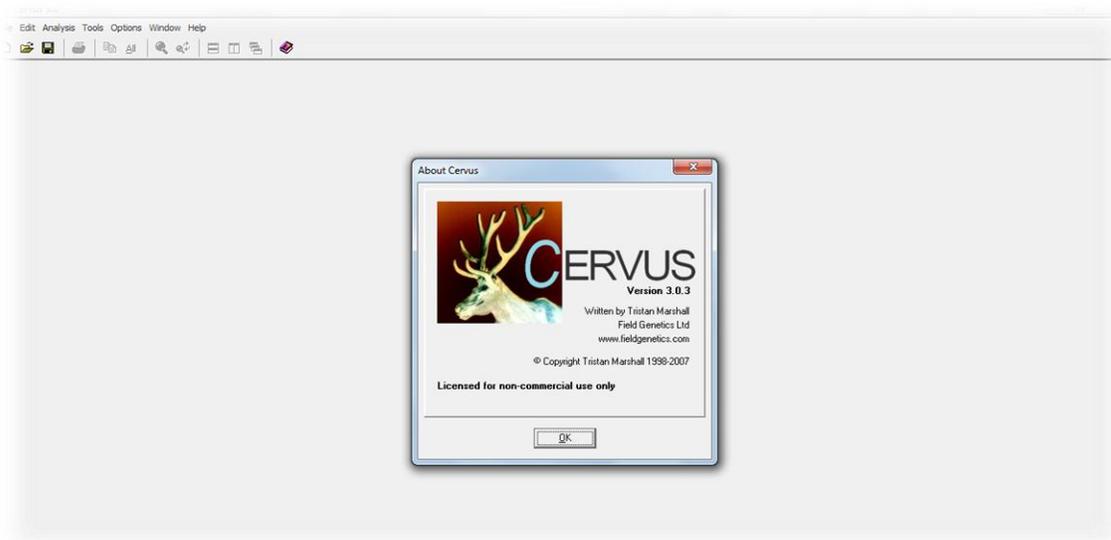


Figura 5. Se muestran la carátula del programa utilizado para los análisis de paternidad: Cervus 3. 0. 3®.

## Apéndice 8

Tabla 1. Se muestran los análisis de paternidad de las diferentes localidades, así mismo en la columna "Posible Familia" se muestran los individuos como fueron capturados y asignados en campo. Aquellos que se encuentran sombreados son los que Cervus 3.0.3® nos indicó como parientes más probable. .

Localidad	Caja	Posible familia	Cría	Número de loci	Madre	Número de loci	Pares de loci comparados	Pares de loci que no corresponden	Puntuación del par LOD	Delta par	Padre	Número de loci	Pares de loci comparados	Pares de loci que no corresponden	Puntuación del par LOD	Delta par	Comparación en trio de loci	Loci en trio que no coinciden	Puntuación del trio LOD	Delta trio
Pilares	S18P	Crías: 889, 884, 883	889	3	892	4	3	0	1.50E+0000	1.50E+0000	948	3	2	2	-7.83E+0000	0.00E+0000	3	2	-6.61E+0000	0.00E+0000
		Madre: 892	884	2	892	4	2	2	-7.83E+0000	0.00E+0000	948	3	2	1	-3.54E+0000	0.00E+0000	2	2	-8.30E+0000	0.00E+0000
		Padre: 948	883	2	892	4	2	1	-3.70E+0000	0.00E+0000	948	3	2	2	-7.83E+0000	0.00E+0000	2	2	-8.40E+0000	0.00E+0000
P1C10		Crías: 988, 981, 985	988	4	898	4	4	0	3.63E+0000	3.63E+0000										
		Madre: 898	981	4	898	4	4	0	3.63E+0000	3.63E+0000										
		Padre: --	985	3	898	4	3	0	2.01E+0000	2.01E+0000										
P4C4		Crías: 678, 69, 674, 675	983	4							990	3	3	2	-6.75E+0000	0.00E+0000				
		Madre: --	678	4							983	4	4	0	3.74E+0000	3.74E+0000				
		Padre: 990	678	4							894	2	2	1	-3.85E+0000	0.00E+0000				
Teacalco		Ayudante: 983	678	4							990	3	3	2	-7.08E+0000	0.00E+0000				
			679	4							983	4	4	1	-6.845E-0001	0.00E+0000				
			679	4							990	3	3	2	-5.84E+0000	0.00E+0000				
P3C3		Crías: 677, 673, 680	677	0							894	2	2	2	-7.83E+0000	0.00E+0000				
		Madre: 543	673	3	898	4	3	2	-7.01E+0000	0.00E+0000										
		Padre: --	673	3	543	4	3	2	-7.08E+0000	0.00E+0000										
S8T		Crías: 976, 975, 973	680	4	543	4	4	0	3.60E+0000	3.60E+0000										
		Madre: 891	680	4	898	4	4	2	-6.20E+0000	0.00E+0000										
		Padre: 894	680	4	898	4	4	2	-6.20E+0000	0.00E+0000										
S8T		Crías: 976, 975, 973	976	2	898	4	2	1	-2.481E+0000	0.00E+0000	894	2	1	0	2.00E+0000	2.00E+0000	2	1	-1.04E+0000	0.00E+0000
		Madre: 891	976	2	543	4	2	2	-7.83E+0000	0.00E+0000	894	2	1	0	2.00E+0000	2.00E+0000	2	2	-6.40E+0000	0.00E+0000
		Padre: 894	976	2	898	4	2	1	-2.48E+0000	0.00E+0000	983	4	2	2	-7.83E+0000	0.00E+0000	2	2	-7.55E+0000	0.00E+0000
S8T		Crías: 976, 975, 973	976	2	898	4	2	1	-2.48E+0000	0.00E+0000	990	3	2	2	-7.83E+0000	0.00E+0000	2	2	-7.55E+0000	0.00E+0000
		Madre: 891	976	2	543	4	2	2	-7.83E+0000	0.00E+0000	990	3	2	2	-7.83E+0000	0.00E+0000	2	2	-7.55E+0000	0.00E+0000
		Padre: 894	976	2	898	4	2	1	-2.48E+0000	0.00E+0000	990	3	2	2	-7.83E+0000	0.00E+0000	2	2	-7.55E+0000	0.00E+0000

976	2	543	4	2	2	-7.83E+0000	0.00E+0000	983	4	2	2	-7.83E+0000	0.00E+0000	2	2	-9.19E+0000	0.00E+0000
976	2	543	4	2	2	-7.83E+0000	0.00E+0000	990	3	2	2	-7.83E+0000	0.00E+0000	2	2	-9.19E+0000	0.00E+0000
975	3	898	4	3	0	1.17E+0000	1.17E+0000	990	3	2	1	-2.61E+0000	0.00E+0000	3	1	-1.20E+0000	0.00E+0000
975	3	898	4	3	0	1.17E+0000	1.17E+0000	894	2	2	0	5.17E-0001	5.17E-0001	3	1	-1.60E+0000	0.00E+0000
975	3	543	4	3	1	-1.67E+0000	0.00E+0000	894	2	2	0	5.17E-0001	5.17E-0001	3	2	-4.65E+0000	0.00E+0000
975	3	543	4	3	1	-1.67E+0000	0.00E+0000	990	3	2	1	-2.61E+0000	0.00E+0000	3	2	-5.62E+0000	0.00E+0000
975	3	898	4	3	0	1.17E+0000	1.17E+0000	983	4	3	3	-1.18E+0001	0.00E+0000	3	3	-1.10E+0001	0.00E+0000
975	3	543	4	3	1	-1.67E+0000	0.00E+0000	983	4	3	3	-1.18E+0001	0.00E+0000	3	3	-1.10E+0001	0.00E+0000
973	4	898	4	4	2	-5.94E+0000	0.00E+0000	894	2	2	0	2.44E+0000	2.44E+0000	4	2	-3.95E+0000	0.00E+0000
973	4	543	4	4	2	-6.30E+0000	0.00E+0000	894	2	2	0	2.44E+0000	2.44E+0000	4	2	-4.30E+0000	0.00E+0000
973	4	898	4	4	2	-5.94E+0000	0.00E+0000	990	3	3	3	-1.18E+0001	0.00E+0000	4	4	-1.51E+0001	0.00E+0000
973	4	543	4	4	2	-6.30E+0000	0.00E+0000	990	3	3	3	-1.18E+0001	0.00E+0000	4	4	-1.54E+0001	0.00E+0000
973	4	898	4	4	2	-5.9E+0000	0.00E+0000	983	4	4	4	-1.57E+0001	0.00E+0000	4	4	-1.58E+0001	0.00E+0000
973	4	543	4	4	2	-6.30E+0000	0.00E+0000	983	4	4	4	-1.57E+0001	0.00E+0000	4	4	-1.61E+0001	0.00E+0000

S1X	Crías:	689, 686, 688	689	0																	
	Madre:	941	686	4	941	4	4	0	1.33E+0000	1.33E+0000	893	3	3	1	-4.06E+0000	0.00E+0000	4	2	-5.58E+0000	0.00E+0000	
	Padre:	893	686	4	987	2	2	1	-4.00E+0000	0.00E+0000	893	3	3	1	-4.06E+0000	0.00E+0000	4	1	-4.82E+0000	0.00E+0000	
			686	4	941	4	4	0	1.33E+0000	1.33E+0000	685	4	4	1	-2.56E+0000	0.00E+0000	4	2	-4.05E+0000	0.00E+0000	
			686	4	987	2	2	1	-4.00E+0000	0.00E+0000	685	4	4	1	-2.56E+0000	0.00E+0000	4	2	-7.13E+0000	0.00E+0000	
			688	2	941	4	2	0	6.91E-0001	6.91E-0001	893	3	2	0	1.78E+0000	1.78E+0000	2	0	3.16E+0000	3.16E+0000	
			688	2	987	2	1	1	-3.92E+0000	0.00E+0000	893	3	2	0	1.78E+0000	1.78E+0000	2	1	-2.52E+0000	0.00E+0000	
			688	2	941	4	2	0	6.91E-0001	6.91E-0001	685	4	2	1	-3.32E+0000	0.00E+0000	2	2	-6.95E+0000	0.00E+0000	
			688	2	987	2	1	1	-3.92E+0000	0.00E+0000	685	4	2	1	-3.32E+0000	0.00E+0000	2	2	-7.49E+0000	0.00E+0000	
		Crías:	684, 687, 681, 690	684	4	987	2	2	1	-3.60E+0000	0.00E+0000	893	3	3	1	-4.06E+0000	0.00E+0000	4	1	-4.42E+0000	0.00E+0000
		Madre:	987	684	4	987	2	2	1	-3.60E+0000	0.00E+0000	685	4	4	2	-7.08E+0000	0.00E+0000	4	2	-7.59E+0000	0.00E+0000
		Padre:	685	684	4	941	4	4	3	-1.23E+0001	0.00E+0000	685	4	4	2	-7.08E+0000	0.00E+0000	4	3	-1.25E+0001	0.00E+0000
				684	4	941	4	4	3	-1.23E+0001	0.00E+0000	893	3	3	1	-4.06E+0000	0.00E+0000	4	4	-1.62E+0001	0.00E+0000
				687	4	987	2	2	0	9.10E-0001	9.10E-0001	893	3	3	1	-4.06E+0000	0.00E+0000	4	1	-3.40E+0000	0.00E+0000
				687	4	987	2	2	0	9.10E-0001	9.10E-0001	685	4	4	3	-1.13E+0001	0.00E+0000	4	3	-1.08E+0001	0.00E+0000
			687	4	941	4	4	3	-1.23E+0001	0.00E+0000	893	3	3	1	-4.06E+0000	0.00E+0000	4	4	-1.62E+0001	0.00E+0000	
S17X			687	4	941	4	4	3	-1.23E+0001	0.00E+0000	685	4	4	3	-1.13E+0001	0.00E+0000	4	4	-1.70E+0001	0.00E+0000	
			681	4	987	2	2	0	1.60E+0000	1.60E+0000	893	3	3	1	-4.06E+0000	0.00E+0000	4	1	-2.91E+0000	0.00E+0000	
			681	4	987	2	2	0	1.60E+0000	1.60E+0000	685	4	4	3	-1.13E+0001	0.00E+0000	4	3	-1.03E+0001	0.00E+0000	
			681	4	941	4	4	3	-1.23E+0001	0.00E+0000	893	3	3	1	-4.06E+0000	0.00E+0000	4	4	-1.62E+0001	0.00E+0000	
			681	4	941	4	4	3	-1.23E+0001	0.00E+0000	685	4	4	3	-1.13E+0001	0.00E+0000	4	4	-1.70E+0001	0.00E+0000	
			690	4	987	2	2	0	5.12E-0001	5.12E-0001	893	3	3	3	-1.8E+0001	0.00E+0000	4	3	-1.15E+0001	0.00E+0000	
			690	4	941	4	4	3	-1.18E+0001	0.00E+0000	893	3	3	3	-1.8E+0001	0.00E+0000	4	3	-1.39E+0001	0.00E+0000	
			690	4	987	2	2	0	5.12E-0001	5.12E-0001	685	4	4	3	-1.12E+0001	0.00E+0000	4	4	-1.47E+0001	0.00E+0000	
			690	4	941	4	4	3	-1.18E+0001	0.00E+0000	685	4	4	3	-1.12E+0001	0.00E+0000	4	4	-1.716E+0001	0.00E+0000	

## Apéndice 9

Tabla 1. Se muestran las medidas morfométricas de los huevos obtenidas durante el primer periodo (2012).

Año	Localidad	Nido	Huevo	Primera Semana				Segunda Semana				Fecha de eclosión	Temperatura de eclosión [°C]		
				Largo [cm]	Ancho [cm]	Fecha de puesta	Temperatura de la puesta [°C]	Huevo	Largo [cm]	Ancho [cm]	Fecha				
2012	Pilares	P2C6	1	2.11	1.66	15/06/12	9.23	1	2.3	1.63	22/06/12	08/06/12	10.03		
			2	2.11	1.68			2	2.11	1.61					
			3	2.18	1.65			3	2.19	1.62					
		P2C10	1	2.1	1.65	25/05/12	11.61	1	2.2	1.66	08/06/12				
			2	2.15	1.61			2	2.1	1.67					
			3					3	2.19	1.62					
		P10C3	1	2.12	1.66	18/05/12		1	2.12	1.67	25/05/12			01/06/12	12.34
			2	2.18	1.71			2	2.24	1.65					
			3	2.14	1.65			3	2.12	1.69					
		P10C6	1			11/05/12	10.26	1	2.12	1.66					
			2					2	2.18	1.63					
		P11C1	1	2.05	1.59	18/05/12		1	2.12	1.66	25/05/12			01/06/12	12.34
	2		2.1	1.65	2			2.18	1.63						
	3		2.12	1.67	3			2.06	1.59						
			4	2.15	1.65			4	2.11	1.65					
				5				5	2.09	1.65					
		Teacalco	P1C10	1	2.12	1.61	25/05/12	11.61				08/06/12	10.03		
				2	2.21	1.68									
				3	2.13	1.62									
				4	2.27	1.75									
	P3C2		1	2.21	1.56	17/05/12		1	2.2	1.66	24/05/12	31/05/12	12.72		
			2	2.19	1.71			2	2.19	1.69					
			3	2.14	1.65			3	2.19	1.66					
	P3C3		1	2.2	1.68	17/05/12		1	2.15	1.67	24/05/12	31/05/12	12.72		
			2	2.28	1.62			2	2.26	1.61					
	P4C3		1	2.24	1.74	17/05/12		1	2.29	1.65	24/05/12	31/05/12	12.72		
			2	2.31	1.66			2	2.29	1.65					
	P4C4		1	2.05	1.42	14/06/12	9.22	1	2.14	1.62	24/05/12	31/05/12	12.72		
		1	2.15	1.65	1			2.14	1.62						
	P4C4	2	2.12	1.65	17/05/12		2	2.19	1.53	24/05/12	31/05/12	12.72			
		3	2.16	1.62			3	2.12	1.62						
		4	2.2	1.57			4	2.07	1.65						

(Cont.) Tabla 1. Se muestran las medidas morfométricas de los huevos obtenidas durante el segundo periodo (2013).

Año	Localidad	Nido	Huevo	Primera Semana				Segunda Semana					
				Largo [cm]	Ancho [cm]	Fecha de puesta	Temperatura de la puesta [°C]	Huevo	Largo [cm]	Ancho [cm]	Fecha	Fecha de eclosión	Temperatura de eclosión [°C]
2013	Pilares	S18P						1	2.18	1.62		16/05/13	
		S18P			01/05/13	11.45	2	2.12	1.68	07/05/13	16/05/13	11.23	
		S18P					3	2.24	1.7		16/05/13		
	Teacalco	P1C10			01/05/13	11.45	1	2.07	1.69				
							2	2.05	1.68	02/05/13	16/05/13	11.23	
							3	2.08	1.68				
							4	2.14	1.69				
		P3C3			17/05/13	11.51	1	2.09	1.56				
							2	2.16	1.66	24/05/13	01/06/13		
	P4C4			17/05/13	11.51								
						3	2.11	1.58					
						4	2.1	1.6					
	S8T			02/05/13	10.6								
						1	2.07	1.59					
						2	2.07	1.59	24/05/13	01/06/13			
	Javier Mina	S1X											
					04/05/13	11.12	3	2.1	1.67	15/05/13	19/05/13	11.59	
							4	2.13	1.64				
						5	2.06	1.64					
S17X						10.54	1	2.09	1.64				
				15/05/13			2	2	1.54	22/05/13	30/05/13		
							3	2.14	1.6				
							4	2.07	1.58				
							1	2	1.65				
							2	2.09	1.62				





## Apéndice 10

Tabla 1. Se muestran las condiciones generales de cada uno de los nidos así como la presencia/ausencia de ayudantes en los mismos.

Año	Localidad	Caja	Condiciones generales
2012	Pilares	P2C6	Creemos que los huevos fueron retirados manualmente, ya que no se encontró ninguna perturbación en el nido así como ni rastro de los huevos
		P2C10	Se observó la presencia de un solo macho en la defensa del nido, una vez que los pollos pasaron a ser volantones la caja fue robada
		P10C3	Se observó la presencia de más de un macho a la defensa del nido
		P10C6	Creemos que el nido fue depredado ya que a la semana siguiente de revisarlo el nido estaba todo revuelto y deshecho
		P11C1	Se observó la presencia de más de un macho a la defensa del nido
	Teacalco	P1C10	Se observó la presencia de más de un macho a la defensa del nido
		P3C2	Se observó la presencia de más de un macho a la defensa del nido
		P3C3	Se observó la presencia de más de un macho a la defensa del nido
		P4C3	Se observó la puesta de un huevo el 14 de junio, mismo que presentó un coloración mucho más clara que la de los demás nidos; éste jamás eclosionó.
		P4C4	Se observó la presencia de un solo macho a la defensa del nido
2013	Pilares	S18P	Se observó la presencia de más de un macho a la defensa del nido
		P1C10	Se observó la presencia de un solo macho a la defensa del nido
	Teacalco	P3C3	Se observó la presencia de un solo macho a la defensa del nido
		P4C4	Se observó la presencia de más de un macho a la defensa del nido, en este caso se distinguió al ayudante porque éste fue anillado en el 2012 en ese mismo nido.
		S8T	Se observó la presencia de un solo macho a la defensa del nido
	Javier Mina	S1X	Se observó la presencia de un solo macho a la defensa del nido
		S17X	Se observó la presencia de un solo macho a la defensa del nido

## Apéndice 11

A continuación se muestran unos ejemplos de cómo fue la evolución de alguno de los nidos, desde la fabricación del nido hasta el abandono del mismo por parte de los pollos, las cajas mostradas sólo son del primer periodo del estudio (2012).

### 1. Pilares:

#### 1.1 Punto 2 Caja 10



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)



(f)



(g)

Figuras 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7. Se muestra la evolución del nido del Punto 2 Caja 10 de la localidad de Pilares, en (a) se observa el comienzo de la construcción del nido (11/05/12), (b) el material típico en la construcción de los nidos de S. Mexicana: hojas aciculares maduras (18/05/12), (c) la puesta de los huevos (25/05/12), (d) al final ponen 4 huevos (8/06/12), (e) el nacimiento de los pollos (15/06/12), (f) comienzan a salirle los plumones (22/06/12) y (g) los pollos están listos para abandonar el nido, en este punto aún no se observa un dimorfismo sexual (29/06/12). De esta caja no se pudo obtener la fotografía cuando abandonan el nido ya que ésta fue robada.

## 1.2 Punto 10 Caja 3



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)



(f)

Figuras 8, 9, 10, 11, 12 y 13. Se muestra la evolución del nido del Punto 10 Caja 3 de la localidad de Pilares, esta caja había sido utilizada por otra especie, en (a) se observa el nido y la primera puesta (11/05/12), en (b) y (c) cuatro fueron los huevos que se pusieron, aquí se puede apreciar el color típico de éstos ( 18/05/12 y 25/05/12, respectivamente), en (d) las crías con plumones y anilladas (08/06/12), en (e) los volantones listos para abandonar el nido (15/06/12) y (f) el nido fue limpiado, nosotros creímos que otra o la misma especie ocuparían la caja pero no se registró ningún nido posterior (22/06/12).

## 2. Teacalco

### 2.1 Punto 1 Caja 10



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)

Figuras 14, 15, 16, 17 y 18. Se muestra la evolución del nido del Punto 1 Caja 10 de la localidad de Teacalco, en (a) la construcción del nido (18/05/12), en (b) la puesta con 4 huevos (25/05/12), en (c) a los pollos con plumones (15/06/12), en (d) a los pollos emplumados (22/06/12) y (e) los pollos listos para salir del nido, en este punto los ayudantes aún permanecían a la defensa del nido (29/06/12).

## 2.2 Punto 3 Caja 3



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)



(f)



(g)



(h)

Figuras 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 y 26. En ellas se puede apreciar la evolución que presenta dicha caja. En (a) se observa como comienzan a llenar de material la caja (03/05/12), en (b) el nido ya ha sido terminado de construir (10/05/12), en (c) y (d) se observa la puesta de los huevos, en este caso 3 (17/05/12 y 24/05/12, respectivamente), en (e) se observan a los pollos recién salidos del huevo donde se observa su condición atricial (31/05/12), en (f) se observan los plumones (07/06/12), en (g) los pollos se han convertido en volantones y están listos para salir del nido (14/06/12) y en (h) el nido ha sido abandonado por completo (21/06/12).

