



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA
UNIDAD ACADÉMICA MAZATLÁN
(BIOLOGÍA MARINA)

**ECOLOGÍA DE ALIMENTACIÓN, CONDICION CORPORAL Y REGULACIÓN
DE LAS DECISIONES REPRODUCTIVAS EN AVES MARINAS EN UN
AMBIENTE VARIABLE**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA:

M. C. ERICK GONZÁLEZ MEDINA

TUTOR:

DR. GUILLERMO JUAN FERNÁNDEZ ACEVES
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA, UNIDAD ACADÉMICA
MAZATLÁN, UNAM

COMITÉ TUTOR:

DRA. MA. DEL CORO ARIZMENDI ARIZMENDI ARRIAGA
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS, UNAM, CIUDAD DE MÉXICO

DR. ERIC MELLINK BIJTEL
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

DRA. SHARON ZINAH HERZKA LLONA
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

DR. EDUARDO PALACIOS CASTRO
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

ASESORES EXTERNOS:

DRA. MA. AUXILIADORA VILLEGAS SÁNCHEZ
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

DR. JOSÉ ALFREDO CASTILLO GUERRERO
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

CIUDAD DE MÉXICO, ABRIL, 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología
Universidad Nacional Autónoma de México



**ECOLOGÍA DE ALIMENTACIÓN, CONDICION CORPORAL Y
REGULACIÓN DE LAS DECISIONES REPRODUCTIVAS EN AVES
MARINAS EN UN AMBIENTE VARIABLE**

T E S I S

que para obtener el grado académico de
DOCTOR EN CIENCIAS
(Biología Marina)

Presenta

M. C. ERICK GONZÁLEZ MEDINA

Director de Tesis: **DR. GUILLERMO JUAN FERNÁNDEZ ACEVES**

Comité Tutorial: **DRA. MA. DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
DR. ERIC MELLINK BIJTEL
DRA. SHARON ZINAH HERZKA LLONA
DR. EDUARDO PALACIOS CASTRO**

Asesores externos: **DRA. MA. AUXILIADORA VILLEGAS SÁNCHEZ
DR. JOSÉ ALFREDO CASTILLO GUERRERO**

Mazatlán, Sinaloa, 2016

Resumen español

La toma de decisiones reproductivas en las aves marinas inicia cuando los individuos deciden dónde, con quién y cuándo iniciar y terminar la reproducción. Entre los factores importantes que regulan la toma de decisiones de inversión están las necesidades de las crías, la calidad y/o tipo de alimento y la calidad de la pareja. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de las necesidades de las crías y el alimento en la regulación de decisiones reproductivas del bobo de patas azules (*Sula nebouxii*) como sistema modelo. Se desarrolló un experimento para manipular las demandas de alimento de las crías incrementando y disminuyendo la edad de la nidada (simulando una mayor o menor demanda por alimento) y evaluar la respuesta de los padres (comportamiento y estado fisiológico e inmunológico) y sus efectos en las crías. Los padres ajustaron su comportamiento de forrajeo y cuidado parental, y tuvieron cambios a nivel fisiológico e inmunológico (se incrementó el desgaste muscular y el nivel de estrés [relación mayor de heterófilos/linfocitos] cuando las demandas se incrementaron y disminuyó el desgaste y estrés cuando las demandas se disminuyeron). Aunque los adultos hicieron ajustes en su comportamiento de forrajeo, este fue insuficiente y las crías tuvieron también costos y beneficios. Cuando se aumentaron las demandas las crías mostraron una condición corporal y niveles de fosfatasa alcalina (indicador de crecimiento) bajos y niveles de estrés mayores, pero cuando se disminuyeron las demandas las crías exhibieron un patrón opuesto. El ajuste parcial que realizaron los adultos fue suficiente para evitar que se activara el fratricidio facultativo, con lo que magnificaron su éxito reproductivo. Por otra parte, se evaluó si los padres son selectivos para alimentar a sus crías y el efecto de la calidad y/o tipo de alimento sobre la condición corporal y parámetros reproductivos de las hembras. Se determinó que los padres son selectivos y eligen presas más enriquecidas en ^{15}N para alimentar a sus crías con respecto a las que consumen ellos, lo que maximiza la ganancia neta de energía entregada a sus crías. En lo que respecta a las hembras se determinó que la calidad del alimento consumido al inicio de la reproducción incide a corto plazo en su condición fisiológica y

rendimiento reproductivo. En general este estudio aporta evidencia de que el bobo de patas azules tiene la capacidad de regular su inversión reproductiva en función de las necesidades de las crías y el alimento, pero con ciertos límites. La especie posee una estrategia de inversión flexible, donde los padres ajustan la cantidad de energía que invierten en la reproducción considerando las condiciones ambientales y la condición fisiológica e inmunológica individual.

Resumen ingles

Reproductive decisions on seabirds begin when they decide where, with whom and when they start and end reproduction. Among the important factors that regulate investment decision-making includes: the needs of offspring, quality and/or type of food consumed, and the quality of the partner. The aim of this study was to evaluate the effect of the needs of the chicks and the food in regulating reproductive decisions of the Blue-footed Booby (*Sula nebouxii*) as a model species. An experiment was carried out in the Blue-footed Booby to manipulate the demands for food from the offspring by increasing and decreasing the age of broods (simulating a greater or lesser demand for food) and to evaluate the response of parents (behavioral and physiological status) and its effects on their offspring. Parents adjusted their foraging behavior and parental care, and had changes at physiological and immunological levels (when demands were increased the stress level and muscle damage increased [higher ratio of heterophile/lymphocyte, and higher levels of creatine kinase/total protein], whereas when demands decreased, stress levels and muscle damage decreased). Although adults made adjustments in their foraging behavior, this was insufficient and their offspring also had costs and benefits. When reproductive expenditure were increased, chicks showed lower levels in body condition and alkaline phosphatase (growth indicator), and a higher levels of stress, but when demands were decreased chicks showed the opposite pattern. The partial adjustment of adults was enough to prevent the aggressive tendency of the senior chick, which magnified their reproductive success. Furthermore, it was assessed if parents were selective when they feed their chicks, and the effect of quality and/or type of food on body condition and reproductive parameters of females. It was determined that parents were selective and feed their young with prey more enriched in ^{15}N values than are those prey consumed by themselves, which maximizes the net energy gain delivered to their offspring. With respect to females, it was determined that the quality of food consumed at the beginning of reproduction affects in short term the physiological status and reproductive performance. Overall this study provides evidence that Blue-footed Booby has the ability to regulate their reproductive

investment in terms the needs of the chicks and the food, but with certain limits. The species has a flexible investment strategy, where parents can adjust the amount of energy they invest in reproduction considering environmental conditions and individual physiological status.

Dedicatoria

Dedico este trabajo a mis compañeras de vida, mi esposa Arely y mi hija Aderyn, por ser más que un apoyo, una fuente de inspiración y un motivo para seguir adelante en nuestro proyecto de vida.

A mis padres (Rosa del Carmen y Juan Manuel) que han sido mi ejemplo a seguir para alcanzar las metas propuestas, y me han apoyado siempre en todos mis proyectos.

A la memoria de mis abuelos QEPD.

Agradecimientos

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para la realización de la tesis, así como también al Instituto de Ciencias del Mar y Limnología–UNAM por el apoyo otorgado para mi formación académica y para la realización de este proyecto.

Al Fondo Mexicano para la Conservación de la Naturaleza A. C. (PIE-2012-A-P-C-IGSI-12-12), CONACyT (I010/176/2012), Sonoran Joint Venture, Pronatura México A.C. y al Instituto de Ciencias del Mar y Limnología–UNAM por su apoyo financiero. A CONANP-Islas del Golfo de California-Sinaloa por su apoyo logístico.

La realización de este proyecto ha sido una gran experiencia, y no habría sido posible sin el apoyo constante de muchas personas que brindaron ayuda, de una u otra forma. Quisiera empezar dando las gracias a mis directores de tesis, Guillermo Fernández Aceves y Alfredo Castillo Guerrero. Gracias por creer en mí, por la enseñanza en el mundo de la investigación, por su apoyo y aliento que me dieron durante todos los años. Gracias por los desafíos y por guiarme profesional y personalmente. Y finalmente gracias por brindarme su amistad durante el desarrollo de este proyecto.

A los miembros del comité de tesis: Ma. del Coro Arizmendi, Eric Mellink, Sharon Herzka, Eduardo Palacios y Auxiliadora Villegas. Gracias por su paciencia, interés y tiempo dedicado al manuscrito.

A todas las personas involucradas y amigos que me ayudaron en las salidas de campo: Miriam Lerma, Francisco Santiago, Carolina Franco, Mario Leal, Juan P. Ceyca, Noelia Albano, Miguel Guevara, Manuel Brito, Sergio Rendon, Alfredo Leal, Hugo Espinoza, Claudia Luján y demás. Su interés, apoyo y amistad fue un buen aliciente para sacar adelante el proyecto.

Al Grupo de Investigación en Biología de la Conservación de la Universidad de Extremadura, en particular a José A. Masero y Auxiliadora Villegas por su apoyo durante mi estancia en la Universidad de Extremadura, España. Un agradecimiento especial al técnico Isabel María Piedad por su paciencia y apoyo en el procesamiento de las muestras para los análisis de metabolitos plasmáticos. A las personas que me brindaron su amistad y tiempo durante mi estancia: Carlos, Chuz, Pipe, Pepo, Jorge, Elsa, Juan, Casimiro, Oscar, Elena y demás.

Al laboratorio de Isotopos estables del Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California, en particular a Sharon Herzka por brindar su apoyo y atención durante mi estancia en Ensenada, así como también por su gran aporte en el tema de isotopos estables en este proyecto. Agradezco a la técnico M.R. Barradas por su apoyo en el procesamiento de muestras para análisis de isotopos estables.

Por último, pero no menos importante, me gustaría dar las gracias a mi familia por siempre apoyarme y animarme a lo largo de mi vida.

ÍNDICE

	Página
Resumen español	i
Resumen ingles.....	iii
Dedicatoria	v
Agradecimientos.....	vi
ÍNDICE	viii
LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE TABLAS.....	xiv
Capítulo I. Introducción general.....	1
I.1. REGULACIÓN DE DECISIONES REPRODUCTIVAS.....	2
I.2. OBJETIVO GENERAL	4
I.3. SISTEMA DE ESTUDIO.....	4
I.4. ESTRUCTURA DE LA TESIS	6
I.5. REFERENCIAS.....	7
Capítulo II. Regulation of breeding expenditure in the blue-footed booby, <i>Sula nebouxii</i>: an experimental approach.....	9
II.1. ABSTRACT	10
II.2. INTRODUCTION.....	11
II.3. METHODS	13
II.3.1. Study area.....	13
II.3.2. Experimental design: manipulation of brood demands.....	14
II.3.3. Fieldwork and sample collection	15
II.3.4. Parental care: foraging effort and time at nest	15
II.3.5. Plasma metabolites and body condition index	16
II.3.6. Heterophil:lymphocyte ratio.....	17

II.3.7. Statistical analysis	17
II.4. ETHICAL NOTE	19
II.5. RESULTS.....	19
II.5.1. Parental care: foraging effort and time at nest	19
II.5.2. Plasma metabolites, CK/TP, BCI change and H/L ratio	19
II.6. DISCUSSION	20
II.7. ACKNOWLEDGMENTS	28
II.8. REFERENCES.....	29
Capítulo III. Variations in parental rearing expenditures trigger short-term physiological effects on offspring in a long-lived seabird	33
III.1. ABSTRACT	34
III.2. INTRODUCTION.....	35
III.3. METHODS	38
III.3.1. Study site	38
III.3.2. Experimental design – manipulation of the reproductive costs.....	38
III.3.3. Fieldwork and sample collection	39
III.3.4. Plasma metabolites.....	40
III.3.5. Heterophil to lymphocyte ratio (H/L).....	41
III.3.6. Body condition index and survival rates	41
III.3.7. Statistical analysis.....	41
III.4. RESULTS.....	43
III.4.1. Plasma metabolites and H/L ratios.....	43
III.4.2. Body condition index and survival rate	43
III.5. DISCUSSION	44
III.5.1. Physiological condition.....	44
III.5.2. Body condition index and survival rate	48
III.6. CONCLUSIONS	50

III.7. ACKNOWLEDGMENTS	51
III.8. REFERENCES	51
Capítulo IV. Flexibility of food resource allocation in parents and selectivity for offspring: variations in N y C isotope ratios during breeding of the Blue-footed Booby	56
IV.1. RESUMEN	57
IV.2. INTRODUCCIÓN	59
IV.3. MÉTODOS.....	63
IV.3.1. Área de estudio.....	63
IV.3.2. Trabajo de campo.....	63
IV.3.3. Sexado de las aves	64
IV.3.4. Preparación de las muestras y análisis de isotopos estables	66
IV.3.5. Análisis estadísticos	67
IV.4. RESULTADOS.....	68
IV.4.1. Variación en la composición isotópica de adultos.....	68
IV.4.2. Variación en la composición isotópica entre adultos y crías	69
IV.4.3. Composición de las presas.....	69
IV.5. DISCUSIÓN	70
IV.5.1. Variación en la firma isotópica de C y N entre etapas de la reproducción y sexos.....	74
IV.5.2. Diferencia en la composición isotópica de C y N entre adultos y crías	76
IV.6. CONCLUSIÓN	77
IV.7. AGRADECIMIENTOS	79
IV.8. REFERENCIAS	79
Capítulo V. Efecto de la dieta en los parámetros reproductivos de las hembras del bobo de patas azules (<i>Sula nebouxi</i>): ¿Eres lo que comes? ...	86
V.1. RESUMEN	87
V.2. INTRODUCCIÓN	88

V.3. MÉTODOS.....	91
V.3.1. Área de estudio.....	91
V.3.2. Muestras del bobo de patas azules y las presas principales	93
V.3.3. Preparación de las muestras y análisis de isotopos estables	94
V.3.4. Condición corporal (triglicéridos)	94
V.3.5. Análisis estadísticos y modelos de mezcla isotópica	95
V.4. RESULTADOS.....	96
V.4.1. Nivel de alimentación trófica y condición corporal	96
V.4.2. Nivel de alimentación trófico y variables reproductivas	97
V.4.3. Dieta	98
V.5. DISCUSIÓN	104
V.6. AGRADECIMIENTOS	109
V.7. REFERENCIAS	110
Capítulo VI. Conclusión general	117
Afiliaciones y direcciones de los co-autores.....	122

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Pareja de bobos de patas azules (<i>Sula nebouxii</i>) en la Isla El Rancho, en la Bahía de Santa María-La Reforma, Sinaloa.	5
2	Mean \pm SE foraging effort and parental care time at the nest in blue-footed boobies after increasing or decreasing parental reproductive effort: (a) number of foraging trips per day; (b) percentage of time at nest. An asterisk denotes statistical significance ($P < 0.05$) between treatment groups (grey bars) and control groups (black bars). N is presented at the bottom of the bars.	21
3	Mean \pm SE values of (a) creatine kinase ((ln) CK/PT) level and (b) heterophil-to-lymphocyte ratio (H/L ratio) in blue-footed boobies after increasing or decreasing the brood demand at the end of the experiment. An asterisk denotes statistical significance ($P < 0.05$) between treatment groups (grey bars) and control groups (black bars). N is presented at the bottom of the bars.	22
4	Mean values (\pm 95% CI) of physiological parameters in Blue-footed Booby offspring \approx 35 days after increasing or decreasing the parental reproductive expenditure. a) β -OH-butyrate level, b) alkaline phosphatase level, c) heterophil to lymphocyte ratio (H/L ratio), and d) body condition index at pre-fledging (\approx 10 weeks old). Upper line: significant difference between treatment and control group. Sample size is indicated within each bar.	45
5	Mapa de Bahía Santa María-La Reforma y la Isla El Rancho en la parte continental media del Golfo de California, México.	65
6	Isotopos estables ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$) de muestras de sangre entera en el bobo de patas azules donde se muestran adultos durante la incubación (símbolos negros), crías-adultos durante la crianza temprana (símbolos blancos) y crías-adultos durante la crianza tardía (símbolos grises) de la colonia en la isla El Rancho, Sinaloa, México, durante dos temporadas reproductivas (2011 y 2012). Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ representan medias \pm ES. El tamaño de la muestra se presenta junto a cada símbolo.	72
7	Valores promedio (\pm ES) de isotopos estables ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$) de las presas principales de los bobos de patas azules que anidan en la colonia de la Isla El Rancho, Sinaloa, México durante dos temporadas reproductivas (2011 y 2012). El tamaño de la muestra se presenta junto a cada símbolo.	73
8	Relación entre nivel de triglicéridos en plasma (indicador de condición corporal) y valores de $\delta^{15}\text{N}$ en sangre de las hembras del bobo de patas azules (<i>Sula nebouxii</i>) muestreado durante dos períodos reproductivos (cortejo e incubación) en la isla de El Rancho, Sinaloa, México	100
9	Relación entre los valores de $\delta^{15}\text{N}$ con: (a) la fecha de puesta y (b)	101

- el tamaño de puesta (volumen total de huevos, cm³) durante el periodo de incubación. Los valores de $\delta^{15}\text{N}$ disminuyen en función de la fecha de puesta y aumentan con el tamaño de puesta.
- 10 Relación entre los valores de $\delta^{15}\text{N}$ del periodo de incubación y el éxito de eclosión en las hembras del bobo de patas azules (*Sula nebouxii*). El número ubicado debajo de la barra de error representa el tamaño de la muestra. 102

LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
I	24
<p>Effects of increasing or decreasing brood demand on foraging effort (duration and number of foraging trips), parental care time at nest (percentage of time at nest) and physiological status (plasma metabolite levels and H/L ratio at the end of the experiment) in adult blue-footed boobies.</p>	
II	46
<p>Effects of increasing or decreasing Blue-footed Booby reproductive expenditure (treatment) on the physiological condition (plasma metabolite levels, heterophil to lymphocyte (H/L) ratio and body condition index (BCI)) of their offspring. Influence of hatching order is also shown. Significant effects are highlighted in bold.</p>	
III	71
<p>Resumen de los modelos lineales mixtos utilizado para probar el efecto del sexo, etapa reproductiva y año de muestreo sobre los isotopos estables de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) y nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$) medidos en sangre completa de bobos de patas azules en la Isla El Rancho, Sinaloa, México durante dos temporadas reproductivas (2011 y 2012). Modelos iniciales incluyeron todos los términos que figuran en la tabla. Los modelos iniciales incluyeron todos los terminos incluidos en la tabla. Los terminos significativos obtenidos del modelo final se muestran en negritas. Para los terminos no significativos los valores reportados corresponden al momento previo de ser eliminados del modelo (marcados con asterisco*).</p>	
IV	78
<p>Resumen de la composición de la dieta predicha (% composición) del bobo de patas azules (hembras, machos y crías) en la colonia de la isla El Rancho, durante dos temporadas reproductivas (2011 y 2012) en tres periodos diferentes (incubación, crianza temprana y tardía). La composición de las dietas se estimaron sobre la base de los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en sangre entera utilizando una aproximación bayesiana para un modelo de mezcla isotópica de múltiples fuentes SIAR (Parnell <i>et al.</i> 2010), y se presentan estimaciones promedio con IC del 95% (entre paréntesis). Presas principales están marcados en color gris.</p>	
V	99
<p>Resumen de las estimaciones promedio (+/- DE) de los valores de isotopos estables de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$, nivel trofico relativo (presas principales), contenido energetico (Kcal/g peso fresco de presas principales) y la razón C:N en las hembras del bobo de patas azules (<i>Sula nebouxii</i>) y en las presas principales de peces.</p>	
VI	103
<p>Resumen de la composición de la dieta estimada en las hembras del bobo de patas azules (<i>Sula nebouxii</i>) en función de la fecha de puesta (anidación temprana vs anidación tardía) basado en el análisis isotópico de presas obtenidas por regurgitados de las aves ($n = 121$) colectadas en la isla de El Rancho, durante las</p>	

	temporadas reproductivas (2011 y 2012). La composición de la dieta se estimó sobre la base de los valores de sangre entera de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ utilizando modelos de mezcla de SIAR (Parnell <i>et al.</i> 2010), se presentan estimaciones promedio con IC del 95% (entre paréntesis). Las especies de presas dominantes se presentan marcadas en color gris.	
VI	Resumen de la composición de la dieta estimada en las hembras del bobo de patas azules (<i>Sula nebouxii</i>) en función del tamaño de puesta basado en el análisis isotópico de presas obtenidas por regurgitados de las aves ($n = 121$) colectadas en la isla de El Rancho, durante las temporadas reproductivas (2011 y 2012). La composición de la dieta se estimó sobre la base de los valores de sangre entera de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ utilizando modelos de mezcla de SIAR (Parnell <i>et al.</i> 2010), se presentan estimaciones promedio con IC del 95% (entre paréntesis). Las especies de presas dominantes se presentan marcadas en color gris.	105

Capítulo

I

Introducción general



I.1. REGULACIÓN DE DECISIONES REPRODUCTIVAS

A lo largo de su vida, los animales se enfrentan a decisiones que pueden influir en su aptitud. En ecología del comportamiento, el término “decisión” no se refiere necesariamente a un proceso cognitivo complejo, sino más bien describe el hecho de que un animal se expone regularmente a varias alternativas que difieren en sus consecuencias en términos de aptitud (Danchin *et al.* 2008). Por ejemplo, en ambientes heterogéneos la elección del hábitat probablemente impacta el acceso a recursos tales como: un sitio de reproducción segura, alimentos o parejas para reproducirse. Los individuos capaces de elegir las opciones que maximicen su aptitud (supervivencia y éxito reproductivo) deben entonces ser favorecidos por la selección natural. Es importante notar que las mismas decisiones pueden no maximizar la aptitud en situaciones distintas, por lo tanto, en un ambiente variable los individuos capaces de modificar sus decisiones de acuerdo a las condiciones que se presenten (es decir, individuos con alta plasticidad) deben ser favorecidos sobre los individuos que no puedan regular sus decisiones ante cambios en las condiciones.

En el ambiente marino existe una fuerte variabilidad estacional e interanual, con fluctuaciones amplias y en ocasiones impredecibles en los parámetros oceanográficos (p. ej. temperatura superficial del mar), o con eventos cíclicos como el fenómeno El Niño. Esta variabilidad afecta directa o indirectamente todos los niveles de la cadena trófica mediante cambios en la distribución y abundancia del alimento (Croxall 1992). Ante estos cambios, las aves marinas pueden hacer ajustes de corto plazo en el comportamiento de forrajeo, en la producción de huevos y en las tasas de alimentación a pollos (Kitaysky *et al.* 2000, Pinaud y Weimerskirch 2002, Inchausti *et al.* 2003). Es decir, pueden ajustar su inversión reproductiva en respuesta a las fluctuaciones en las condiciones oceanográficas, lo cual se refleja en el éxito reproductivo (Hunt *et al.* 1990, Suryan y Irons 2001). La capacidad de ajustar ante cambios en el ambiente puede ser parte de una estrategia para maximizar la supervivencia y el éxito reproductivo.

Los factores que rigen la toma de decisiones reproductivas en las aves son poco conocidos (Giudici *et al.* 2010). Se ha indicado que las habilidades de alimentación o limitaciones tróficas, la calidad de la pareja y las necesidades de las crías son importantes en la regulación de las decisiones de inversión reproductiva en las aves (Hörak *et al.* 2002, Varpe *et al.* 2004, Harris y Uller 2009). Las decisiones reproductivas comienzan desde el inicio de la temporada reproductiva, cuando los individuos deciden dónde, con quién y cuándo iniciar la reproducción (Lack 1968). La importancia de estas decisiones es dependiente de la historia de vida, de manera que puede ser variable entre especies.

En aves de vida larga se supone una inversión fisiológica alta en el auto-mantenimiento que permite una baja mortalidad debida al deterioro somático y una vida reproductiva prolongada (Apanius *et al.* 2008). Así, con el inicio de la reproducción, los adultos deben regular la inversión reproductiva, estableciendo un balance entre los requerimientos energéticos propios y los de sus crías (Williams 1966), en este aspecto el alimento puede jugar un papel muy importante. La disponibilidad de alimento y la habilidad para obtenerlo afectan de manera directa el estado corporal y fisiológico de los individuos, y por ende su disponibilidad de recursos para la inversión reproductiva.

El periodo de crianza de pollos se asume como uno de los más demandantes (mayores requerimientos energéticos) durante la reproducción, y es también una etapa crítica para la toma de decisiones, ya que los padres deben decidir qué tanta inversión parental deben proporcionarle a sus crías (Varpe *et al.* 2004, Hanssen *et al.* 2005). Los padres que puedan regular de mejor manera la disyuntiva entre los requerimientos energéticos propios y de sus crías serán los más propensos a incrementar la supervivencia de las crías y en consecuencia mejorar su éxito reproductivo (Saraux *et al.* 2011). Para maximizar el éxito reproductivo los padres deben ajustar su inversión reproductiva de acuerdo a las necesidades propias y de sus crías (Clutton-Brock 1991, Varpe *et al.* 2004). De acuerdo con esto, las aves pueden hacer ajustes (total o parcialmente) o no hacerlos en su inversión parental. Estudios en aves marinas donde se

manipularon experimentalmente las necesidades de las crías, los padres mostraron ajustes (total o parcial) o no ajustaron su inversión parental, dependiendo la especie. Es importante investigar bajo qué circunstancias los padres ajustan su inversión parental, así como también evaluar los posibles efectos a corto plazo en su estado fisiológico e inmunológico que son poco conocidos. Es fundamental entender el vínculo entre la expresión de los costos reproductivos y las decisiones de inversión reproductiva en las aves marinas (Dehnhard *et al.* 2011, Navarro y González-Solís 2007).

I.2. OBJETIVO GENERAL

En este estudio evalué el efecto de las necesidades de las crías y el alimento en la regulación de decisiones reproductivas, enfocándome en el bobo de patas azules (*Sula nebouxii*) como sistema modelo al ser un ave marina de vida larga que habita en un sistema de alta variabilidad ambiental.

I.3. SISTEMA DE ESTUDIO

El bobo de patas azules (Fig. 1; *Sula nebouxii*) es un ave marina colonial de vida larga, que tiene un intervalo de distribución amplio que abarca gran parte del Océano Pacífico, desde el Golfo de California hasta el norte de Perú (Nelson 1978). Esta especie tiene un periodo extenso de cuidado parental (más de 6 meses; Nelson 1978). Por lo general ponen dos huevos entre los meses de enero y febrero, y son incubados durante 42 días (D'Alba y Torres 2007, Drummond *et al.* 1986). Ambos padres cuidan a los pollos y los alimentan con peces pelágicos menores (p. ej. anchoas, sardinas, pajaritos, etc.; Nelson 1978, Drummond *et al.* 1986, Guerra y Drummond 1995). Se sabe que las hembras del bobo de patas azules son flexibles en la regulación de la masa corporal, al incrementarse el tamaño de la nidada pueden hacer uso de sus reservas energéticas, mientras que los machos muestran una masa corporal fija, es decir no modifican su masa al aumentar las demandas de sus crías (Velandó y Alonso-Álvarez 2003). De

acuerdo a esto Velando y Alonso-Álvarez (2003) proponen que existen diferencias entre los sexos en la capacidad de ajustar durante la reproducción.



Figura 1. Pareja de bobos de patas azules (*Sula nebouxii*) en la Isla El Rancho, en la Bahía de Santa María-La Reforma, Sinaloa.

Machos y hembras evalúan a sus parejas y pueden realizar ajustes rápidos en su inversión parental (por ejemplo, reducción en el volumen de los huevos por parte de las hembras o reducción en frecuencias de cortejo por parte de los machos) mediante el uso de señales honestas del estado nutricional (coloración azul de las patas; Velando *et al.* 2006). Se ha demostrado que el alimento consumido influye sobre la coloración de la patas, de manera específica los carotenoides de la dieta tienen un efecto directo como pigmentos y alternativamente, debido a sus efectos benéficos sobre su salud (Blount *et al.* 2003, McGraw y Ardia 2003). La coloración en la patas de los bobos parece ser una señal honesta de la condición nutricional de un individuo en el corto plazo

(Velando *et al.* 2006). La información disponible sugiere que ambos miembros de la pareja en el bobo de patas azules son capaces de ajustar sus decisiones de inversión reproductiva en función de las señales de color exhibidas por su pareja, lo cual muestra la conexión entre el alimento consumido, la condición fisiológica y las decisiones de inversión reproductiva.

I.4. ESTRUCTURA DE LA TESIS

En los siguientes capítulos de la tesis se evaluaron los efectos de las necesidades de las crías y la calidad y/o tipo de alimento en la regulación de las decisiones reproductivas en el bobo de patas azules (*Sula nebouxii*). En el capítulo II evalué de manera experimental el impacto generado por variaciones (aumento y disminución) en las demandas de las crías sobre el comportamiento y estado fisiológico e inmune de los padres. Se obtuvo evidencia para evaluar si hay una asimilación de costos reproductivos por parte de los padres y cómo influyen estos a corto plazo en el estado fisiológico e inmunológico de sus crías (capítulo III). En el capítulo IV determiné la influencia de las demandas de alimento propias y de las crías en la asignación de alimento durante la crianza midiendo valores isotópicos en sangre de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en padres y crías durante dos temporadas reproductivas. En el capítulo V examiné si la dieta (composición isotópica, lipídica y nivel de alimentación trófico) de las hembras previo a la crianza influye en su condición corporal y en el desempeño reproductivo (p. ej. ¿cuándo anidar y cuántos huevos poner?). Finalmente, en el capítulo VI discuto los resultados obtenidos sobre como el bobo de patas azules al ser un ave marina de vida larga, que habita en un sistema de alta variabilidad, es capaz de regular sus decisiones reproductivas en función de dos factores principales: necesidades de las crías y calidad y/o tipo de alimento, además se discuten las consecuencias (costos reproductivos) que ocasionan estos ajustes.

I.5. REFERENCIAS

- Apanius V, Westbrock MA, Anderson DJ (2008). Reproduction and immune homeostasis in a long-lived seabird, the Nazca Booby (*Sula granti*). *Ornithol. Monogr.* no. 65.
- Blount JD, Metcalfe NB, Birkhead TR, Surai PF (2003). Carotenoid modulation of immune function and sexual attractiveness in zebra finches. *Science* 300:125–127.
- Clutton-Brock TH (1991). *The evolution of parental care*. Princeton, NJ: Princeton University Press.
- Croxall JP (1992) Southern Ocean environmental changes: effects on seabirds, seal and whale populations. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B* 338:319–328.
- D’Alba L, Torres R (2007). Seasonal egg-mass variation and laying sequence in a bird with facultative brood reduction. *Auk*. 124:643–652.
- Danchin E, Giraldeau L-A, Cézilly F (2008). *Behavioural ecology*. Oxford, UK: Oxford University Press.
- Dehnhard N, Poisbleau M, Demongin L, Chastel O, van Noordwijk HJ, Quillfeldt P (2011). Leucocyte profiles and corticosterone in chicks of Southern Rockhopper penguins. *J. Comp. Physiol. B Biochem. Syst. Environ. Physiol.* 181:83–90.
- Drummond H, González E, Osorno JL (1986). Parent-offspring cooperation in the blue-footed booby (*Sula nebouxii*): social roles in infanticidal brood reduction. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 19:365–372.
- Giudici A, Navarro J, Juste C, González-Solís J (2010). Physiological ecology of breeders and sabbaticals in a pelagic seabird. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 389:13–17.
- Guerra M, Drummond H (1995). Reversed sexual size dimorphism and parental care: minimal division of labour in the blue-footed booby. *Behaviour* 132:479–496.
- Hanssen SA, Hasselquist D, Folstad I, Erikstad KE (2005). Cost of reproduction in a long-lived bird: incubation effort reduces immune function and future reproduction. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 272:1039–1046.
- Harris WE, Uller T (2009). Reproductive investment when mate quality varies: differential allocation versus reproductive compensation. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B* 364: 1039–1048.
- Hörak P, Saks L, Ots I, Kollist H (2002). Repeatability of condition indices in captive greenfinches (*Carduelis chloris*). *Can. J. Zool.* 80:636–643.
- Hunt GL, Harrison Jr NM, Cooney RT (1990). The influence of hydrographic structure and prey abundance on foraging of Least Auklets. *Stud. Avian Biol.* 14:7–22.
- Inchausti P, Guinet C, Koudil M, Durbec JP, Barbraud C, Weimerskirch H, Cherel Y, Jouventin P (2003). Inter-annual variability in the breeding performance of seabirds in relation to oceanographic anomalies that affect the Crozet and the Kerguelen sectors of the Southern Ocean. *J. Avian Biol.* 34:170–176.

- Kitaysky AS, Hunt GL, Flynt EN, Rubega MA, Decker MB (2000). Resource allocation in breeding seabirds: responses to fluctuations in their food supply. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 206:283–296.
- Lack D (1968). *Ecological Adaptations for Breeding in Birds*. Methuen, London, England.
- McGraw KJ, Ardia DR (2003). Carotenoids, immunocompetence, and the information content of sexual colors: an experimental test. *Am. Nat.* 162:704–712.
- Navarro J, González-Solís J (2007). Experimental increase of flying costs in a pelagic seabird: effects on foraging strategies, nutritional state and chick condition. *Behav. Ecol.* 151:150–160.
- Nelson JB (1978). *The Sulidae: gannets and boobies*. Oxford University Press, Oxford.
- Pinaud D, Weimerskirch H (2002). Ultimate and proximate factors affecting the breeding performance of a marine top-predator. *Oikos* 99:141–150.
- Saraux C, Le Bohec C, Durant JM, Viblanc VA and others (2011). Reliability of flipper-banded penguins as indicators of climate change. *Nature* 469:203–206.
- Suryan RM, Irons DB (2001). Colony and population dynamics of Black legged Kittiwakes in a heterogeneous environment. *Auk* 118:636–649.
- Varpe Ø, Tveraa T, Folstad I (2004). State-dependent parental care in the Arctic petrel: responses to manipulated chick age during early chick rearing. *Oikos* 106:479–488.
- Velando A, Alonso-Alvarez C (2003). Differential body condition regulation by males and females in response to experimental manipulations of brood size and parental effort in the blue-footed booby. *J. Anim. Ecol.* 72:846–856.
- Velando A, Beamonte-Barrientos R, Torres R (2006). Pigment-based skin colour in the blue-footed booby: an honest signal of current condition used by females to adjust reproductive investment. *Oecologia* 149:535–542.
- Williams TD (1996). Variation in reproductive effort in female zebra finches *Taeniopygia guttata* in relation to nutrient-specific dietary supplements during egg-laying. *Physiol. Zool.* 69:1255–1275.

Regulation of breeding expenditure in the blue-footed booby, *Sula nebouxii*: an experimental approach



ANIMAL
BEHAVIOUR

Erick González-Medina, José Alfredo Castillo-Guerrero, Francisco Santiago-Quesada, Auxiliadora Villegas, José A. Masero, J. M. Sánchez-Guzmán, Guillermo Fernández. *Animal Behaviour* (2015) 108: 9–16.

II.1. ABSTRACT

In the short-term, reproductive expenditure has repercussions for survival and future reproductive output. In long-lived seabirds, parents are expected to adjust their reproductive investment based on their physiological and immune status and then respond to the needs of their offspring without incurring additional costs. However, the impacts of parental expenditures on physiological and immune status have not been well explored. We compared the foraging effort (number and duration of foraging trips), time at nest and physiological status (plasma metabolites, heterophil/lymphocyte (H/L) ratio, creatine kinase (CK) activity) and body condition index (BCI) of blue-footed boobies subjected to experimentally increased or decreased breeding demands. When parental reproductive demands were increased, adults made more foraging trips and decreased their time at the nest. The increases in adult physical activity were reflected in higher levels of creatine kinase/total protein (CK/TP, U/g) and higher H/L ratios, indicating that adjustments in foraging effort were reflected in their physiological status. When parental reproductive demands were reduced, parents adjusted their level of effort according to the lower needs of their offspring; as a result, their overall physiological status was greater than that of the controls, showing lower CK/TP levels and H/L ratios. Our findings indicate that parents modified their foraging effort in response to variation in the food demands of the brood to maintain reproductive value, but this adjustment had consequences for physiological status in both costs and benefits. Blue-footed boobies inhabit upwelling systems where they experience high environmental variability throughout their life span. Thus, the ability to adjust breeding effort may buffer breeding success under different scenarios, with short-term physiological expenditures possibly related to long-term survival.

Keywords: creatine kinase, foraging effort, leucocytes, parental care, reproductive effort

II.2. INTRODUCTION

In long-lived species, current reproductive investment is likely to be regulated by the impact of reproductive effort on parental survival (Linden & Møller 1989). The breeding effort threshold in a particular animal species may vary depending on environmental conditions and the physiological state of each individual (Velando & Alonso-Alvarez 2003). Therefore, during reproduction, parents must decide how much parental care to provide to their offspring (Varpe *et al.* 2004). To maximize their return on a reproductive event, parents should adjust their reproductive decisions according to their physiological and immune status to meet the needs of their offspring while taking into account their own long-term breeding success (Clutton-Brock 1991, Velando & Alonso-Alvarez 2003). In long-lived seabirds, knowledge of individuals' physiological and immune statuses is critical for understanding individuals' strategies for reproduction, foraging and survival (Navarro *et al.* 2008). However, these characteristics and their effects on parental investment have received little attention (Navarro & González-Solís 2007, Dehnhard *et al.* 2011).

Seabirds have different investment strategies depending on the reproductive capacity of the species. For most bird species, the chick-rearing period is assumed to be a critical stage for decisions that influence the balance of parental effort (e.g. Drent & Daan 1980, Weathers & Sullivan 1993, Riechert *et al.* 2014, but see Gruebler & Naef-Daenzer 2010, Tarwater & Brawn 2010). Experimental studies of seabirds in which the demands of the offspring are manipulated show one of three basic patterns: (1) parents can adjust their effort in response to the changing demands of the offspring (Granadeiro *et al.* 2000, Phillips & Croxall 2003); (2) individuals exhibit a partial adjustment, such that the demands of the offspring are not completely met (Velando 2002, González-Medina *et al.* 2010); or (3) parents do not adjust their parental care efforts and are inflexible to the demands of their offspring (Weimerskirch *et al.* 1995, Hamer *et al.* 1998). Therefore, it is of interest to investigate how seabirds adjust their parental effort and foraging behaviour and

the subsequent effects of these adjustments on their physiological and immune status.

Here, using a cross-fostering experiment, we tested how male and female blue-footed booby parents adjust their parental effort and foraging behaviour in response to changes in the reproductive expenditure of attending to younger chicks (i.e. lower demand for food) or older chicks (i.e. higher demand for food) and investigated the resulting effects on their physiological and immune status. The blue-footed booby is a long-lived seabird with a long period of biparental care (up to 6 months, Nelson 2005). Both parents feed their nestlings (Nelson 2005), and parental feeding continues after chicks have completed plumage development (86-90 days; Drummond *et al.* 1991). Parents with older chicks (> 10 days old) provide up to twice as much food as do those with younger chicks (5 days old; Guerra & Drummond 1995). A single measurement of plasma metabolite levels can be used as a reliable indicator of body condition (Jenni-Eiermann & Jenni 1998, Guglielmo *et al.* 2005). Specifically, triglycerides and β -OH-butyrate (BUTY) levels are good indicators of increases or decreases in body reserves, respectively (Quillfeldt *et al.* 2004), whereas creatine kinase (CK) is an indicator of the physical exertion associated with muscle activity and foraging (Ramírez *et al.* 2010). The heterophil/lymphocyte (H/L) ratio reflects stress in response to various stressors: inflammatory processes or infectious diseases, parasite infestation, food or water deprivation, or temperature extremes (e.g. Vleck *et al.* 2000, Lobato *et al.* 2005, Davis *et al.* 2008). In birds, the H/L ratio may correlate with the production of antibodies against novel antigens (Krams *et al.* 2013).

We predicted that if adults adjust their behaviour (i.e. investment in parental care) based on needs of their offspring, this would affect their own physiological state. Thus, when brood demand increases, parents are expected to increase the number and/or duration of foraging trips (foraging effort) to obtain more food, thus reducing their time spent in the nest. Furthermore, because of an increase in physical activity, CK and BUTY concentrations and the H/L ratio (physiological and immune statuses) should increase, and triglyceride levels and body condition (BCI)

should decrease. In contrast, when brood demand decreases, parents are expected to spend less time out of the nest and to have improved body condition and be less stressed. In the blue-footed booby, previous studies have shown that when the reproductive effort of adults is increased by manipulating flight cost and brood size, males maintain their body mass at the expense of their offspring's growth, whereas females increase their investment in offspring and lose body mass (Velando & Alonso-Alvarez 2003). It appears that the sexes have different trade-offs between investment in current reproduction and body maintenance, with males apparently working at some physiological maximum or being unable to pay increased demands and with females having a flexible maternal strategy (Velando & Alonso-Alvarez 2003). Thus, females might have a buffer of nutritional reserves that they use based on the needs of their offspring. The cross-fostering experiment of the present study allowed us to test for sex-specific differences in parental ability to adjust behaviour and in the physiological flexibility of parents in terms of plasma metabolites, immune status (H/L ratio), BCI, foraging behaviour and time at nest. Therefore, taking into account sex-related differences in investment in current reproduction and body maintenance in the blue-footed booby, we expected females to show greater modifications to their foraging behaviour and time at nest compared with males, especially when brood demand increases, but without impairing their physiological status to a greater extent than that observed in males.

II.3. METHODS

II.3.1. Study area

Fieldwork was conducted on the Isla El Rancho (25°10'N, 108°23'W; 327 ha) in the northern mouth of Bahía Santa María-La Reforma, which is the largest coastal wetland of Sinaloa, Mexico (Engilis *et al.* 1998). The blue-footed booby colony is on the northwestern part of the island, among 4 m high sand dunes. Approximately 3000 pairs of blue-footed booby nest in a 1.7 ha area, with an average nest density of 0.26 ± 0.12 nests/m² (González-Medina n.d.).

II.3.2. Experimental design: manipulation of brood demands

Before conducting the cross-fostering experiment, we selected a homogeneous group of early layers (median laying date: 24 days after the first egg laid, 3 December; only two nests contained eggs that were laid 5 days after the median date) to undergo the experimental manipulations; we assumed that the quality of blue-footed booby parents with similar laying dates would be similar. During the breeding season, the median laying date was 5 December (26 days after the first egg laid, $n = 154$; range 10 November–14 February). Moreover, we did not detect a significant effect of laying date ($P > 0.05$) in our analyses. We conducted a cross-fostering experiment using broods with two chicks: 19 nests with 1-week-old chicks (mean age of the two chicks: 5.7 ± 0.4 days) and 20 nests with 2-week-old chicks (mean age of the two chicks: 13.0 ± 0.6 days). For the experimental treatments, we exchanged the two-chick broods between pairs of nests consisting of one nest of each type, placing 2-week-old chicks into the former nests of 1-week-old broods and vice versa. The ages of the chicks were estimated through comparison of chick plumage and external body measurements with those of chicks of known age (the difference in age between offspring of known age and the age estimated by external measures was 0.25 ± 0.1 days).

The brood exchanges produced four groups: (1) 1-week-old broods replaced by 2-week-old broods (Increased Demands treatment, $n = 13$); (2) 2-week-old broods replaced by 1-week-old broods (Decreased Demands treatment, $n = 13$); (3) a control group for the Increased Demands treatment (1-week-old chicks exchanged with chicks from another nest of the same age; Increased Control treatment, $n = 6$); and (4) a control group for the Decreased Demands treatment (2-week-old chicks exchanged with chicks from another nest of the same age; Decreased Control treatment, $n = 7$). The adoptive parents did not reject the chicks because the ability to recognize their own offspring develops later (20–40 days after hatching; Castillo-Guerrero *et al.* 2014).

II.3.3. Fieldwork and sample collection

We visited the island six times every 2 weeks between January and March 2012, with each visit lasting 5 days (30 days of fieldwork). Both adults and chicks were individually marked with alphanumeric bands. Blood samples were taken from the brachial vein (~0.5 ml) and transferred to a polypropylene tube without anticoagulant; the serum was obtained by centrifugation at 2800 g for 10 min and was stored at -20°C until laboratory analysis. During the first and last visits, blood samples were collected from the adults (~35 days after the brood exchanges) to evaluate physiological and immune status. We controlled for the time of day of sample collection because plasma metabolite levels strongly depend on food intake, such that differences in the daily pattern of food intake could cause differences in the daily pattern of metabolite levels. Handling time (time between capture and blood collection) was always less than 15 min (9 ± 3 min on average), which is shorter than the 1 h interval over which total leucocyte counts decrease (Davis 2005). Adults were returned to their nests immediately after sampling, and chicks were monitored until their parents returned to the nest (< 3 min).

II.3.4. Parental care: foraging effort and time at nest

Foraging effort was characterized by the durations and number of foraging trips of each parent, whereas time spent at the nest by each parent represented parental care. Each nest was monitored hourly from 0700 to 1900 hours during each visit to the island (4 days per nest), and the sex of the adult at the nest was recorded. Adults were individually marked with alphanumeric bands that allowed us to recognize them from a distance and minimize disruption to the colony. The durations and number of foraging trips and time spent at the nest were calculated from continuous monitoring of the control and experimental nests. Unless we recorded the exact moment that a bird departed from or returned to its nest, we used the hour midway between monitoring checks as an estimate (Guerra & Drummond 1995, Castillo-Guerrero & Mellink 2011). We considered any bird that was absent for more than 1 h to be on a foraging trip. The risk of not detecting

foraging trips using this method is small because foraging trips are always longer than 1 h (Castillo-Guerrero & Mellink 2011). The risk of underestimating the duration of foraging trips by relying on diurnal observations is also low because in most cases (96%), adults are at the nest before nightfall.

II.3.5. Plasma metabolites and body condition index

Plasma levels of total triglycerides (triglycerides plus free glycerol), CK and total proteins (TP) were assayed in a multiparameter chemistry analyser (Falcor 360; Menarini Diagnostics, Barcelona, Spain) with commercial kits (Menagent; Menarini Diagnostics) adapted to small-sample volumes (Villegas *et al.* 2013). The analyser was calibrated with a commercial calibration kit (Menagent; Menarini Diagnostics), and control reference serums (Menagent; Menarini Diagnostics) were run together with plasma samples. Plasma levels of BUTY and free glycerol were assayed via endpoint assay in a microplate spectrophotometer (BioTek, Winooski, VT, U.S.A.) using standard diagnostic kits and 400- μ l flat-bottom microplates (Greiner Bio-One, Germany). The commercial kits were adapted for small-volume samples as described by Albano *et al.* (2011). For the BUTY measurements, reagents were obtained from Enzytec, DiaSys Diagnostic Systems (5 μ l plasma, 100 μ l reagent A, and 100 μ l reagent B), whereas the reagents for free glycerol measurements were from Sigma (2.5 μ l plasma, 200 μ l reagent). All measurements were made in duplicate. Triglyceride levels were calculated by subtracting free glycerol from total triglycerides. According to Ramírez *et al.* (2010), raw levels of CK should be reported relative to plasma levels of TP to account for the differential physiological state of individuals when sampled (i.e. differential dehydration). In some cases, the amount of plasma obtained was insufficient for the analyses of all metabolites; thus, the sample sizes are not equal among all metabolites.

Morphometric data (tarsus, ulna and culmen length) were used in a principal component analysis (PCA), and the first principal component (PC1) was used as an indicator of the size of each bird. A body condition index (BCI) was calculated

based on the residuals of the regression between PC1 and mass. Body mass was positively correlated with PC1 ($F_{1,154} = 312.3$, $R^2 = 0.67$, $P < 0.00$). We evaluated the change in body condition by comparing the initial and final (at the beginning and end of the experiment, respectively) BCI values, expressed as a percentage.

II.3.6. Heterophil:lymphocyte ratio

Heterophils and lymphocytes are the two most frequent types of leucocytes in birds (together they constitute ~80% of leucocytes; Jakubas *et al.* 2014). Their ratio (H/L ratio) is often used as a stress indicator in birds, and several studies support the use of this ratio as an indicator of immune status (Davis *et al.* 2008, Dehnhard *et al.* 2011, Jakubas *et al.* 2014, Wojczulanis-Jakubas *et al.* 2014). We assessed immune status by estimating the H/L ratio, which was obtained from a differential leucocyte count using blood smear and microscopy. One drop of blood was smeared, air-dried on a glass slide immediately after sampling, and fixed with absolute methanol. All smears were prepared by the Wright-Giemsa stain. To identify cell types (lymphocytes, heterophils, monocytes, eosinophils and basophils), we used a microscope with an oil immersion objective (1000 × magnification) and the Clinical Haematology Atlas of Birds (Clark *et al.* 2009). The differential leucocyte count used the method described by Houwen (2001), which consists of counting 100 white blood cells (granular and nongranular) and recording the frequency of each cell type.

II.3.7. Statistical analysis

We conducted an analysis for each of the response variables presented in Table I (total analysis = 16, eight comparing Decreased Demands versus Decreased Control and eight comparing Increased Demands versus Increased control); all analyses included treatment, sex and their interaction (treatment*sex) as fixed factors, and none of the terms was removed from any of the models. We carried out linear mixed models to test the effect of treatment (increased and decreased demand and their respective controls) on foraging effort (trips per day

and foraging trip duration [h]) and time at nest (percentage of time at the nest). Analyses included initial body condition and laying date (days since the first egg was laid) as a covariates to control for the quality of the parents. Individual identity within family was set as a random term to account for the effect of repeated measures in the observations of foraging effort and time at nest. We used an ANCOVA to test the effect of treatment (increased and decreased demand and their respective controls) on plasma metabolite levels, CK/TP, BCI change and H/L ratio. Analyses included laying date as a covariate. For plasma metabolites, we first performed a multiple regression analysis to determine whether body mass, handling time or time of day affected metabolite levels. Only time of day was incorporated ($P < 0.05$) as a covariate in the analysis of triglycerides. Percentages of time at the nest were arcsine transformed. Because plasma metabolite levels (CK/TP and triglycerides) did not meet the assumption of normality, we transformed the data using \ln (metabolite) to approximate normality; the transformed data were then used in all analyses. Prior to the analysis of plasma metabolites and H/L ratio, we conducted an ANCOVA, with the initial physiological and immunological statuses obtained at the beginning of the experiment to corroborate that individuals from treatments and their respective controls had a similar start. Analyses included treatment, sex and their interaction (treatment*sex) as fixed factors, and laying date as a covariate. Analyses indicated that individuals from both treatments and their controls had similar starting statuses, so we report the treatment results here (Increased Demands versus Increased Control: \ln triglycerides: $F_{1,31} = 1.06$, $P = 0.31$; β OH-butyrate: $F_{1,31} = 2.56$, $P = 0.12$; \ln CK/TP: $F_{1,32} = 2.77$, $P = 0.11$; H/L ratio: $F_{1,33} = 0.73$, $P = 0.40$; Decreased Demands versus Decreased Control: \ln Triglycerides: $F_{1,34} = 0.41$, $P = 0.53$; β -OH-butyrate: $F_{1,33} = 0.03$, $P = 0.85$; \ln CK/TP: $F_{1,34} = 2.94$, $P = 0.09$; H/L ratio: $F_{1,35} = 3.11$, $P = 0.09$); therefore, any differences between individuals from treatments and controls should be due to the experiment and the efforts made by parents. To determine whether treatments had a significant effect on the physiological and immunological statuses of individuals, we used the data obtained at the end of the experiment. The residuals of the models were normally distributed (Shapiro-Wilk test: $P > 0.05$). All

analyses were performed using SPSS v.21 (SPSS Inc., Chicago, IL, U.S.A.). The values reported are means \pm SE. The significance level was set at 0.05.

II.4. ETHICAL NOTE

Experimental and field work was performed with permission from the Dirección General de Vida Silvestre (SGPA/DGVS/08559/11; Mexico) and complied with the current legal and ethical requirements for animal welfare and conservation. No nest was disturbed for more than 15 min during capture of the parents. We collected the smallest possible amount of blood and used assay techniques that allowed us to detect plasma metabolites in small sample volumes. While the adults were sampled, chicks were monitored until their parents returned to the nest. No parents deserted the nest after capture.

II.5. RESULTS

II.5.1. Parental care: foraging effort and time at nest

Increased brood demand was positively related to the number of foraging trips per day, whereas the proportion of time at the nest decreased significantly compared to controls (Fig. 2, Table I). There were no differences in the duration of foraging trips among the groups (Table I). No sex-related differences were found in experimental nests with increased brood demand (Table I). Compared with the control groups, decreased brood demand had no significant effect on foraging effort (Table I), but there was a significant treatment*sex interaction: females decreased the percentage of time they spent at the nest relative to control females and males in the decreased demand treatment, whereas males did not show any differences from controls (Fig. 2b, Table I).

II.5.2. Plasma metabolites, CK/TP, BCI change and H/L ratio

Under increased brood demand, CK/TP levels were higher than in the control group (Fig. 3a, Table I). Under decreased brood demand, CK/TP levels

were lower than in the control group (Fig. 3a, Table I). There were no differences in BCI change or in the levels of triglycerides or BUTY among the groups (Table I). No significant interaction effect of treatment*sex on either plasma metabolite levels or BCI change was observed under increased or decreased brood demand (Table I).

Within each treatment, males and females showed similar H/L ratios (Increased Demands versus Increased Control: $F_{1,74} = 0.69$, $P = 0.41$; Decreased Demands versus Decreased Control: $F_{1,78} = 0.44$, $P = 0.51$). Parents with increased demand had significantly higher H/L ratios than those in the control group, whereas parents with decreased demands showed lower H/L ratios than those in the control group (Fig. 3b, Table I). There was no significant interaction effect of treatment*sex on the H/L ratio under either increased or decreased reproductive demands (Table I).

II.6. DISCUSSION

Adult blue-footed boobies showed short-term adjustments in foraging behaviour in response to increasing or decreasing food demands by the brood, and these adjustments were reflected in their physiological status. When offspring food demand increased, parents increased the number of foraging trips and decreased the time spent at the nest. The increase in physical activity due to the increase in the number of foraging trips was reflected in the increased CK/TP levels and H/L ratios, indicating that adjustments in foraging effort had physiological effects. When brood demand was reduced, females spent less time at nest than males in the same treatment or than control females. Parents also adjusted their level of effort in response to the diminished needs of their offspring; thus, these parents displayed better physiological status than controls (i.e. lower CK/TP levels and H/L ratios).

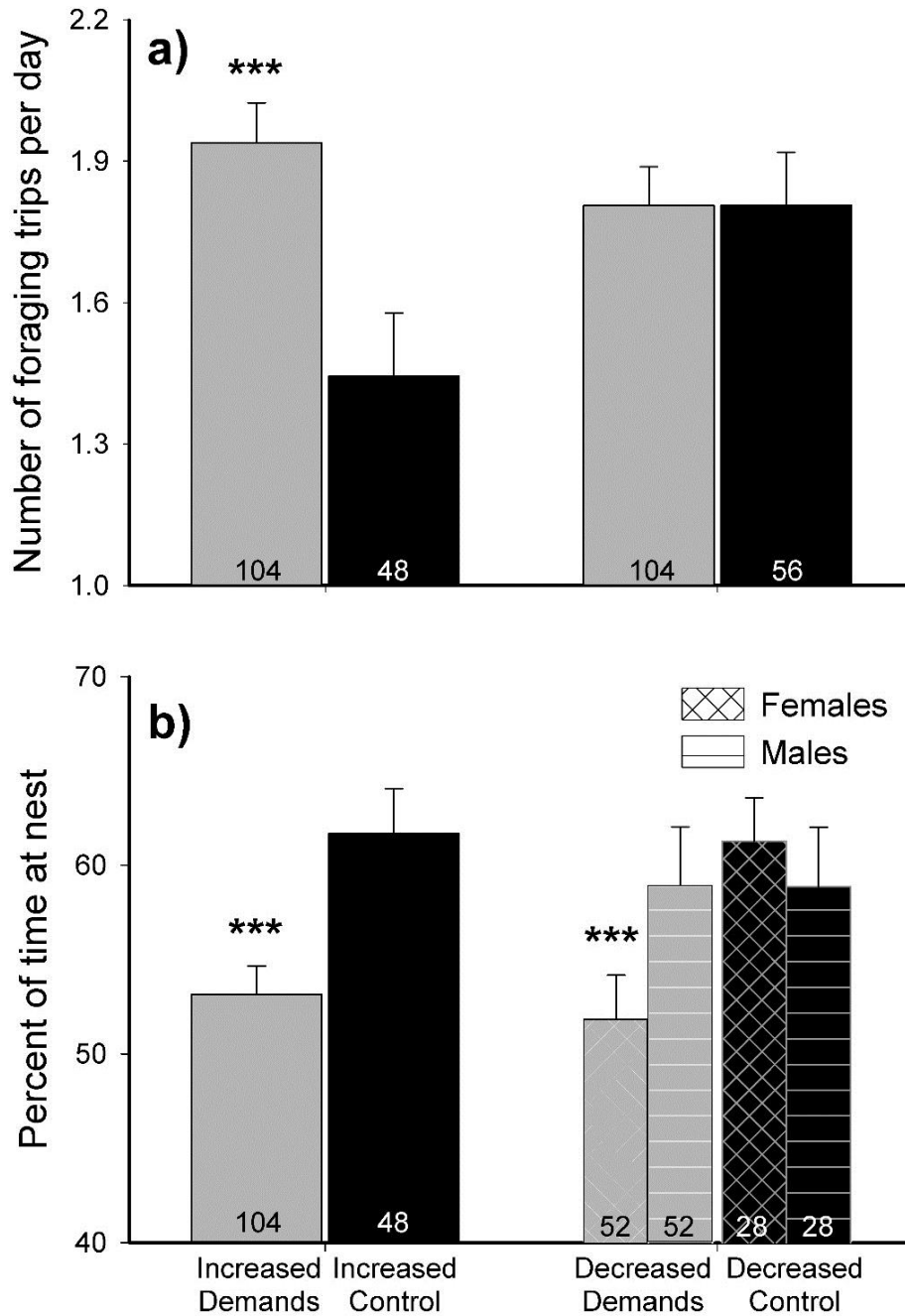


Figure 2. Mean \pm SE foraging effort and parental care time at the nest in blue-footed boobies after increasing or decreasing parental reproductive effort: (a) number of foraging trips per day; (b) percentage of time at nest. An asterisk denotes statistical significance ($P < 0.05$) between treatment groups (grey bars) and control groups (black bars). N is presented at the bottom of the bars.

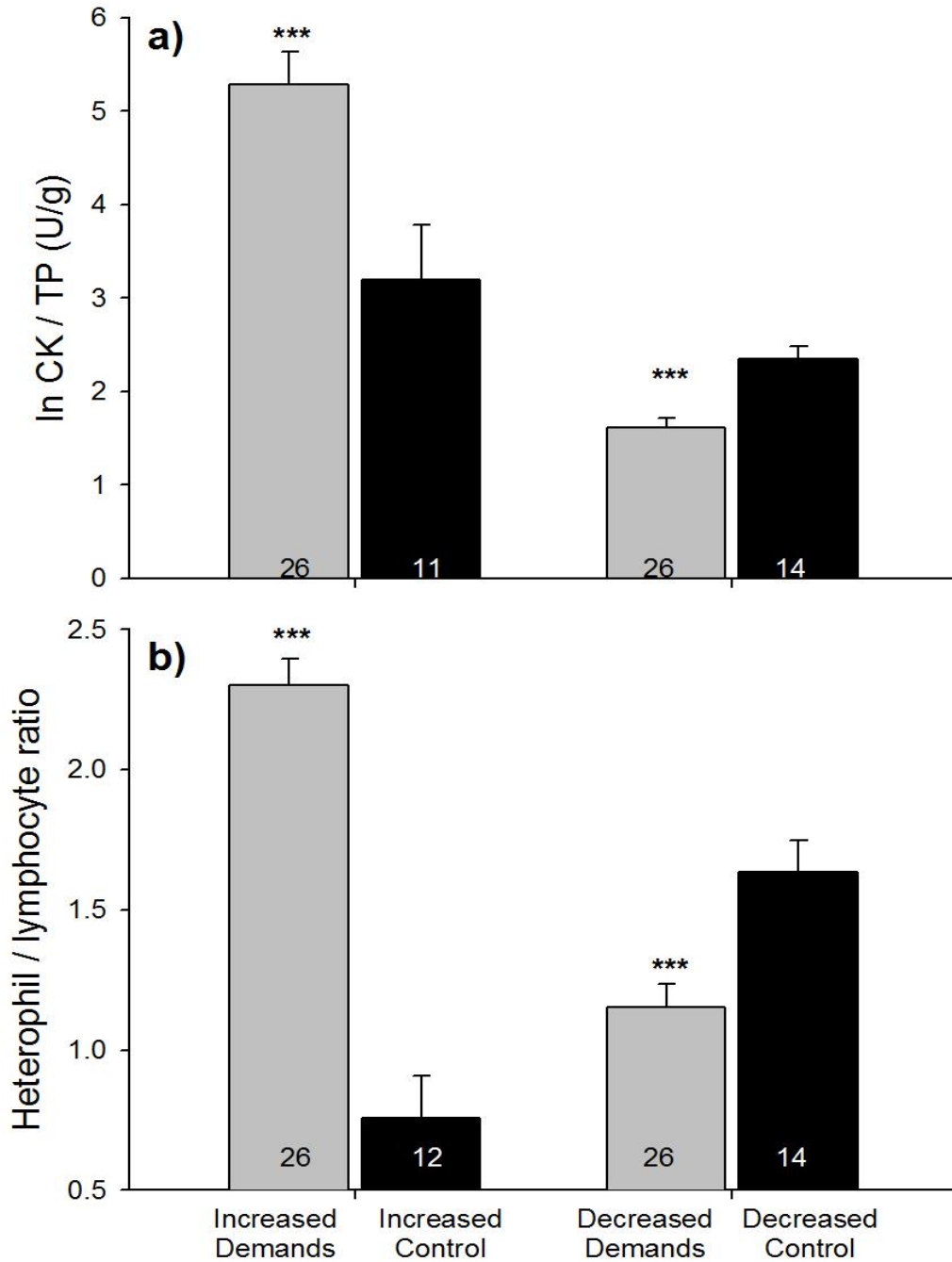


Figure 3. Mean \pm SE values of (a) creatine kinase ((ln) CK/PT) level and (b) heterophil-to-lymphocyte ratio (H/L ratio) in blue-footed boobies after increasing or decreasing the brood demand at the end of the experiment. An asterisk denotes statistical significance ($P < 0.05$) between treatment groups (grey bars) and control groups (black bars). N is presented at the bottom of the bars.

Adjustments in foraging effort have been observed in other seabird species (mostly Procellariiformes) in response to variation in breeding expenditure. These adjustments were made to avoid parental impairment, thereby prioritizing self-maintenance over the current breeding attempt (Tveraa *et al.* 1997, Navarro & González-Solís 2007). In contrast, adjustments in foraging effort by the blue-footed booby parents in the present study were made to maintain the current breeding attempt at the expense of their own physiological status (see below). This capacity to make adjustments has the potential advantage of buffering the effects of environmental variation to maintain breeding (Erikstad *et al.* 1997, Varpe *et al.* 2004). However, this ability has limits and, under extreme scenarios, such as during El Niño years, breeding is suspended or adjustments are inadequate, resulting in reduced breeding success (Oro *et al.* 2010, Ancona *et al.* 2011). There is a natural productivity gradient in the breeding of the blue-footed booby: cold years allow early onset and high breeding success, whereas warm years result in delayed onset and low breeding success (Ancona *et al.* 2011). Therefore, adjustments in foraging behaviour can enable the maintenance of breeding under variable climatic conditions, but they may also have detrimental effects on the condition and survival of chicks (Velando 2002, González-Medina *et al.* 2010, Ancona *et al.* 2011). Although behavioural adjustments appear to only partially compensate for expenditures, they remain advantageous in systems with high interannual variability, such as the upwelling coastal system of the Gulf of California. Although most of the plasma metabolite parameters did not differ among the treatment groups, we found a significant effect of brood demand on CK activity. In general, an increase in the activity of this enzyme reflects muscular damage, primarily related to intense and sustained locomotor exercise (Guglielmo *et al.* 2001). Therefore, the parents with increased demands showed muscular damage as a result of the increase in foraging effort. This result highlights the connection between the behavioural responses of these birds and their physiological consequences.

Table I. Effects of increasing or decreasing brood demand on foraging effort (duration and number of foraging trips), parental care time at nest (percentage of time at nest) and physiological status (plasma metabolite levels and H/L ratio at the end of the experiment) in adult blue-footed boobies.

	<i>n</i>	Treatment			Sex			Treatment*sex		
		<i>F</i>	<i>df</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>df</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>df</i>	<i>P</i>
Increased demands vs control										
Foraging trips per day	152	9.5	1, 146	<0.001	1.72	1, 146	0.19	0.06	1, 146	0.80
Duration of foraging trip (h)	276	0.68	1, 270	0.41	0.36	1, 270	0.55	0.20	1, 270	0.89
Percentage of time at nest	152	8.43	1, 146	<0.001	3.65	1, 146	0.06	0.28	1, 146	0.60
In triglycerides	37	1.97	1, 31	0.17	1.30	1, 31	0.26	0.07	1, 31	0.79
βOH-butyrate	35	0.23	1, 30	0.64	0.61	1, 30	0.44	0.32	1, 30	0.57
In CK/TP	37	8.11	1, 32	0.01	0.01	1, 32	0.94	0.11	1, 32	0.74
H/L ratio	38	64.89	1, 33	<0.001	0.98	1, 33	0.33	0.04	1, 33	0.84
BCI change	38	1.48	1, 33	0.23	2.35	1, 33	0.13	1.51	1, 33	0.23
Decreased demands vs control										
Foraging trips per day	160	0.00	1, 154	0.99	0.04	1, 154	0.84	1.72	1, 154	0.19
Duration of foraging trip (h)	296	1.07	1, 290	0.30	1.48	1, 290	0.22	2.36	1, 290	0.13
Percentage of time at nest	160	1.16	1, 154	0.28	1.18	1, 154	0.28	5.08	1, 154	0.03
In triglycerides	39	0.15	1, 33	0.70	2.43	1, 33	0.13	0.01	1, 33	0.94
βOH-butyrate	39	2.3	1, 34	0.14	0.08	1, 34	0.78	0.12	1, 34	0.73
In CK/TP	40	18.54	1, 35	<0.001	0.00	1, 35	0.95	1.7	1, 35	0.20
H/L ratio	40	11.99	1, 35	<0.001	1.40	1, 35	0.24	1.56	1, 35	0.22
BCI change	40	2.04	1, 35	0.16	0.36	1, 35	0.55	1.53	1, 35	0.22

CK/TP: creatine kinase/total protein (U/g); H/L: heterophil/lymphocyte; BCI: body condition index. Significant differences ($P < 0.05$) are indicated in bold.

In the blue-footed booby, when brood demand was increased, parents had higher levels of stress (higher H/L ratios). Because elevated H/L ratios indicate high stress levels, they are likely to connote higher parental demands (Quillfeldt *et al.* 2008, Wojczulanis-Jakubas *et al.* 2014). The muscular damage inferred from the CK levels can affect the immediate immune system, which is detected by the H/L ratio (Field 2000, Alonso-Álvarez & Tella 2001). It appears that blue-footed booby parents covered part of the cost incurred by the additional reproductive effort at the expense of investing in their immune status, as has been shown in other bird studies in which the requirements of parental care were increased (Folstad & Karter 1992, Sheldon & Verhulst 1996). Apparently, there is a trade-off between maintenance (including immune function) and the demands that parents face during reproduction. Because the immune system plays such a pivotal role in animals due to its function as a defence mechanism against parasites and pathogens, it is necessary for health and survival; however, it can be suppressed when birds encounter limited energy resources (Salvante 2006, Davis *et al.* 2008). This indicates that the demands on parents during reproduction are very expensive, as parents must compensate by using physiological resources, up to a certain limit. This redistribution of parental resources can be an important mechanism for maximizing reproductive success. It is possible that this redistribution entails little risk of compromising the parental immune system to the point of attack by parasites and pathogens because, in general, the incidence of parasitic blood infections is low in seabirds (Quillfeldt *et al.* 2011). In contrast, when brood demand was reduced, parents had lower stress levels (lower H/L ratios). This indicates that when expenditures decreased in the blue-footed booby, the level of deterioration decreased, and their physiological status was improved because they were able to invest more resources into their immune status.

The nutritional status of the blue-footed booby parents did not differ between the increased or decreased demand groups and their respective controls. The maintenance of body condition is a common feature of most experimental studies that have manipulated reproductive expenditure in long-lived bird species (Navarro

& González-Solís 2007). Similar to the results of the present study, previous studies have shown that when reproductive expenditure is modified, birds maintain their nutritional status during reproduction (Tveraa *et al.* 1997, Duriez *et al.* 2000, Navarro & González-Solís 2007). This means that blue-footed booby parents adjusted their foraging behaviour (with consequences for the CK level and H/L ratio) according to offspring demands, without significant changes in their body condition (measured as BUTY, triglyceride levels and BCI). Parents have the capacity to regulate body mass and body condition even while adjusting their foraging effort and other physiological parameters, suggesting that body condition is less sensitive than the CK level and H/L ratio and that measures based only on body condition should be interpreted cautiously.

Short-term effects were evident when brood demand was increased. For chicks, early-life conditions (advantageous or disadvantageous) can have long-term implications. It has been noted that the survival and recruitment of the youngest birds is commonly affected by local climate at birth (Oro *et al.* 2014). In addition, chick body condition has been positively correlated with survival and early recruitment (Monticelli & Ramos 2012). The relevance of early-life conditions highlights the importance of the ability to buffer and reduce disadvantages for the young. This could explain why parents make such efforts even at the expense of their own health.

We expected sex-related differences in foraging effort, time at nest and physiological state in the blue-footed booby when brood demand was manipulated, especially when demand was increased. However, contrary to our expectations, we observed that only females modified their parental care when brood demand was reduced. When brood demand was decreased, females decreased their time spent at the nest. This intriguing result is difficult to explain considering brood demands. In the context of brood value, females may decrease attention to their new brood because they regard their brood to be of lower reproductive value (i.e. smaller chicks might have a lower chance of survival, or females might perceive that their feeding of chicks is not reflected in chick growth and therefore regard

them as sick or undernourished with a low chance of survival). However, under this scenario, we would expect chicks to be impaired by maternal deficiencies in care, yet these chicks had a better physiological state than controls at the end of the experiment (González-Medina *et al.* 2015). Moreover, despite this difference in time spent at nest between the sexes under reduced brood demands, we did not find sex-related differences in any of the physiological variables evaluated in response to manipulation of chick-rearing costs. Therefore, the decreased percentage of time at the nest had no apparent impact on the other physiological parameters. As this result is puzzling without any evident explanation, it should be interpreted with caution.

Previous studies have found that only female blue-footed boobies are able to regulate their body mass when brood size is manipulated (Velando & Alonso-Alvarez 2003). Our results suggest that both sexes were similarly affected physiologically when their parental investment was adjusted and that both were willing to absorb some of the costs of reproduction to maximize reproductive success. We found a sex-related difference in only the percentage of time at the nest, with no apparent explanation; the other results indicate no differences between the sexes. Thus, the idea that behavioural flexibility has limits in blue-footed booby males must be reconsidered (Velando & Alonso-Alvarez 2003). According to our results, both sexes of blue-footed booby adults showed behavioural and physiological flexibility in coping with the energy demands of their offspring during reproduction. However, our manipulation did not entail extreme changes. It appears that each sex has different buffering capabilities. In a favourable environment, both sexes can make adjustments, while in an unfavourable environment, only females do so (Castillo-Guerrero & Mellink 2011). Below a critical physiological level, both sexes allocated resources to self-maintenance at the expense of sharing the costs with their chicks.

Overall, our results suggest that blue-footed boobies adjust their behaviour (foraging effort and time at nest) in response to brood demand, and, as expected, such adjustments have consequences for their physiological status (CK/TP level

and H/L ratio). These changes were more evident when brood demand was increased, suggesting that both parents were willing to increase reproductive expenditure. When brood demand was decreased, both sexes experienced lower physiological expenditures. These results highlight the connections between behavioural responses and physiological costs. Blue-footed boobies have a highly demanding chick-rearing period (Velando & Alonso-Alvarez 2003) and inhabit upwelling systems, where they experience high environmental variability throughout the breeding season. Thus, the ability of adults to adjust breeding effort (within certain limits) can buffer the needs of their offspring across different scenarios throughout the breeding season, but it has short-term physiological costs and may also be related to long-term survival.

II.7. ACKNOWLEDGMENTS

We thank M. Guevara, A. Mendoza, M. Leal, M. Arvizú, S. Rendón, M. Lerma, J. P. Ceyca, A. Leal, D. Brito, C. Franco and N. Albano for their help with fieldwork, I. Piedad for laboratory support and P. Castro for transportation to the islands and for keeping us aware of the weather forecast while we were there. We also thank two anonymous referees and the editor, Ken Yasukawa, who provided thoughtful recommendations that improved the manuscript. Funding for this work was provided by Fondo Mexicano para la Conservación de la Naturaleza A.C. (PIE-2012-A-P-C-IGSI-12-12), CONACYT (no. I010/176/2012), Sonoran Joint Venture, Pronatura México A.C. and Instituto de Ciencias del Mar y Limnología e UNAM. Funding for the English translation of this article was provided by Programa de Apoyo Académico del Posgrado de Alta Calidad, CONACYT (no. 37621-811). E. González-Medina was supported by a Ph.D. student scholarship provided by CONACYT (Programa de Doctorado en Ciencias del Mar y Limnología, UNAM no. 201218), and F. Santiago-Quesada was supported by a grant from the Gobierno de Extremadura and FSE funds (RE12002). This paper constitutes partial fulfilment of the Graduate Program in Marine Sciences and Limnology, UNAM.

II.8. REFERENCES

- Albano N, Masero JA, Villegas A, Abad-Gómez JM, Sánchez-Guzmán JM (2011). Plasma metabolite levels predict bird growth rates: a field test of model predictive ability. *Comp. Biochem. Physiol. A*. 160:9–15.
- Alonso-Álvarez C, Tella JL (2001). Effects of experimental food restriction and body-mass changes on avian T-cell mediated immune response. *Can J. Zool.* 79:101–105.
- Ancona S, Sánchez-Colón S, Rodríguez C, Drummond H (2011). El Niño in the warm tropics: local sea temperature predicts breeding parameters and growth of blue-footed boobies. *J. Anim. Ecol.* 80:799–808.
- Castillo-Guerrero JA, González-Medina E, Mellink E (2014). Adoption and infanticide in an altricial colonial seabird, the blue-footed booby: the roles of nest density, breeding success, and sex-biased behavior. *J. Ornithol.* 155:135–144.
- Castillo-Guerrero JA, Mellink E. (2011). Occasional inter-sex differences in diet and foraging behavior of the blue-footed booby: maximizing chick rearing in a variable environment? *J. Ornithol.* 152:269–277.
- Clark P, Boardman W, Raidal S (2009). *Atlas of clinical avian hematology*. West Sussex, U.K.: Wiley-Blackwell.
- Clutton-Brock TH (1991). *The evolution of parental care*. Princeton, NJ: Princeton University Press.
- Davis AK (2005). Effects of handling time and repeated sampling on avian white blood cell counts. *J. Field Ornithol.* 76:334–338.
- Davis AK, Maney DL, Maerz JC (2008). The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologist. *Funct. Ecol.* 22:760–772.
- Dehnhard N, Poisbleau M, Demongin L, Chastel O, van Noordwijk HJ, Quillfeldt P (2011). Leucocyte profiles and corticosterone in chicks of southern rockhopper penguins. *J. Comp. Physiol. B Biochem. Syst. Environ. Physiol.* 181:83–90.
- Drent R, Daan S (1980). The prudent parent: energetic adjustments in avian breeding. *Ardea* 68:225–252.
- Drummond H, Osorno JL, Torres R, García-Chavelas C, Merchant Larios H (1991). Sexual size dimorphism and sibling competition: implications for avian sex ratios. *Am. Nat.* 138:623–641.
- Duriez O, Weimerskirch H, Fritz H (2000). Regulation of chick provisioning in the thin-billed prion: an interannual comparison and manipulation of parents. *Can J. Zool.* 78:1275–1283.
- Engilis A, Oring LW, Carrera E, Nelson JW, Martinez-Lopez A (1998). Shorebird surveys in Ensenada Pabellones and Bahia Santa Maria, Sinaloa, Mexico: critical winter habitats for Pacific Flyway shorebirds. *Wilson Bull.* 110:332–341.
- Erikstad KE, Asheim M, Fauchald P, Dalhaug L, Tveraa T (1997). Adjustment of parental effort in the puffin; the roles of adult body condition and chick size. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 40:95–100.

- Field CJ (2000). Use of T cell function to determine the effect of physiologically active food components. *Am. J. Clin. Nutr.* 71:1720–1725.
- Folstad I, Karter AJ (1992). Parasites, bright males, and the immunocompetence handicap. *Am. Nat.* 139:603–622.
- González-Medina E, Castillo-Guerrero JA, Mellink E (2010). Parental and chick responses of laughing gulls (*Leucophaeus atricilla*) to increase of flight costs and brood size. *J. Ornithol.* 151:219–225.
- González-Medina E. (n.d.). [Nesting density and characterization of BFBO nests on the Isla El Rancho]. Unpublished raw data.
- González-Medina E, Castillo-Guerrero JA, Santiago-Quesada F, Villegas A, Masero JA, Sánchez-Guzmán JM, Guillermo Fernández (2015) Variations in parental rearing expenditures trigger short-term physiological effects on offspring in a long-lived seabird. Manuscript submitted for publication.
- Granadeiro JP, Bolton M, Silva MC, Nunes M, Furness RW (2000). Responses of breeding Cory's shearwater *Calonectris diomedea* to experimental manipulation of chick condition. *Behav. Ecol.* 11:274–281.
- Gruebler MU, Naef-Daenzer B (2010). Survival benefits of post-fledging care: experimental approach to a critical part of avian reproductive strategies. *J. Anim. Ecol.* 79:334–341.
- Guerra MC, Drummond H (1995). Reversed sexual size dimorphism and parental care: minimal division of labour in the blue-footed booby. *Behaviour* 132:479–496.
- Guglielmo CG, Cerasale DJ, Eldermire C (2005). A field validation of plasma metabolite profiling to assess refueling performance of migratory birds. *Physiol. Biochem. Zool.* 78:116–125.
- Guglielmo CG, Piersma T, Williams TD (2001). A sport-physiological perspective on bird migration: evidence for flight-induced muscle damage. *J. Exp. Biol.* 204:2683–2690.
- Hamer KC, Lynnes AS, Hill JK (1998). Regulation for chick provisioning rate in Manx shearwaters: experimental evidence and implications for nestling obesity. *Funct. Ecol.* 12:625–630.
- Hanssen SA, Hasselquist D, Folstad I, Erikstad KE (2005). Cost of reproduction in a long-lived bird: incubation effort reduces immune function and future reproduction. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 272:1039–1046.
- Houwen B (2001). The differential cell count. *Laboratory Hematology* 7:89–100.
- Jakubas D, Wojczulanis-Jakubas K, Kośmicka A (2014). Factors affecting leucocyte profiles in the little auk, a small Arctic seabird. *J. Ornithol.* 156:101–111.
- Krams I, Vrublebska J, Cirule D, Kivleniece I, Krama T, Rantala MJ *et al.* (2013). Stress, behaviour and immunity in wild-caught wintering great tits (*Parus major*). *Ethology* 119:397–406.
- Linden M, Møller AP (1989). Costs of reproduction and covariation of life history traits in birds. *Trends Ecol. Evol.* 4:367–371.
- Lobato E, Moreno J, Merino S, Sanz JJ, Arriero E (2005). Haematological variables are good predictors of recruitment in nestling pied flycatchers (*Ficedula hypoleuca*). *Ecoscience* 12:27–34.

- Monticelli D, Ramos JA (2012). Laying date, body mass and tick infestation of nestling tropical roseate terns predict fledging success, first-year survival and age at first return to the natal colony. *Ibis* 154:825–837.
- Navarro J, González-Solís J (2007). Experimental increase of flying costs in a pelagic seabird: effects on foraging strategies, nutritional state and chick condition. *Oecologia* 151:150–160.
- Navarro J, González-Solís J, Viscor G, Chastel O (2008). Ecophysiological response to an experimental increase of wing loading in a pelagic seabird. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 358:14–19.
- Nelson B (2005). *Pelicans, cormorants, and their relatives: Pelecanidae, Sulidae, Phalacrocoracidae, Anhingidae, Fregatidae, Phaethontidae*. New York, NY: Oxford University Press.
- Oro D, Hernández N, Jover L, Genovart M (2014). From recruitment to senescence: food shapes the age-dependent pattern of breeding performance in a long-lived bird. *Ecology* 95:446–457.
- Oro D, Torres R, Rodríguez C, Drummond H (2010). Climatic influence on demographic parameters of a tropical seabird varies with age and sex. *Ecology* 91:1205–1214.
- Phillips R, Croxall J (2003). Control of provisioning in grey-headed albatrosses (*Thalassarche chrysostoma*): do adults respond to chick condition? *Can. J. Zool.* 116:111–116.
- Quillfeldt P, Arriero E, Martínez J, Masello JF, Merino S (2011). Prevalence of blood parasites in seabirds: a review. *Front. Zool.* 8:26. <http://dx.doi.org/10.1186/1742-9994-8-26>.
- Quillfeldt P, Masello JF, Möstl E (2004). Blood chemistry in relation to nutrition and ectoparasite load in Wilson's storm-petrels *Oceanites oceanicus*. *Polar Biol.* 27:168–176.
- Quillfeldt P, Ruiz G, Aguilar Rivera M, Masello JF (2008) Variability in leucocyte profiles in thin-billed prions *Pachyptila belcheri*. *Comp. Biochem. Physiol. A* 150:26–31.
- Ramírez F, Hobson KA, Wangensteen OS, Genovart M, Viscor G, Sanpera C, *et al.* (2010). A physiological marker for quantifying differential reproductive investment between the sexes in yellow-legged gulls (*Larus michahellis*). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 396:48–52.
- Riechert J, Chastel O, Becker PH (2014). Regulation of breeding behavior: do energy demanding periods induce a change in prolactin or corticosterone baseline levels in the common tern (*Sterna hirundo*)? *Physiol. Biochem. Zool.* 87:420–431.
- Salvante KG (2006). Techniques for studying integrated immune function in birds. *Auk* 123:575–586.
- Sheldon BC, Verhulst S (1996). Ecological immunology: costly parasite defences and trade-offs in evolutionary ecology. *Trends Ecol. Evol.* 11:317–321.
- Tarwater CE, Brawn JD (2010). The post-fledging period in a tropical bird: patterns of parental care and survival. *J. Avian Biol.* 41:479–487.
- Tveraa T, Lorentsen S, Saether B (1997). Regulation of foraging trips and costs of incubation shifts in the Antarctic petrel (*Thalassoica antarctica*). *Behav. Ecol.* 8:465–469.

- Varpe Ø, Tveraa T, Folstad I (2004). State-dependent parental care in the Arctic petrel: responses to manipulated chick age during early chick rearing. *Oikos* 106:479–488.
- Velando A (2002). Experimental manipulation of maternal effort produces differential effects in sons and daughters: implications for adaptive sex ratios in the blue-footed booby. *Behav. Ecol.* 13:443–449.
- Velando A, Alonso-Alvarez C (2003). Differential body condition regulation by males and females in response to experimental manipulations of brood size and parental effort in the blue-footed booby. *J. Anim. Ecol.* 72:846–856.
- Villegas A, Masero JA, Corbacho C, Gutiérrez JS, Albano N, Sánchez-Guzmán JM (2013). Sex-specific vulnerability to breeding conditions in chicks of the sexually monomorphic gull-billed tern. *J. Ornithol.* 154:431–439.
- Vleck CM, Vertalino N, Vleck D, Bucher IT (2000). Stress, corticosterone, and heterophil to lymphocyte ratios in free-living Adélie penguins. *Condor* 102:392–400.
- Weathers WW, Sullivan KA (1993). Seasonal patterns of time and energy allocation by birds. *Physiol. Zool.* 66:511–536.
- Weimerskirch H, Chastel O, Ackermann L (1995). Adjustment of parental effort to manipulated foraging ability in a pelagic seabird, the thin-billed prion *Pachyptila belcheri*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 36:11–16.
- Wojczulanis-Jakubas K, Jakubas D, Kulaszewicz I, Kidawa D, Taylor JRE (2014). Influence of primary reproductive investments on blood biochemistry, leucocyte profile and body mass in a small Arctic seabird. *Auk* 131:743–755.

Variations in parental rearing expenditures trigger short-term physiological effects on offspring in a long-lived seabird

IBIS



Erick González-Medina, José Alfredo Castillo-Guerrero, Francisco Santiago-Quesada, Auxiliadora Villegas, José A. Masero, J. M. Sánchez-Guzmán, Guillermo Fernández. *Ibis* (2016) doi: 10.1111/ibi.12346.

III.1. ABSTRACT

Parental care in long-lived bird species involves a trade-off between the benefits of increasing the effort expended on current offspring and the costs that this represents for future reproductive output. Under regimes of high environmental variability, long-lived seabirds can adjust their breeding effort to buffer the negative effects of this variability on their offspring. However, the potential impacts of variation in breeding effort on offspring physiology in the short term and on longer-term survival are poorly understood. In this study, we manipulated brood age through a cross-fostering experiment to assess whether increasing or decreasing parental reproductive expenditure led to costs in Blue-footed Booby *Sula nebouxii* chicks. Specifically, we tested the consequences of altered parental reproductive expenditure on the offspring's physiological condition (plasma metabolites, heterophil to lymphocyte ratio (H/L) and body condition index (BCI)) and survival. Offspring from broods in which parental investment was experimentally increased showed a lower BCI and lower alkaline phosphatase levels and higher H/L ratios than controls. Conversely, offspring showed the opposite pattern when reproductive expenditure was experimentally decreased. We observed no effects of manipulation of parental investment on triglyceride levels or on survival rates. Although our findings suggest that Blue-footed Booby parents have the ability to adjust their breeding effort according to the demands of their offspring, parental effort could influence the effect of hatching order by suppressing the aggressive tendency of the senior chick.

Keywords: physiological condition, reproductive expenditure, *Sula nebouxii*.

III.2. INTRODUCTION

A fundamental concept in the evolution of life-history strategies is the cost of reproduction (Stearns 1992). Reproductive costs occur when time and/or energy are invested in reproduction at the expense of growth, self-maintenance or future reproduction (e.g. Ricklefs & Wikelski 2002). These costs may be passed on to the offspring (inter-generational costs; Mauck & Grubb 1995), absorbed by the parents (intra-generational costs; Daan *et al.* 1996) or shared (Maigret & Murphy 1997). In long-lived seabirds, reproductive costs may be passed on to the offspring (Sæther *et al.* 1993, Mauck & Grubb 1995). These costs have been documented when breeding expenditure increases beyond a specific threshold that parents can buffer, so that the costs not covered by the parents have negative effects on their offspring (Paredes *et al.* 2005, Harding *et al.* 2009). In the Blue-footed Booby *Sula nebouxii*, for example, when reproductive expenditures of adults were increased by the manipulation of flight cost and brood size, their offspring had lower body mass (Velando 2002, Velando & Alonso-Alvarez 2003). In Leach's Storm-petrel *Oceanodroma leucorhoa* and Little Auk *Alle alle*, when the cost of flight was manipulated in parents, the chicks of both species gained mass more slowly, and the chicks of Little Auk showed higher levels of the stress hormone corticosterone (Mauck & Grubb 1995, Harding *et al.* 2009). Understanding the form that reproductive costs take is critical to understanding investment decisions in long-lived seabirds, but although these costs have often been documented as an effect on the offspring's body mass (corrected or not by size) and size, data on the effects on other physiological indices are rare (Navarro & González-Solís 2007, Dehnhard *et al.* 2011a).

Egg formation, incubation and post-fledging stage can be as demanding as the chick-rearing stage in some bird species (Piersma *et al.* 2003, Nager 2006, Gruebler & Naef-Daenzer 2010, Tarwater & Brawn 2010) but the chick-rearing period has been assumed to be one of the most demanding during the breeding season and is a critical stage for the decisions that influence the balance of parental effort (e.g. Hanssen *et al.* 2005). Here, we tested experimentally whether

changes in expenditures of Blue-footed Booby parents during the chick-rearing period are reflected in costs to their offspring. Blue-footed Booby is a colonial seabird species with a long period of biparental care (up to 6 months; Nelson 2005). Both parents feed their nestlings and defend the nest territory (Nelson 2005). As the chicks grow, meals increase in size and frequency, and parents with older chicks (> 10 days old) provide more food more frequently (twice as much) than those with younger chicks (5 days old; Guerra & Drummond 1995), suggesting that parental expenditure increases. We manipulated brood age through a cross-fostering experiment to increase or decrease the demand for food abruptly and permanently, changing the requirements of parental care. Our aim was to assess whether the ability of parents to adjust to changes in the reproductive expenditure of attending younger (i.e. lower demand for food) or older (i.e. higher demand for food) chicks affected their offspring in the short term in terms of plasma metabolites, heterophil/lymphocyte ratio (H/L), body condition index (size-corrected body mass (BCI)) and survival rates.

Plasma metabolite levels can be used as a reliable single-measurement predictor of a chick's growth conditions. Specifically, triglycerides and β -OH-butyrate (BUTY) levels are good predictors of chick growth rates in colonial waterbirds (Albano *et al.* 2011), whereas alkaline phosphatase (ALP) levels are associated with increased growth and secondary ossification in passerines, raptors and seabirds (e.g. Villegas *et al.* 2002, Tilgar *et al.* 2004). The H/L ratio increases in response to various stressors, such as inflammatory processes or infectious diseases, parasite infestation, food or water deprivation, or extreme temperature (e.g. Vleck *et al.* 2000, Lobato *et al.* 2005, Davis *et al.* 2008). In birds, the H/L ratio may also correlate with the production of antibodies against novel antigens (Krams *et al.* 2013).

We altered the reproductive expenditure of the parents by manipulating brood age, which reflects chick food demand. Blue-footed Booby parents from this experiment showed short-term adjustments in foraging behaviour (foraging effort and time at nest) in response to increasing or decreasing chick food demand, and

these adjustments were reflected in the physiological status of parents (creatine kinase/total protein and H/L ratios) (González-Medina *et al.* 2015). These results suggested that both parents were willing to adjust their reproductive expenditure in order to maintain the value of the brood. To assess whether the observed adjustments in reproductive expenditure are sufficient to compensate fully for the increased offspring demand, we investigate the consequences of manipulated brood age on the offspring. If the adjustments in parental reproductive expenditure are insufficient to compensate for altered offspring food demand, then if the parents' reproductive expenditure is increased, we predict that the offspring will pay a cost, whereas when the parents' reproductive expenditure is decreased, we predict that chicks would not suffer and may even show improved physiological condition. In Blue-footed Booby, the aggressive tendency of the senior chick offers an advantage in its controlling access to the food offered to the brood (Drummond *et al.* 1986, Nelson 2005), so junior chicks receive significantly less food from the parents (17% less fish for the first 7 days of life and 13% less fish between 12 and 35 days; Guerra & Drummond 1995). We expect, therefore, that changes in the parents' reproductive expenditure would differentially affect senior and junior chicks. As senior chicks control the access to food, we expect consistent differences between senior and junior chicks (i.e. better BCI, higher triglyceride levels and survival rates, and lower H/L ratio and BUTY levels). On the other hand, we expected small or no differences among senior chicks (treatments vs. control groups). In the case of junior chicks, we expected a disproportionate negative effect under stressful conditions (e.g. increased demands) expressed as a lower BCI, triglyceride levels or survival rates, and higher stress (H/L ratio) and BUTY levels than junior chicks of control nests. When reproductive expenditure is decreased, we expected the junior chicks to exhibit better performance than that of junior chicks in control nests.

III.3. METHODS

III.3.1. Study site

Fieldwork was conducted on the El Rancho island (25°10'N, 108°23'W; 327 ha), in northern Bahía Santa María-La Reforma, the largest coastal wetland of Sinaloa, Mexico (Engilis *et al.* 1998). The colony was located in the northwestern part of the island between 4-m-high sand dunes. Approximately 3000 pairs of Blue-footed Boobies nest in an area of 1.66 ha, with an average nest density of 0.26 ± 0.12 nests per m² (E. González-Medina unpubl. data).

III.3.2. Experimental design – manipulation of the reproductive costs

We conducted a cross-fostering experiment using broods with two chicks: 19 nests with 1-week-old chicks (mean age of two chicks: 5.7 ± 0.4 days, senior chicks: 7.6 ± 0.4 days, junior chicks: 3.8 ± 0.4 days) and 20 nests with 2-week-old chicks (mean age of two chicks: 13.02 ± 0.6 days, senior chicks: 15.6 ± 0.4 days, junior chicks: 10.45 ± 0.4 days). For the experimental treatments, we exchanged entire two-chick broods between pairs of nests consisting of one nest of each type, placing 2-week-old chicks into the former nests of 1-week-old broods and vice versa. The brood exchanges produced four groups: (1) 1-week-old broods replaced by 2-week-old broods (parental reproductive expenditure increased; increased demand treatment, $n = 13$); (2) 2-week-old broods replaced by 1-week-old broods (parental reproductive expenditure decreased; decreased demand treatment, $n = 13$); (3) a control group for the increased demand treatment (2-week-old chicks exchanged with chicks from another nest of the same age; increased control, $n = 7$); and (4) a control group for the decreased demand treatment (1-week-old chicks were exchanged with chicks from another nest of the same age; decreased control, $n = 6$).

We used broods between the first 2 weeks of a chick's life because the frequency and quantity of food delivered by parents shows striking differences

among 1-week- and 2-week-old broods (Guerra & Drummond 1995). At this early stage, the foster parents did not reject the chicks since the ability to recognize their offspring only develops at 20–40 days of age (Castillo-Guerrero *et al.* 2014). The age of the chicks was estimated by comparing the plumage and body size measurements of chicks with chicks of known age (the differences between offspring of known age and the age estimated by body size measures was 0.25 ± 0.1 days, $n = 94$). Chicks were sexed with a reliable method using the length of their ulna at a mean age of 79.7 ± 0.5 days, when it reached an asymptotic, bimodal distribution that did not overlap between the sexes (Drummond *et al.* 1991, Torres & Drummond 1997). Although the age of the adults was unknown, we controlled the experiment to a narrow range of laying dates, which may be related to the age and experience of the breeders (Hamer *et al.* 2001). Specifically, in the Booby colony on Isla Isabel, young (2- to 3-year-olds) and old (14- to 16-year-olds) adults tended to nest later in the breeding season (Peña 2009). During the study period, the median laying date in El Rancho was 5 December (26 days after the first egg laid, $n = 154$; range: 10 November–14 February). Experimental nests were selected from a homogeneous group (median laying date: 24 days), so the quality of the parents according to laying date was assumed to be similar. Moreover, we did not detect significant effects of laying date ($P > 0.05$) in our analyses.

III.3.3. Fieldwork and sample collection

We visited the island regularly (every 2 weeks with each visit being 5 days in duration) between January and March 2012 (30 days of fieldwork). Both adults and chicks were individually marked with alphanumeric rings. The cross-fostering exchange was conducted between 10 and 20 January. At each visit, the chicks were measured (culmen, tarsus and wing length to the nearest 0.1 mm) and weighed (to the nearest 2 g). Thirty-five days after the exchange, individual blood samples (approximately 0.5 mL) were collected from the brachial vein and transferred to a polypropylene tube without anticoagulant. The serum was obtained by centrifugation at 2,800 $\times g$ for 10 min and stored at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ until laboratory analysis. The time between capture and blood collection was always > 15 min (9.6

± 3.5 min), shorter than the 1-h interval after which total leucocyte counts decrease (Davis 2005). Also, we included the handling time in our preliminary models without detecting a significant effect ($P > 0.05$). Chicks were returned to their nests immediately after sample collection and were monitored until their parents returned to the nest (< 3 min) to avoid attack by adult neighbours.

III.3.4. Plasma metabolites

Plasma levels of total triglycerides (triglyceride plus free glycerol) and ALP were assayed in a multiparameter chemistry analyser (Falcor 360; Menarini Diagnostics, Barcelona, Spain) with commercial kits (Menagent; Menarini Diagnostics) adapted to small sample volumes (Villegas *et al.* 2013). The analyser was calibrated with a commercial calibrator kit (Menagent; Menarini Diagnostics), and control reference serums (Menagent; Menarini Diagnostics) were run together with plasma samples. Plasma levels of BUTY and glycerol were assayed by means of standard diagnostic kits in a microplate spectrophotometer (BioTek Powerwave, Winooski, VT, USA) using 400- μ L flat-bottom microplates (Greiner Bio-One, Frickenhausen, Germany) by endpoint assay, with the commercial kits adapted for small-volume samples described by Albano *et al.* (2011). Specifically, we used BUTY (Enzytec, DiaSys Diagnostic Systems, Holzheim, Germany; 5 μ L plasma, 100 μ L reagent A, and 100 μ L reagent B) and free glycerol reagent (Sigma, Stockholm, Sweden, 2.5 μ L plasma, 200 μ L reagent). All measurements were made in duplicate. Inter-assay coefficients of variation for triglyceride, glycerol, ALP and BUTY were 5.6% ($n = 25$), 13.5% ($n = 52$), 11.2% ($n = 54$) and 13.8% ($n = 65$), respectively, and intra-assay coefficients of variation were 1.9% ($n = 18$), 7.2% ($n = 56$), 2.8% ($n = 18$) and 8.3% ($n = 42$), respectively. The amount of triglyceride was calculated by subtracting the free glycerol from the total triglyceride. In some cases, the amount of plasma obtained was insufficient for the analyses of all metabolites; thus sample sizes differed between treatments.

III.3.5. Heterophil to lymphocyte ratio (H/L)

We estimated the heterophil to lymphocyte ratio (H/L) using blood smear and microscopy (1000× magnification; Leica DM LB microscope, Wetzlar, Germany). One drop of blood was smeared, air-dried on a glass slide immediately after sampling and later fixed with absolute methanol. All smears were prepared by the Wright–Giemsa stain method. We obtained differential leucocyte counts by counting 100 white blood cells per smear (Houwen 2001), differentiating between lymphocytes, heterophils, monocytes, eosinophils and basophils (Clark *et al.* 2009).

III.3.6. Body condition index and survival rates

Morphometric data (tarsus, ulna and culmen length) were used in a principal component analysis (PCA) and the first principal component (PC1) reflected the body size of each bird (Rising & Somers 1989, Brown 1996). An index of body condition was calculated as the residual of the regression body mass on PC1 (reviewed in Brown 1996). The body mass of the chicks was positively related to the PC1 ($R^2 = 0.97$, $P < 0.01$, $F_{1,142} = 5283.2$). The change in body condition of the chicks was evaluated by comparing the initial and final (at the beginning and end of the experiment) BCI and was expressed as a percentage (%). We also determined the BCI (expressed as a percentage of the predicted value) and survival of the chicks (c. 10 weeks old) to evaluate the effect on the offspring prior to the flight stage.

III.3.7. Statistical analysis

Linear mixed models were carried out to test the effect of treatment on plasma metabolite levels, pre-fledging BCI, percentage of change in BCI and H/L ratio. Analyses included treatment, hatching order and the interaction (treatment × hatching order) as fixed factors, and the individual (nested by nest) as the random factor to control for the effect of siblings. We did not reduce the model, to minimize

the possibility of obtaining spurious results (Bolker *et al.* 2009). There is no known difference between male and female Boobies feeding chicks (Torres & Drummond 1999), nor is mortality in junior chicks sex-biased (two-chick broods, Torres & Drummond 1997), so hierarchy may play a more important role in survival than sex. We performed a preliminary analysis including offspring sex as a fixed factor and did not find any significant effect ($P > 0.05$). Due to this, and the small and incomplete sample of sexed birds, we excluded sex from the analysis. The levels of plasma metabolites depend strongly on food intake, and differences in the daily pattern of food intake may cause differences in metabolite levels (Jenni-Eiermann & Jenni 1994). As the chicks were sampled at different times of day, we performed a regression analysis to determine whether time of the day affected the plasma metabolite levels; this analysis showed no statistically significant effect of the time of day ($P > 0.05$). Additionally for plasma metabolites, we performed a multiple regression analysis to determine whether body mass, handling time, bleeding time, Julian date and age affected the metabolite levels. Only body mass was incorporated ($P < 0.05$) as a covariate in the analyses of BUTY and ALP. In the case of the H/L ratio, offspring age was added as a covariate to control for the potential effects of chick age, because the H/L ratio has been found to differ between chicks of different ages in another seabird species (Thin-billed Prions *Pachyptila belcheri*, Quillfeldt *et al.* 2008).

Finally, the survival of the offspring to the preflight stage was compared using a generalized linear model with a logit link due to the binomial distribution of the response variable (live or dead). We only included junior chicks in the analysis because all of the senior chicks from the treatments and controls survived. Analyses included the treatment as a fixed factor and the BCI of senior chick as a covariate (because the condition and survival of junior chicks is a function of the condition of their senior sibling). Paired comparisons involved increased demand vs. increased control, and decreased demand vs. decreased control. If the plasma metabolite levels did not meet the assumption of normality, we transformed the data using $\ln(\text{metabolite})$ to approximate normality, and transformed data were used in all analyses. The residuals of the models were normally distributed

(Shapiro–Wilk test, $P > 0.05$). All analyses were performed using the SPSS statistics 21 (IBM 2012). The values reported are means \pm 95% confidence intervals (CI). The significance level was set at 0.05.

III.4. RESULTS

III.4.1. Plasma metabolites and H/L ratios

An increase in parental reproductive demand significantly decreased the levels of ALP in offspring compared with control chicks, whereas a decrease in reproductive demand increased ALP levels and decreased BUTY levels compared with control chicks (Table II, Fig. 4a,b). The changes in parental reproductive demand did not significantly affect triglyceride levels, and there were no significant effects of the interaction between hatching order and treatment on plasma metabolite levels (Table II).

Chicks from parents with increased reproductive demand had significantly higher H/L ratios than the control group, whereas chicks from parents with decreased reproductive demand showed H/L ratios similar to the control groups (Table II, Fig. 4c). There was no significant effect of the interactions between hatching order and treatment on H/L ratio (Table II).

III.4.2. Body condition index and survival rate

BCI at the pre-fledging stage decreased with increased parental reproductive demand (Table II, Fig. 4d). The decrease in parental reproductive demand significantly increased only the percentage of change in BCI (decreased demand = $14.69 \pm 5.83\%$, control = $-20.15 \pm 9.4\%$; Table II). Hatching order and its interaction with treatment were significant only for the percentage change in BCI (Table II). Junior chicks from parents with increased reproductive demand showed a lower percentage of change in BCI than junior chicks from the control group (increased demand = $-15.43 \pm 20.32\%$, control = $46.04 \pm 24.28\%$). For senior chicks, there were no differences between treatments and controls (increased

demand: $F_{1,33} = 0.88$, $P = 0.35$; decreased demand: $F_{1,31} = 0.06$, $P = 0.81$), and all survived to fledging. There were no differences between treatment and control groups for survival estimates of junior chicks (increased demand: three chicks died, $76.9 \pm 12.1\%$ of chicks survived, control: no chicks died, 100% of chicks survived; Wald $\chi^2(1) \leq 0.01$, $P = 0.99$; decreased demand: one chick died, $92.3 \pm 7.6\%$ of chicks survived; control: two chicks died, $66.6 \pm 21.1\%$ of chicks survived, Wald $\chi^2(1) = 1.63$, $P = 0.20$). All deaths occurred during the third week of age, and the mean age of junior chicks at death was 19 ± 1.5 days (on average 12 days after the experiment started). Given the small sample size, it was difficult to find a significant pattern; however, all senior chicks from the four nests in which junior chicks died had below-average initial values of BCI (increased demand = three chicks with low BCI (-0.67 ± 2.09), decreased control = one chick with low BCI (-17.2)), and their value of BCI at 27–35 days of age (halfway) was closer to the mean value of BCI (increased demand BCI = -2.63 ± 1.14 , decreased control BCI = 3.29).

III.5. DISCUSSION

III.5.1. Physiological condition

This cross-fostering experiment in Blue-footed Boobies showed that changes in parental reproductive expenditure were associated with short-term changes in the physiological condition of their offspring, with effects on body condition, plasma metabolites and H/L ratios. When parental reproductive demands were increased by having older offspring with a higher food requirement in the nest, the increase in parental expenditure was insufficient to meet the increased offspring demand, and their offspring suffered smaller growth (indicated by the low concentrations of ALP), higher levels of stress (suggested by higher H/L ratios), and lower BCI at the end of the experiment (only junior chicks) and prior to the flight stage.

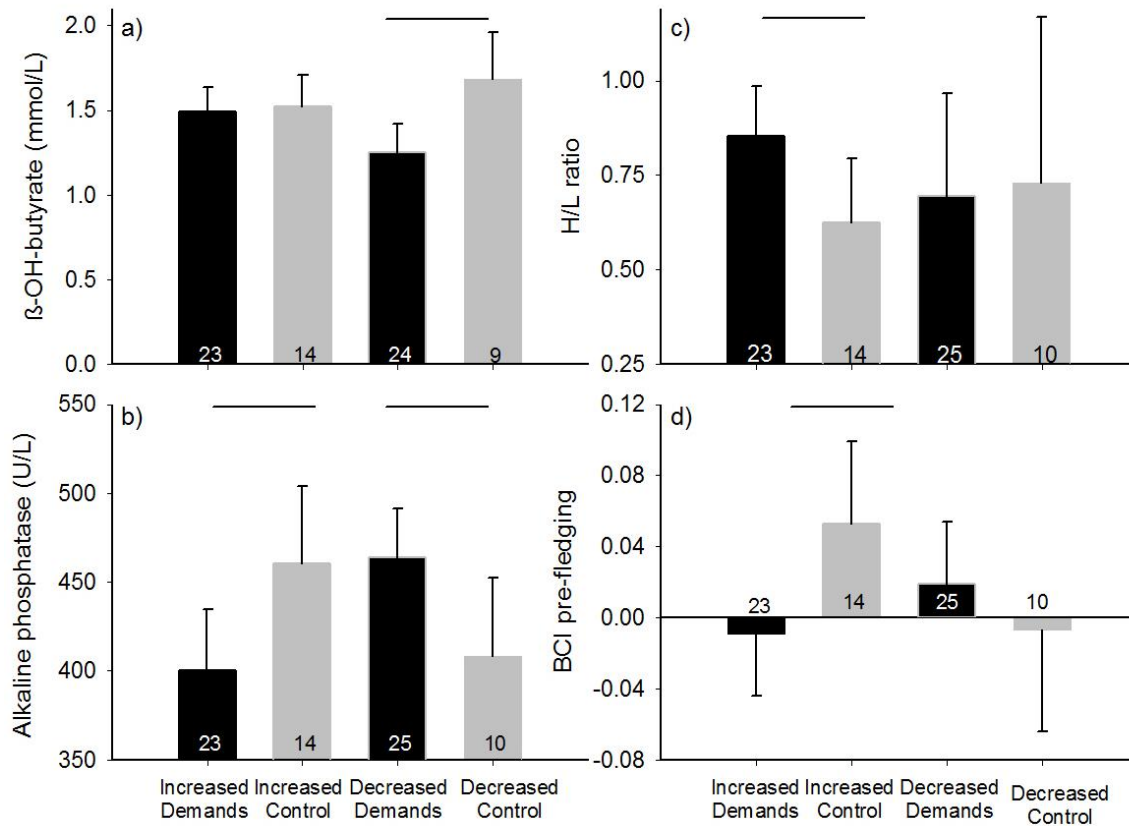


Figure 4. Mean values ($\pm 95\%$ CI) of physiological parameters in Blue-footed Booby offspring c. 35 days after increasing or decreasing parental reproductive expenditure. (a) β -OH-butyrate level, (b) alkaline phosphatase level, (c) heterophil to lymphocyte ratio (H/L ratio) and (d) body condition index at pre-fledging (c.10 weeks old). Upper line: significant difference between treatment and control group. Sample size is indicated within each bar.

Table II. Effects of increasing or decreasing Blue-footed Booby reproductive expenditure (treatment) on the physiological condition (plasma metabolite levels, heterophil to lymphocyte (H/L) ratio and body condition index (BCI)) of their offspring. Influence of hatching order is also shown. Significant effects are highlighted in bold.

	Treatment			Hatching order			Treatment × Hatching order		
	β	F_{df}	P	β	F_{df}	P	β	F_{df}	P
<i>Increased demands vs Control</i>									
In Triglycerides (mmol/L)	-0.08	0.34 _{1,33}	0.56	0.30	2.67 _{1,33}	0.11	-0.04	0.01 _{1,33}	0.9
β OH-butyrate (mmol/L)	0.23	0.08 _{1,32}	0.78	0.53	2.54 _{1,32}	0.12	0.53	3.65 _{1,32}	0.07
Alkaline phosphatase (U/L)	-0.34	4.9 _{1,32}	0.03	-0.20	1.29 _{1,32}	0.26	0.02	0.00 _{1,32}	0.95
H/L ratio	0.38	4.77 _{1,32}	0.04	0.02	0.00 _{1,32}	0.99	0.04	0.01 _{1,32}	0.91
BCI (percentage of change; %)	-0.78	12.31 _{1,33}	< 0.01	-0.65	5.77 _{1,33}	0.02	0.59	4.9 _{1,33}	0.03
BCI at pre-fledging	-0.53	4.84 _{1,33}	0.03	0.01	1.59 _{1,33}	0.22	0.37	1.44 _{1,33}	0.24
<i>Decreased demands vs Control</i>									
In Triglycerides (mmol/L)	0.18	1.02 _{1,31}	0.32	-0.09	0.26 _{1,31}	0.61	-0.01	0.00 _{1,31}	0.98
β OH-butyrate (mmol/L)	-0.55	7.73 _{1,28}	0.01	-0.45	2.27 _{1,28}	0.14	0.24	0.36 _{1,28}	0.55
Alkaline phosphatase (U/L)	0.28	4.73 _{1,30}	0.04	-0.27	0.87 _{1,30}	0.36	0.18	0.25 _{1,30}	0.62
H/L ratio	-0.21	0.02 _{1,30}	0.88	-0.26	0.08 _{1,30}	0.78	0.39	1.34 _{1,30}	0.26
BCI (percentage of change; %)	0.51	9.92 _{1,31}	< 0.01	-0.21	2.31 _{1,31}	0.14	-0.08	0.06 _{1,31}	0.81
BCI at pre-fledging	0.17	0.61 _{1,31}	0.44	-0.04	0.12 _{1,31}	0.74	-0.06	0.02 _{1,31}	0.88

When the offspring demand was reduced, chicks had a lower concentration of BUTY, a higher concentration of ALP and a positive change in BCI over the chick period and prior to the flight stage. The decrease in parental reproductive expenditure also diminished the H/L ratio of their offspring. This suggests that chicks reduced their level of stress (e.g. Moreno *et al.* 2002, Owen *et al.* 2005) or invested more in acquired immunity (e.g. Dehnhard *et al.* 2011b). Previous studies showed that a decrease in chick-rearing costs might reduce the H/L ratio (Saino *et al.* 1997, Owen *et al.* 2005) and improve offspring body condition (Velando & Alonso-Alvarez 2003).

The ALP concentrations in chicks indicated that parents did not adequately adjust their expenditures in response to either increased or decreased offspring demand. The plasma concentrations of ALP are influenced by the nutritional state of the chicks (Viñuela & Ferrer 1997), as was corroborated by their positive relationship with BCI, using chicks that did not belong to experimental nests ($ALP = 381.59 + (445.19 \cdot BCI)$; $R^2 = 0.11$, $P < 0.01$, $F_{1,167} = 21.15$, $n = 169$). The inability of parents to make up for the increased demands of the offspring could influence their stress levels (H/L ratio). A lower growth rate in the offspring can be induced by nutritional stress (Moreno *et al.* 2002), and ALP levels observed in the present study indicated that this could have happened. There was a negative relationship between the H/L ratio and BCI ($BCI = 7.93 - (9.97 \cdot H/L \text{ ratio})$; $R^2 = 0.31$, $P < 0.01$, $F_{1,47} = 21.19$, $n = 50$ chicks of similar ages from non-experimental nests), suggesting that poor feeding conditions can increase the nutritional stress. Individuals with a higher H/L ratio produce lower antibody titres against an antigen (Krams *et al.* 2013), which indicates that chicks can be more vulnerable to disease due to the decreasing immune capacity of individuals resulting from malnutrition, as suggested by the negative relationship between H/L ratio and BCI.

III.5.2. Body condition index and survival rate

Our results for the BCI of offspring were similar to other studies of long-lived seabirds when reproductive expenditure of the parents was modified through experimental manipulation of their flight ability (Velando 2002) and food supplementation (Wernham & Bryant 1998). In general, these studies showed that adults were unable fully to adjust their reproductive efforts to meet the altered demand of parental care, so there was a negative effect on their offspring. In particular for the Blue-footed Booby, when the clutch size was experimentally decreased, the body condition of chicks improved; conversely, when clutch size was increased, the costs were apparent because the body condition of the chicks decreased (Velando & Alonso-Alvarez 2003). The results of our study provide physiological evidence of limitations to the amount of food that parents can provide to their offspring when parental demands are increased. Furthermore, when the brood requirements were increased, junior chicks had a poorer BCI than those of the same age in the control group. Senior chicks tended to be aggressive towards their siblings, and this behaviour is influenced by the amount of food provided by parents and mediated by the nutritional condition and hunger level of chicks (Drummond *et al.* 1986). An increase in the reproductive demand and the partial, or lack of, compensation by parents may cause a junior chick to be more vulnerable to aggression from its sibling and to have less access to food provided by parents. This could lead to a body condition poorer than that observed in chicks of the same age in the control group.

The body condition of offspring at the fledging stage is an important component of future survival (Middleton *et al.* 2007). When the reproductive demand on the parents was increased, we observed a lower BCI in offspring at the pre-fledging stage, whereas when the reproductive demand was reduced, offspring showed a higher BCI. Hence, both the handicap and the benefit generated by the experiment was maintained throughout the chick-rearing period. Although we found differences in BCI at the pre-fledging stage between treatments, survival was not affected by the treatment. Deaths seem more related to status within the brood (all

dead chicks were junior chicks) and their own and sibling's body condition before the beginning of the experiment than to the treatment. The body condition and growth rate of the offspring during the pre-fledging period can have a significant effect on post-flight survival (Naef-Daenzer *et al.* 2001, Maness & Anderson 2013). Moreover, in some seabird species, there is a positive relationship between body mass at the flying stage and subsequent survival (Sagar & Horning 1998), although for species that provide parental care after nest-leaving (in Blue-footed Booby 4–6 weeks of post-fledging care; Nelson 2005, Castillo-Guerrero & Mellink 2006), body mass may have little relevance to survival after independence (Stienen & Brenninkmeijer 2002, Maness & Anderson 2013). This may be the reason we did not see a negative effect of body condition on survival. Moreover, oceanographic conditions during this season were rather cold (negative equatorial sea surface temperature (SST) anomalies), and breeding success was relatively high (1.26 fledglings per nest), so Boobies experienced good breeding conditions and low chick mortality in this season.

Nevertheless, the growth rate of Blue-footed Booby chicks was compromised in the increased demand treatment (as indicated by the low ALP levels), so it is likely that their post-fledging survival prospects were compromised as well. Furthermore, this negative effect could be more evident within the brood of Blue-footed Booby, with an increase in the reproductive expenditures affecting the survival of junior chicks. Another possible explanation is that once chicks survive the critical fledging stage, the effects of subsequent chick-rearing costs would not have long-term consequences, as was previously noted for the offspring of Blue-footed Boobies (Ancona & Drummond 2013, Carmona-Isunza *et al.* 2013, Drummond & Rodríguez 2013).

Parents modified their foraging expenditure in response to variation in the food demand of the brood, making more foraging trips and decreasing their time at the nest when parental reproductive demand was increased (González-Medina *et al.* 2015). These foraging adjustments, however, may have partially compensated for the reproductive expenditure because offspring from broods in which

reproductive expenditure was experimentally increased showed some physiological costs (lower BCI and ALP levels and higher H/L ratios than controls). On the other hand, we found no support for our prediction that junior chicks would be more susceptible to the experiment than senior chicks, particularly in the increased demand treatment. In fact, there were no differential effects of treatment on hatching order (treatment \times hatching order) in most of our analyses. Sibling tolerance depends on hunger levels of senior chicks; under food-deprived conditions, senior chicks monopolize food, excluding juniors by direct aggression (Drummond & García Chavelas 1989). Thus it appears that the adjustment made by parents was sufficient to maintain reproductive value, so the senior chicks did not trigger the removal mechanism for junior chicks (González-Medina *et al.* 2015).

III.6. CONCLUSIONS

Overall, our results suggest that when offspring demand increased, there are short-term physiological consequences for Blue-footed Booby chicks. When offspring demand decreased, parents did not adjust their parental care to reduce reproductive expenditures, and their chicks benefited. Although parents did not make full compensation, parental involvement was an important mediator for the effect of hatching order, suppressing the aggressive tendency of the senior chick, despite senior chicks also suffering the consequences of the treatments. The changes experimentally imposed in our study were sudden, but a shortage of food, as in El Niño Southern Oscillation (ENSO) years, might have short-term costs, as seen in other studies, and probably long-term costs (but more studies are necessary), even though the changes during the ENSO years are gradual. Therefore, the costs of poor chick-rearing conditions in Boobies are perhaps more relevant in the short term than in the long term because once the offspring have survived their first year, the conditions are equalized among individuals subjected to different natal stress (Carmona-Isunza *et al.* 2013, Drummond & Rodríguez 2013). This study provides evidence that breeding decisions in food provisioning and the selective pressures involved in the regulation of reproductive effort in Blue-footed Boobies have short-term physiological consequences on offspring.

III.7. ACKNOWLEDGMENTS

We thank M. Guevara, A. Mendoza, M. Leal, M. Arvizú, S. Rendón, M. Lerma, J.P. Ceyca, A. Leal, D. Brito, C. Franco and N. Albano for their help during fieldwork; I. Piedad for laboratory support; and P. Castro for transportation to the islands and for keeping us aware of the weather forecast while we were there. We thank Ruedi Nager, Ross Wanless, Terri J. Maness, Ann Grant and an anonymous referee, who provided thoughtful recommendations that improved the manuscript. Funding for this work was provided by Fondo Mexicano para la Conservación de la Naturaleza A.C. (PIE-2012-A-P-C-IGSI-12-12), CONACYT (No. I010/176/2012), Sonoran Joint Venture, Pronatura México A.C. E. González-Medina is supported by a PhD student scholarship provided by CONACYT (Programa de Doctorado en Ciencias del Mar y Limnología, UNAM #201218) and F. Santiago-Quesada was supported by a grant from the Gobierno de Extremadura and FSE funds (RE12002). Data collection complied with the current laws of the country and was carried out under permits from the Dirección General de Vida Silvestre (SGPA/DGVS/08559/11). This paper constitutes a partial fulfilment of the Graduate Program in Marine Sciences and Limnology, UNAM.

III.8. REFERENCES

- Albano N, Masero JA, Villegas A, Abad-Gómez JM, Sánchez-Guzmán JM (2011). Plasma metabolite levels predict bird growth rates: A field test of model predictive ability. *Comp. Biochem. Physiol. A*. 160:9–15.
- Ancona S, Drummond H (2013). Life history plasticity of a tropical seabird in response to El Niño anomalies during early life. *Plos One* 8: e72665.
- Bolker BM, Brooks ME, Clark CJ, Geange SW, Poulsen JR, Stevens HH, White JSS (2009) Generalized linear mixed models: a practical guide for ecology and evolution. *Trends Ecol. Evol.* 24:127–135.
- Brown ME (1996). Assessing body condition in birds. In Nolan V. & Ketterson, E.D. (eds) *Curr. Ornithol.* 67–135. Plenum Press.
- Carmona-Isunza MC, Núñez-de la Mora A, Drummond H (2013). Chronic stress in infancy fails to affect body size and immune response of adult female blue-footed boobies or their offspring. *J. Avian Biol.* 44:390–398.
- Castillo-Guerrero JA, Mellink E (2006). Maximum diving depth in fledging Blue-footed Boobies: skill development and transition to independence. *Wilson J. Ornithol.* 118:527–531.

- Castillo-Guerrero JA, González-Medina E, Mellink E (2014). Adoption and infanticide in an altricial colonial seabird, the blue-footed booby: the roles of nest density, breeding success, and sex-biased behavior. *J. Ornithol.* 155:135–144.
- Clark P, Boardman W, Raidal S (2009). Atlas of Clinical Avian Hematology. Wiley-Blackwell.
- Daan S, Deerenberg C, Dijkstra C (1996). Increased daily work precipitates natural death in the Kestrel. *J. Anim. Ecol.* 65:539–544.
- Davis AK (2005). Effects of handling time and repeated sampling on avian white blood cell counts. *J. Field Ornithol.* 76:334–338.
- Davis AK, Maney DL, Maerz JC (2008). The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists. *Funct. Ecol.* 22:760–772.
- Dehnhard N, Poisbleau M, Demongin L, Chastel O, van Noordwijk HJ, Quillfeldt P (2011a). Leucocyte profiles and corticosterone in chicks of Southern Rockhopper penguins. *J. Comp. Physiol. B Biochem. Syst. Environ. Physiol.* 181:83–90.
- Dehnhard N, Quillfeldt P, Hennicke JC (2011b). Leucocyte profiles and H/L ratios in chicks of Red-tailed Tropicbirds reflect the ontogeny of the immune system. *J. Comp. Physiol. B Biochem. Syst. Environ. Physiol.* 181:641–648.
- Drummond H, García Chavelas C (1989). Food shortage influences sibling aggression in the blue-footed booby. *Anim. Behav.* 37:806–819.
- Drummond H, González E, Osorno JL (1986). Parent-offspring cooperation in the blue-footed booby (*Sula nebouxii*): social roles in infanticidal brood reduction. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 19:365–372.
- Drummond H, Osorno JL, Torres R, García Chavelas C, Merchant Larios H (1991). Sexual size dimorphism and sibling competition: implications for avian sex ratios. *Am. Nat.* 138:623–641.
- Drummond H, Rodríguez C (2013). Costs of growing up as a subordinate sibling are passed to the next generation in blue-footed boobies. *J. Evolution Biol.* 26:625–634.
- Engilis A, Oring LW, Carrera E, Nelson JW, Martinez-Lopez A (1998). Shorebird surveys in Ensenada Pabellones and Bahia Santa Maria, Sinaloa, Mexico: critical winter habitats for Pacific Flyway shorebirds. *Wilson Bull.* 110:332–341.
- González-Medina E, Castillo-Guerrero JA, Santiago-Quesada F, Villegas A, Masero JA, Sánchez-Guzmán JM, Fernández G (2015). Regulation of breeding expenditure in the Blue-footed Booby (*Sula nebouxii*): an experimental approach. *Anim. Behav.* 18:9–16.
- Gruebler MU, Naef-Daenzer B (2010). Survival benefits of post-fledging care: experimental approach to a critical part of avian reproductive strategies. *J. Anim. Ecol.* 79:334–341.
- Guerra MC, Drummond H (1995). Reversed sexual size dimorphism and parental care: minimal division of labour in the blue-footed booby. *Behaviour* 132:479–496.
- Hamer KC, Schreiber EA, Burger J (2001). Breeding biology, life histories, and life history-environment interactions in seabirds. In Schreiber EA, Burger J (eds) *Biology of marine birds*. 217–261. CRC Marine Biology Series.

- Hanssen SA, Hasselquist D, Folstad I, Erikstad KE (2005). Cost of reproduction in a long-lived bird: incubation effort reduces immune function and future reproduction. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 272:1039–1046.
- Harding AMA, Kitaysky AS, Hall ME, Welcker J, Karnovsky NJ, Talbot SL, Hamer KC, Gremillet D (2009). Limited flexibility in the parental effort of an Arctic-breeding seabird. *Funct. Ecol.* 23:348–358.
- Houwen B (2001). The differential cell count. *Laboratory Hematology* 89–100.
- IBM Corp. Released (2012). IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0. Armonk, NY: IBM Corp.
- Jenni-Eiermann S, Jenni L (1994) Plasma metabolite levels predict individual body mass changes in a small long distance migrant, the Garden Warbler. *Auk* 111:888–899.
- Krams I, Vrublebska J, Cirule D, Kivleniece I, Krama T, Rantala MJ, Kaasik A, Hõrak P, Sepp T (2013). Stress, Behaviour and Immunity in Wild-Caught Wintering Great Tits (*Parus major*). *Ethology* 119:397–406.
- Lobato E, Moreno J, Merino S, Sanz JJ, Arriero E (2005). Haematological variables are good predictors of recruitment in nestling pied flycatchers (*Ficedula hypoleuca*). *Ecoscience* 12:27–34.
- Maigret JL, Murphy MT (1997). Costs and benefits of parental care in Eastern Kingbirds. *Behav. Ecol.* 8:250–259.
- Maness TJ, Anderson DJ (2013). Predictors of Juvenile Survival in Birds. *Ornithol. Monogr.* 2013 78:1–55.
- Mauck RA, Grubb TC (1995). Petrel parents shunt all experimentally increased reproductive costs to their offspring. *Anim. Behav.* 49:999–1008.
- Middleton HA, Green DJ, Krebs EA (2007). Fledgling begging and parental responsiveness in American dippers (*Cinclus mexicanus*). *Behaviour* 144:485–501.
- Moreno J, Merino S, Martinez J, Sanz JJ, Arriero E (2002). Heterophil/lymphocyte ratios and heat-shock protein levels are related to growth in nestling birds. *Ecoscience* 9:434–439.
- Naef-Daenzer B, Widmer F, Nuber M (2001). Differential post-fledging survival of Great and Coal Tits in relation to their condition and fledging date. *J. Anim. Ecol.* 70:730–738.
- Nager RG (2006). The challenges of making eggs. *Ardea* 94:323–346.
- Navarro J, González-Solís J (2007). Experimental increase of flying costs in a pelagic seabird: effects on foraging strategies, nutritional state and chick condition. *Behav. Ecol.* 151:150–160.
- Nelson B (2005). Pelicans, Cormorants, and Their Relatives: Pelecanidae, Sulidae, Phalacrocoracidae, Anhingidae, Fregatidae, Phaethontidae. Oxford University Press.
- Owen JC, Sogge MK, Kern MD (2005). Habitat and sex differences in physiological condition of breeding southwestern willow flycatchers (*Empidonax traillii extimus*). *Auk* 122:1261–1270.
- Paredes R, Jones IJ, Boness DJ (2005). Reduced parental care, compensatory behaviour and reproductive costs of Thick-billed murres equipped with data loggers. *Anim. Behav.* 69:197–208.

- Peña B (2009). Variación de la fecha de puesta del bobo de patas azules. BSc thesis, Universidad Nacional Autónoma de México, Distrito Federal, México.
- Piersma T, Lindström A, Drent RH, Tulp I, Jukema J, Morrison RIG, Reneerkens J, Schekkerman H, Visser GH (2003). High daily energy expenditure of incubating shorebirds on high Arctic tundra: a circumpolar study. *Funct. Ecol.* 17:356–362.
- Quillfeldt P, Ruiz G, Rivera MA, Masello JF (2008). Variability in leucocyte profiles in thin-billed prions *Pachyptila belcheri*. *Comp. Biochem. Physiol. A* 150:26–31.
- Ricklefs RE, Wikelski M (2002). The physiology-life history nexus. *Trends Ecol. Evol.* 17:462–468.
- Rising JD, Somers KM (1989). The measurement of overall body size in birds. *Auk* 106:666–674.
- Sæther BE, Andersen R, Pedersen HC (1993). Regulation of parental effort in a long-lived seabird: an experimental manipulation of the cost of reproduction in the Antarctic petrel, *Thalassoica antarctica*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 33:147–150.
- Sagar PM, Horning DS (1998). Mass-related survival of fledgling Sooty Shearwaters *Puffinus griseus* at the Snares, New Zealand. *Ibis* 140: 29–339.
- Saino N, Calza S, Møller AP (1997). Immunocompetence of nestling barn swallows in relation to brood size and parental effort. *J. Anim. Ecol.* 66:827–836.
- Stearns SC (1992). The evolution of life-histories. Oxford University Press.
- Stienen EWM, Brenninkmeijer A (2002). Variation in growth in Sandwich Tern chicks *Sterna sandvicensis* and the consequences for pre- and post-fledging mortality. *Ibis* 144:567–576.
- Tarwater CE, Brawn JD (2010). The post-fledging period in a tropical bird: patterns of parental care and survival. *J. Avian Biol.* 41:479–487.
- Tilgar V, Ots I, Mänd R (2004). Bone alkaline phosphatase as a sensitive indicator of skeletal development in birds: a study of great tit nestlings. *Physiol. Biochem. Zool.* 77:530–535.
- Torres R, Drummond H (1997). Female-biased mortality in nestlings of a bird with size dimorphism. *J. Anim. Ecol.* 66:859–865.
- Torres R, Drummond H (1999). Does large size make daughters of blue-footed booby more expensive than sons? *J. Anim. Ecol.* 68:1133–1141.
- Velando A (2002). Experimental manipulation of maternal effort produces differential effects in sons and daughters: implications for adaptive sex ratios in the blue-footed booby. *Behav. Ecol.* 13:443–449.
- Velando A, Alonso-Alvarez C (2003). Differential body condition regulation by males and females in response to experimental manipulations of brood size and parental effort in the blue-footed booby. *J. Anim. Ecol.* 72:846–856.
- Villegas A, Masero JA, Corbacho C, Gutiérrez JS, Albano N, Sánchez-Guzmán JM (2013). Sex-specific vulnerability to breeding conditions in chicks of the sexually monomorphic Gull-billed Tern. *J. Ornithol.* 154:431–439.
- Villegas A, Sánchez JM, Costillo E, Corbacho C (2002). Blood chemistry and haematocrit of the black vulture (*Aegypius monachus*). *Comp. Biochem. Physiol. A* 132:489–497.

- Viñuela J, Ferrer M (1997). Regulation of growth in Red Kites and Imperial Eagles. *Wilson Bull.* 109:92–101.
- Vleck CM, Vertalino N, Vleck D, Bucher IT (2000). Stress, corticosterone, and heterophil to lymphocyte ratios in free-living Adélie penguins. *Condor* 102:392–400.
- Wernham CV, Bryant DM (1998). An experimental study of reduced parental effort and future reproductive success in the puffin, *Fratercula arctica*. *J. Anim. Ecol.* 67:25–40.

Flexibility of food resource allocation in parents and selectivity for offspring: variations in N y C isotope ratios during breeding of the Blue-footed Booby



Erick González-Medina, José Alfredo Castillo-Guerrero, Sharon Z. Herzka, Guillermo Fernández.

IV.1. RESUMEN

Las aves marinas deben optimizar su esfuerzo reproductivo mediante ajustes en el comportamiento de forrajeo para satisfacer las demandas de alimento propias y las de sus crías, así como también para adecuarse a fluctuaciones estacionales en la disponibilidad de alimentos. Los padres requieren maximizar la energía suministrada por unidad de tiempo para las crías (teoría de forrajeo óptimo), por lo que se predice que sean selectivos con las presas que les entregan. Nosotros determinamos la influencia de la optimización del forrajeo en la asignación de alimento para sus crías en el bobo de patas azules (*Sula nebouxii*) midiendo valores isotópicos en sangre de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en padres y crías durante dos temporadas reproductivas. Los valores isotópicos de los adultos cambiaron entre etapas reproductivas (incubación-crianza). A medida que avanzó la temporada reproductiva los adultos presentaron valores más enriquecidos en ^{15}N y menos enriquecidos en ^{13}C . Las hembras presentaron valores de $\delta^{15}\text{N}$ igual o menores que los machos pero con inconsistencias entre temporadas, durante el 2011 los machos presentaron valores más pesados de $\delta^{15}\text{N}$ que las hembras durante todas las etapas, mientras que en 2012 la diferencia entre sexos se observó sólo durante el periodo de incubación. Los valores isotópicos de las crías fueron diferentes a los de los adultos (más enriquecidos en ^{15}N y menos enriquecidos en ^{13}C) y estables a lo largo del periodo de crianza. Usando la composición isotópica de los bobos y el de presas principales en su hábitat para reconstruir la dieta de padres y crías utilizando modelos bayesianos de mezcla (Stable Isotope Analysis in R ó SIAR por sus siglas en inglés), la composición de la dieta de los padres fue diferente entre las etapas reproductivas. La anchoveta (*Cetengraulis mysticetus*) disminuyó en proporción de incubación a crianza, mientras que el pajarito plateado (*Hyporhamphus unifasciatus*) se incrementó en este lapso. La dieta de las crías fue de varias especies con un aporte relativamente equitativo entre diferentes presas (entre un 10-15%), mientras que en la de los adultos se centró en anchoveta y pajarito plateado, con un aporte del 50-60% entre ambas presas. Nuestros hallazgos sobre la selectividad de presas en la alimentación de la crías

evaluado mediante la composición isotópica de adultos y crías en el bobo de patas azules sugieren que los padres fueron selectivos en la asignación de alimento para sus crías. El hecho de que los padres sean selectivos a pesar de la variabilidad ambiental les confiere múltiples beneficios tanto a sus crías (mejor crecimiento y una mayor supervivencia) como a los padres (disminuyendo el número de viajes de forrajeo y aumentando el éxito reproductivo), lo cual es consistente con la estrategia del forrajeo óptimo.

Palabras clave: Cuidado parental, Bobo de patas azules, *Sula nebouxii*, asignación de alimento, SIAR

IV.2. INTRODUCCIÓN

Durante la época reproductiva es común que las aves adultas exhiban variaciones en la cantidad y el tipo de alimento que consumen (Williams *et al.* 2008, Rector *et al.* 2012). Estas pueden estar relacionadas con fluctuaciones estacionales en la disponibilidad de recursos (Deguchi *et al.* 2010) o con cambios en gastos energéticos y demandas nutricionales entre las etapas de la reproducción (Shaffer *et al.* 2003). En particular, el periodo de crianza es demandante debido a que los padres deben obtener alimento tanto para satisfacer las necesidades energéticas propias como las de sus crías. Esto puede involucrar ajustes en el comportamiento de forrajeo y en la provisión selectiva de alimento de mayor calidad nutricional (Williams *et al.* 2008, Hedd *et al.* 2010). En ese sentido, la teoría de forrajeo óptimo (McArthur y Pianka 1966, Stephens y Krebs 1986, Ydenberg *et al.* 1994) predice que los animales forrajean de manera tal que maximizan la ganancia neta de energía. Bajo esta premisa, se puede predecir cómo los padres, durante la crianza, deben distribuir los recursos alimenticios entre ellos mismos y sus crías. Por ello, se predice que los padres optimizan su éxito y su inversión en las crías mediante el aprovisionamiento diferenciado de presas entre lo que consumen ellos y lo que entregan a sus crías, ya que las necesidades energéticas de las crías durante el crecimiento son mayores que la de los adultos (Moreno y Sanz 1996). Para las aves marinas, el poseer una estrategia de forrajeo de optimización es una ventaja adaptativa que les permite vivir en un ambiente que se caracteriza por fluctuaciones en la disponibilidad de recursos, ya que les permite maximizar el fitness, incrementar el éxito reproductivo y la supervivencia de sus crías (Shealer 2002). La asignación de alimento a las crías por parte de los padres puede ser resultado de las características de historia de vida de cada especie (Navarro y González-Solís 2009) y las condiciones ambientales durante la reproducción (Deguchi *et al.* 2010).

Estudios recientes en aves marinas han usado análisis de isótopos estables para inferir diferencias en la distribución de recursos alimenticios entre adultos y

crías que reflejen una selectividad de los padres durante el suministro de presas a los pollos. Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ muestran un enriquecimiento creciente en zonas costeras, en comparación con zonas pelágicas (Cherel y Hobson 2007) y de aguas someras a profundas (Hobson *et al.* 1994), mientras que los valores de $\delta^{15}\text{N}$ se enriquecen de manera predecible con el incremento en el nivel trófico del consumidor (Bearhop *et al.* 2004). Los niveles tróficos superiores pueden estar asociados con un alto contenido de lípidos (p. ej. según lo reportado por Romano *et al.* 2006 en aves marinas con dietas restringidas), por lo que el forrajeo sobre de niveles tróficos superiores puede incrementar el rendimiento reproductivo debido a una mayor disponibilidad de energía metabólica (Albano *et al.* 2011).

En algunas especies de aves marinas, se ha demostrado mediante el uso de isotopos estables que las crías son alimentadas con presas de mayor nivel trófico que las que consumen los padres (Hobson 1993: *Rissa tridactyla*, *Uria lomvia*; Hodum y Hobson 2000: *Fulmarus glacialisoides*, *Thalassoica Antarctica*, *Daption capense*, *Pagodroma nivea*; Cherel *et al.* 2008: *Onychoprion fuscatus*; Davies *et al.* 2009: *Ptychoramphus aleuticu*; Bond *et al.* 2010: *Puffinus pacificus*), mientras que otros indican que las presas que se le suministran a las crías son de menor nivel trófico (Harding *et al.* 2008: *Alle alle*; Davies *et al.* 2009: *Uria aalge*, *Cerorhinca monocerata*; Bond *et al.* 2010: *Bulweria bulwerii*, *Oceanodroma tristrami*; Raya Rey *et al.* 2012: *Macronectes giganteus*). Incluso, para algunas especies diversos estudios presentan resultados contradictorios. Así, en un estudio las crías de *Macronectes giganteus* fueron alimentadas con presas de nivel trófico mayor que los padres (Forero *et al.* 2005), mientras que en otro, fueron alimentadas con presas de nivel trófico menor (Raya Rey *et al.* 2012). También hay casos donde las crías son alimentadas con presas de mayor nivel trófico que los padres en un año (*Pygoscelis adeliae*, Cherel *et al.* 2008; *Oceanodroma leucorhoa*, Hedd *et al.* 2006), pero, en otros estudios, con presas del mismo nivel trófico que los padres (Thierry *et al.* 2013 y Cherel *et al.* 2005, respectivamente). Estos resultados contradictorios sugieren que los padres pueden modificar la estrategia de alimentación para sus crías en función de la disponibilidad de presas y/o condiciones ambientales.

El bobo de patas azules (*Sula nebouxii*) tiene un periodo reproductivo particularmente demandante por su duración (más de 6 meses; Nelson 2005). Habita en el Golfo de California (GC), un sistema con productividad elevada (Álvarez-Borrogo 1983; Santamaría del Ángel *et al.* 1994) y variaciones estacionales en las condiciones oceanográficas y ecológicas consecuencia de procesos de regionales y estacionales de surgencias (Lluch-Cota *et al.* 2007). Específicamente, los peces pelágicos, que son una fuente de alimento importante para los bobos (Anderson 1989, Zavalaga *et al.* 2008, Castillo-Guerrero y Mellink 2011) exhiben fluctuaciones en su distribución y abundancia en diversas escalas espaciales y temporales (Nevárez-Martínez *et al.* 2001, Jerónimo-Balcazar 2011), influyendo sobre su disponibilidad para las aves marinas durante la reproducción (Brooke 2004).

El bobo de patas azules es un ave marina colonial de vida larga (Nelson 2005). La especie demuestra una reducción de nidada facultativa cuando el alimento escasea, lo cual con frecuencia resulta en la muerte de la cría de menor edad durante las primeras dos semanas de crianza (Nelson 1978; Drummond *et al.* 1986). Los machos y las hembras se alimentan de peces pelágicos menores (Anderson 1989, Zavalaga *et al.* 2008, Castillo-Guerrero y Mellink 2011), los cuales capturan mediante buceos (Nelson 2005) a una distancia de hasta de 30-50 km de la colonia (Anderson y Ricklefs 1992, Zavalaga *et al.* 2007, Weimerskirch *et al.* 2009). Las hembras son más pesadas (30-32%) y más grandes (5-10%) que los machos (Torres y Drummond 1999). En consecuencia las hembras tienen la capacidad de bucear más profundo (Zavalaga *et al.* 2007, Castillo-Guerrero y Mellink 2011) y realizar viajes de forrajeo más prolongados y alejados de la colonia que los machos (Weimerskirch *et al.* 2009, González-Medina datos sin publicar). Las hembras consumen peces de mayor tamaño que los machos (Zavalaga *et al.* 2007, Castillo-Guerrero y Mellink 2011). Ambos sexos tienen una tasa de aprovisionamiento similar al inicio de la crianza, pero después de dos semanas las hembras pueden aportar hasta el doble de alimento a las crías que los machos (Guerra y Drummond 1995). Castillo-Guerrero y Mellink (2011) establecieron por medio de análisis de contenido estomacal que cuando la disponibilidad de

alimento es baja o la demanda de los pollos por alimento es alta, el nicho de forrajeo de hembras y machos puede divergir, lo que sugeriría un mayor aporte de alimento para las crías. De acuerdo con esta información, podríamos esperar diferencias entre sexos en la composición isotópica de los tejidos blandos tanto de los adultos como el de las crías derivadas de diferencias en los patrones de forrajeo y alimentación a las crías. El bobo de patas azules es un buen modelo de estudio para evaluar la teoría de forrajeo óptimo al ser un ave de vida larga que maximiza la reproducción y supervivencia de acuerdo a las condiciones ambientales en el momento de la reproducción.

Nosotros evaluamos las composiciones isotópicas ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$) de presas potenciales y la sangre de hembras, machos y crías del bobo de patas azules para evaluar si había evidencia de variaciones en las fuentes de alimento de los padres y las presas suministradas a las crías durante dos temporadas reproductivas. Específicamente, utilizamos análisis de isótopos estables para evaluar (1) las variaciones en la composición isotópica de los padres durante tres etapas de la reproducción (incubación, crianza de pollos temprana y tardía); (2) si existían diferencias entre la composición isotópica de los padres y las de sus crías durante dos periodos de la crianza (temprana y tardía); y (3) estimar la composición de la dieta de los padres y las crías durante la época reproductiva con base en análisis isotópico de las presas, la sangre de los bobos y la aplicación de modelos de mezcla isotópica. Considerando las características del bobo de patas azules, se esperaban (1) valores enriquecidos en ^{15}N en los adultos conforme avance la reproducción y se alimenten sobre presas de mayor nivel trófico, y cambios en las proporciones de consumo de diferentes tipos de presas durante las etapas de incubación y crianza (temprana y tardía); (2) que las hembras presentaran una composición isotópica más enriquecida en ^{15}N y menos enriquecidos en ^{13}C que los machos dado que consumen presas (peces) de mayor tamaño y que se alimentan en zonas más alejadas de la costa; (3) que los padres seleccionaran presas de mayor contenido energético y/o tamaño para alimentar a las crías, y que en consecuencia los valores de $\delta^{15}\text{N}$ serán más pesados en las crías que en los adultos.

IV.3. MÉTODOS

IV.3.1. Área de estudio

Este trabajo se realizó en la Isla El Rancho (25°10'N, 108°23'W), la cual se ubica a menos de 1 km de distancia de la boca noroeste en la Bahía de Santa María-La Reforma, el humedal costero más grande del estado de Sinaloa (Engilis *et al.* 1998) en la parte continental de la región central del Golfo de California, México (Fig. 5). La bahía es altamente productiva y es un área potencial de alimentación para los bobos de patas azules. Alrededor de 3,000 parejas de bobos de patas azules anidan en un área de 1.6 hectáreas, con una densidad promedio de 0.26 ± 0.12 nidos/m² ($n = 245$; González-Medina datos sin publicar).

IV.3.2. Trabajo de campo

Realizamos visitas a la isla cada dos semanas entre Diciembre y Mayo (18 visitas en total, cinco días de duración en cada visita) durante dos temporadas reproductivas (2011 y 2012). Seleccionamos al azar una serie de nidos para monitorear a lo largo de cada temporada reproductiva. Tanto adultos como crías fueron marcados individualmente con bandas de colores con códigos únicos alfanuméricos. Cuando se desconocía la edad de las crías, se estimó mediante una comparación del plumaje y mediciones corporales externas (culmen, ulna, tarso y masa corporal) con crías de edad conocida (la diferencia entre crías de edad conocida y la edad estimada mediante medidas externas fue de 0.25 ± 0.1 d, $n = 94$). Los adultos y crías fueron capturados en sus nidos, y les tomamos una muestra de sangre de la vena braquial (aproximadamente 0.5 ml), que fue transferida a un tubo de polipropileno sin anticoagulante. Todas las muestras se mantuvieron en hielo mientras permanecimos en el campo, y se congelaron inmediatamente en el laboratorio hasta prepararlas para el análisis de isotopos estables. Los adultos fueron muestreados durante la incubación, y crías y adultos fueron muestreados durante dos períodos de crianza: 1) período de crianza temprana (pollos de una edad aproximada de 33.8 ± 0.6 días de edad) y 2)

período de crianza tardía (pollos de una edad aproximada de 78.3 ± 0.8 días de edad). La composición isotópica de la sangre entera se ha demostrado que representa la dieta asimilada durante un período de 3-4 semanas en diferentes especies de aves marinas (Hobson y Clark 1992, Hobson *et al.* 2003, Bearhop *et al.* 2002). Por lo tanto, las muestras de sangre obtenidas de los adultos en este estudio representan tres períodos diferentes: incubación, crianza temprana y crianza tardía.

Se colectaron muestras de las especies de presas más comunes en el bobo de patas azules para realizar un análisis isotópico. Seleccionamos solo presas que estuvieran completas o que hubiesen sufrido una cantidad mínima de digestión de los regurgitados obtenidos en la colonia mientras manipulábamos las aves para la toma de sangre o mientras caminábamos en la colonia durante ambas temporadas reproductivas. Se colectaron al menos seis individuos por especie de presa. Las muestras se mantuvieron en hielo en el campo y se congelaron en el laboratorio hasta su análisis. Las especies de presas fueron identificadas en el campo y en el laboratorio mediante el uso de guías taxonómicas. Una pequeña porción de musculo de la parte dorsal de cada presa se disecciono para realizar los análisis de isotopos estables ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$).

IV.3.3. Sexado de las aves

En esta especie el reconocimiento del sexo en adultos es inequívoca, las hembras emiten un sonido distinto, sus pupilas oculares son más grandes y estrelladas, y su tamaño corporal es más grande que la de los machos, que tienen pupilas oculares mucho más pequeñas y un silbido agudo (Nelson 2005). Las crías fueron sexadas utilizando datos de medidas morfométricas. Se utilizó un método previamente validado basado en la longitud de la ulna a una edad promedio de 78.6 ± 0.5 días de edad, cuando esta estructura alcanza una distribución de tamaño bimodal asintótica y no se solapan (Drummond *et al.* 1991, Torres y Drummond 1997).

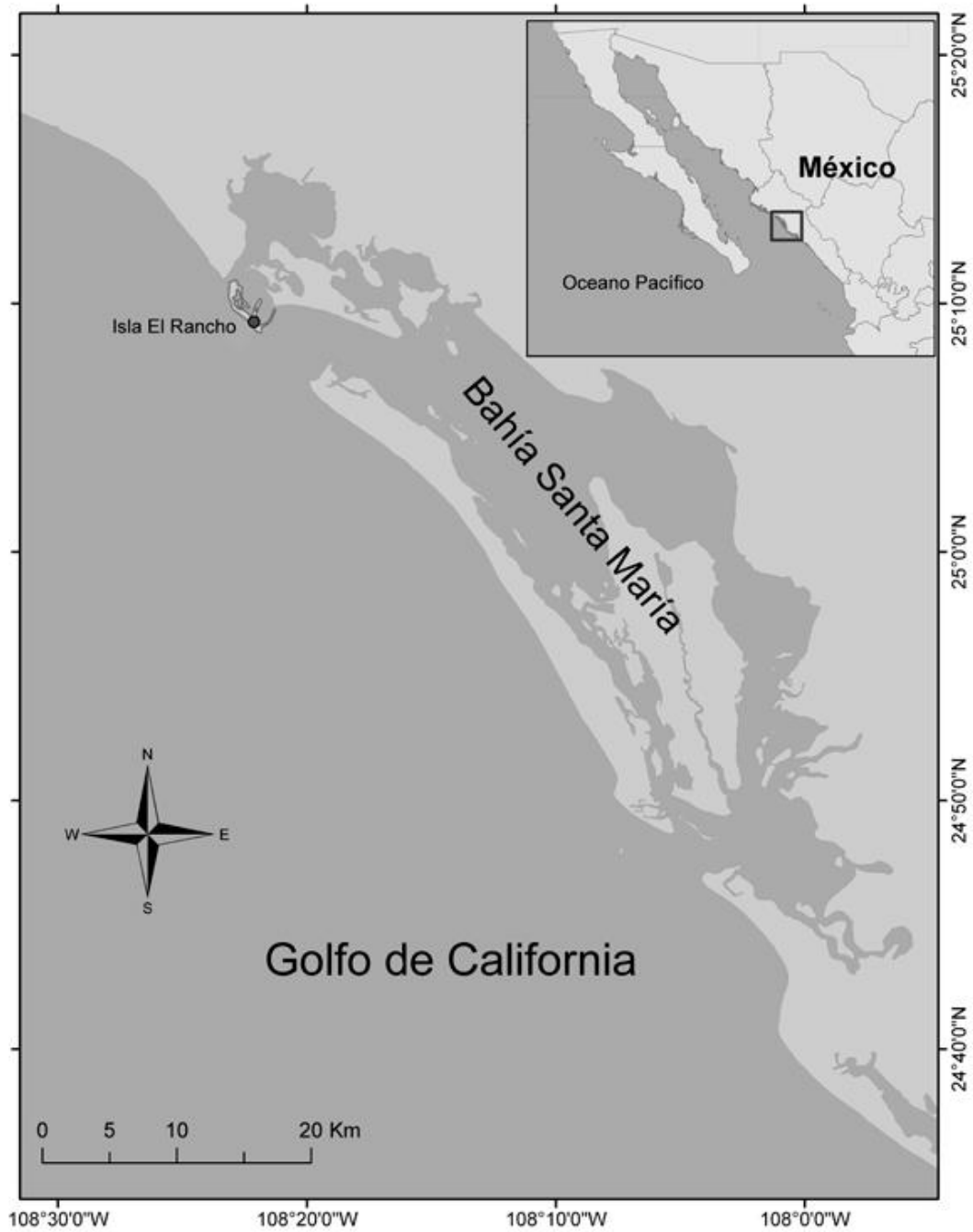


Figura 5. Mapa de Bahía Santa María-La Reforma y la Isla El Rancho en la parte continental media del Golfo de California, México.

IV.3.4. Preparación de las muestras y análisis de isotopos estables

Antes de realizar el análisis de isotopos estables, la sangre de las aves y el tejido de músculo de las presas fueron colocadas y secadas en un horno a 60 °C durante aproximadamente 24 h, posteriormente se procedió a macerar cada muestra en un mortero de ágata, hasta obtener un polvo fino y homogéneo. El tejido pulverizado se pesó (0.7–1.0 mg) y encapsulo. Las muestras se enviaron al Laboratorio de Isótopos Estables (SIF, por sus siglas en ingles) en la Universidad de Davis en California (EE.UU.) para su análisis en el espectrómetro de masas, con el fin de cuantificar los isótopos estables de Carbono ($\delta^{13}\text{C}$) y Nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$). Las proporciones de isótopos son reportados usando la notación estándar: $\delta_{muestra} = ((R_{muestra} - R_{estandar}) / R_{estandar}) * 1000$ donde $\delta_{muestra}$ es la relación isotópica de la muestra y R es la proporción entre los isotopos ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ o $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) con respecto a V-PDB o nitrógeno atmosférico, respectivamente. De manera interna, los estándares del laboratorio certificado se intercalan de forma rutinaria con muestras objetivo durante ejecuciones de análisis. Las desviaciones estándar a largo plazo de los estándares internos utilizados en el SIF son 0.2% y 0.3% para carbono y nitrógeno, respectivamente.

Los lípidos no fueron extraídos de los tejidos de peces. Los análisis de las muestras de peces mostraron una media \pm ES C:N de 4.6 ± 0.21 (3.1-20.3; $n = 121$). Realizamos una normalización aritmética para corregir el contenido de lípidos (Post *et al.* 2007) dio lugar a una diferencia media de 1.21 ± 0.01 ‰ ($n = 121$) entre los valores de $\delta^{13}\text{C}_{\text{sin normalizar}}$ y $\delta^{13}\text{C}_{\text{normalizado}}$. La sangre generalmente tiene un contenido de lípidos bajo y no requiere la extracción de lípidos o normalización (Cherel *et al.* 2005b). Las diferencias fisiológicas y metabólicas entre adultos y crías pueden influir en el fraccionamiento trófica de los isotopos (Harding *et al.* 2008; Sears *et al.* 2009), y por lo tanto pueden contribuir a diferencias en la composición isotópica de padres y crías que no están relacionados a la variación en la presas asimiladas. Los valores de $\delta^{15}\text{N}$ pueden cambiar gradualmente durante el crecimiento de las crías (Williams *et al.* 2007, Sears *et al.* 2009) debido a cambios en las tasas de recambio de tejidos (es decir,

las diferencias en el tiempo de un determinado tejido integrado) o variaciones ontogenéticas en el metabolismo del nitrógeno (Harding *et al.* 2008, Sears *et al.* 2009). Sears *et al.* (2009) analizó la fracción de glóbulos rojos de las crías de la especie *Cerorhinca monocerata* en laboratorio y campo, demostró que su crecimiento condujo a una disminución en ^{15}N de 0.37 ‰ en relación con aves sub-adultas alimentadas con la misma dieta. Por lo tanto, para comparar los valores $\delta^{15}\text{N}$ de adultos y crías ajustamos los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de los adultos restando 0.37 ‰.

Se utilizó el análisis de isótopos estables en R (SIAR por sus siglas en inglés, Parnell *et al.* 2008), mediante una aproximación bayesiana para un modelo de mezcla isotópica de múltiples fuentes para calcular valores probables de la proporción de las fuentes tróficas que integran los tejidos del depredador (Parnell *et al.* 2010) y crías. Se utilizó los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de sangre del bobo de patas azules y de musculo de las presas principales en los modelos de mezcla de SIAR para estimar la contribución de las fuentes de presas potenciales a las dietas de los adultos y crías durante la reproducción. Se utilizaron factores de discriminación de isótopos para sangre entera obtenidos de estudios controlados de cuatro aves piscívoras en cautiverio para corregir fraccionamiento isotópico trófico del tejido utilizado ($\delta^{15}\text{N}$: 2.7 ± 0.4 ; $\delta^{13}\text{C}$: 0.0 ± 0.7 ; Cherel *et al.* 2005a).

IV.3.5. Análisis estadísticos

Para evaluar las diferencias en la composición isotópica ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$) de sangre total extraída de adultos durante la reproducción se utilizó un modelo lineal mixto considerando el sexo, etapa reproductiva (incubación, crianza temprana y tardía) y año (2011 y 2012) como factores fijos incluyendo todas las interacciones y como variables de respuesta los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$. En el análisis se incluyó al individuo (anidado por nido) como un factor aleatorio, para controlar el efecto potencial de la toma de muestras en varias ocasiones del mismo nido. Para comparar las proporciones de isótopos ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ por separado) entre adultos y crías, se utilizó un modelo lineal mixto que incluyó la categoría Sexo-edad

(hembras-machos adultos y crías), etapa (crianza temprana y tardía) y año (2011 y 2012) como factores fijos incluyendo todas las interacciones. Estudios previos demostraron que el sexo de las crías no influye en la distribución de alimentos por parte de los padres hacia sus crías, ambos sexos reciben la misma cantidad de comida (Torres y Drummond 1999) y los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ son similares (Cruz *et al.* 2012). En nuestros datos no existieron diferencias en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ entre los sexos de las crías ($\delta^{15}\text{N}$ $F_{1,47} = 0.58$, $P = 0.45$; $\delta^{13}\text{C}$ $F_{1,47} = 0.08$, $P = 0.78$) por lo tanto los datos fueron agrupados. Los modelos fueron simplificados cuando las interacciones y términos principales no fueron significativas ($P > 0.05$), los resultados estadísticos presentados para estas variables e interacciones corresponden al momento que fueron eliminados del modelo. Cada modelo se inició con las condiciones más complejas (incluyendo todas las interacciones) y fue simplificado hasta llegar al modelo adecuado mínimo. La importancia de cada término se evaluó mediante un análisis de comparación del modelo adecuado mínimo simplificado con la inclusión y exclusión de términos no significativos (Crawley 2007). La importancia dentro del modelo para cada término se evaluó mediante una prueba de coeficiente de probabilidad (likelihood ratio tests), incluyendo y excluyendo los términos no significativos (Crawley 2007). Para los análisis estadísticos se utilizó el programa SPSS versión 21 (SPSS Inc., Chicago, IL, EE.UU.). Los residuales de los modelos se distribuyeron normalmente (prueba de Shapiro-Wilk, $P > 0.05$). Las proporciones de isótopos se presentan como la media \pm ES. El nivel de significancia se fijó en $\alpha = 0.05$.

IV.4. RESULTADOS

IV.4.1. Variación en la composición isotópica de adultos

En ambos años hubo diferencias significativas en la composición isotópica de los adultos en función de la etapa reproductiva (Tabla III). Los adultos exhibieron valores más enriquecidos en ^{15}N y menos enriquecidos en ^{13}C conforme avanzó la temporada reproductiva (Fig. 6) y este patrón fue consistente

para ambos sexos. Solo los valores de $\delta^{13}\text{C}$ en la sangre de los machos muestreados durante la incubación en la temporada 2011 presentaron valores más enriquecidos que durante la crianza temprana (Fig. 6). Hubo diferencias intersexuales, pero solamente durante ciertas etapas reproductivas en ambas temporadas (Tabla III, Fig. 6). Durante todas las etapas en la temporada 2011 los machos tuvieron valores más pesados de $\delta^{15}\text{N}$ que las hembras, mientras que en 2012 la diferencia entre sexos se observó sólo en el periodo de incubación (Tabla III, Fig. 6). Las hembras tuvieron valores más enriquecidos de ^{13}C que los machos solo durante la etapa de incubación en la temporada 2011, y se observaron diferencias en la temporada 2011 durante incubación y crianza tardía, mientras que en 2012 la diferencia entre sexos se observó sólo durante el periodo de incubación (Tabla III, Fig. 6).

IV.4.2. Variación en la composición isotópica entre adultos y crías

Encontramos diferencias en la composición isotópica de los adultos y las crías durante ambas temporadas (Tabla III). Las crías tuvieron valores más enriquecidos en ^{15}N y valores menos enriquecidos en ^{13}C que los adultos en ambos años y durante toda la crianza (Tabla III, Fig. 6). Los valores de ^{13}C y ^{15}N para crías fueron consistentes entre años; las crías de 10 semanas de edad tuvieron valores ligeramente más enriquecidos en ^{15}N y menos enriquecidos en ^{13}C que los de cuatro semanas (Tabla III, Fig. 6).

IV.4.3. Composición de las presas

Colectamos 121 individuos de ocho especies de presa (Fig. 7) durante ambas temporadas reproductivas (excepto macarela caballa [*Decapterus macarellus*] y anchoveta norteña [*Engraulis mordax*] que fueron capturados sólo durante la temporada 2011; y pajarito plateado [*Hyporhamphus unifasciatus*] que fue capturado sólo durante la temporada 2012). Las presas que fueron muestreadas durante ambas temporadas no exhibieron diferencias en la composición isotópica de ^{13}C y ^{15}N ($P > 0.05$) por lo que los valores fueron

agrupados. Entre las presas principales, pajarito saltador (*Hemiramphus saltator*) tuvo los valores más enriquecidos en ^{15}N mientras que macarela caballa, anchoas (*Anchoa sp.*) y anchoveta (*Cetengraulis mysticetus*) tuvieron los más bajos (Fig. 7). A su vez el pajarito plateado y anchoveta fueron las especies de presa que tuvieron valores más enriquecidos en ^{13}C , mientras que la macarela caballa, anchoveta norteña y macarela pintoja (*Scomber australasicus*) los más bajos (Fig. 7).

La composición de la dieta de los adultos varió entre las etapas reproductivas (Tabla IV): anchoveta disminuyó en la dieta de incubación a volantón, mientras que el pajarito plateado incrementó (Tabla IV). La composición de la dieta durante la etapa de crianza temprana entre adultos y crías fue diferente: la dieta de las crías fue de varias especies con un aporte relativamente equitativo entre diferentes presas (entre un 10-15%), mientras que en la de los adultos se centró en anchoveta y pajarito plateado, con un aporte del 50-60% entre ambas presas (Tabla IV).

IV.5. DISCUSIÓN

Nuestros resultados indicaron que los padres en el bobo de patas azules mostraron patrones similares de flexibilidad en la selección de presas para alimentar a sus crías. Los machos presentaron un mayor enriquecimiento en la composición isotópica de $\delta^{15}\text{N}$ que las hembras, aunque hubo inconsistencias entre temporadas reproductivas. Ambos padres mostraron cambios estacionales en el nicho trófico coincidentes con la manutención del valor reproductivo de su nidada ante posibles cambios en la disponibilidad de presas.

Tabla III. Resumen de los modelos lineales mixtos utilizado para probar el efecto del sexo, etapa reproductiva y año de muestreo sobre los isotopos estables de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) y nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$) medidos en sangre completa de bobos de patas azules en la Isla El Rancho, Sinaloa, México durante dos temporadas reproductivas (2011 y 2012). Modelos iniciales incluyeron todos los términos que figuran en la tabla. Los modelos iniciales incluyeron todos los terminos incluidos en la tabla. Los terminos significativos obtenidos del modelo final se muestran en negritas. Para los terminos no significativos los valores reportados corresponden al momento previo de ser eliminados del modelo (marcados con asterisco*).

Comparación	Factores	$\delta^{15}\text{N}$		$\delta^{13}\text{C}$	
		F_{gl}	P	F_{gl}	P
1. Adultos en tres etapas reproductivas	Sexo	27.2 _{1,226}	<0.00	1.93 _{1,226}	0.17
	Etapa	103.6 _{2,226}	<0.00	17.3 _{2,226}	<0.00
	Año	59.9 _{1,226}	<0.00	3.29 _{1,226}	0.07
	Sexo + Etapa	9.6 _{2,226}	<0.00	1.92 _{2,226}	0.15*
	Sexo + Año	15.2 _{1,226}	<0.00	7.4 _{1,226}	<0.00
	Etapa + Año	2.6 _{2,226}	0.07*	0.32 _{2,226}	0.73*
	Sexo + Etapa + Año	2.5 _{4,226}	0.04	3.7 _{6,226}	<0.00
2. Adultos y crías en dos etapas reproductivas	Sexo-edad	44.9 _{2,188}	<0.00	66.2 _{2,190}	<0.00
	Etapa	24.9 _{1,188}	<0.00	24.1 _{1,190}	<0.00
	Año	52.3 _{1,188}	<0.00	10.7 _{1,187}	<0.00
	Sexo-edad + Etapa	1.8 _{2,183}	0.16*	2.7 _{2,183}	0.07*
	Sexo-edad + Año	3.4 _{2,188}	0.03	0.18 _{2,183}	0.83*
	Etapa + Año	1.3 _{1,183}	0.25*	2.27 _{1,183}	0.13*
	Sex-edad + Etapa + Año	0.3 _{2,183}	0.97*	2.4 _{2,183}	0.09*

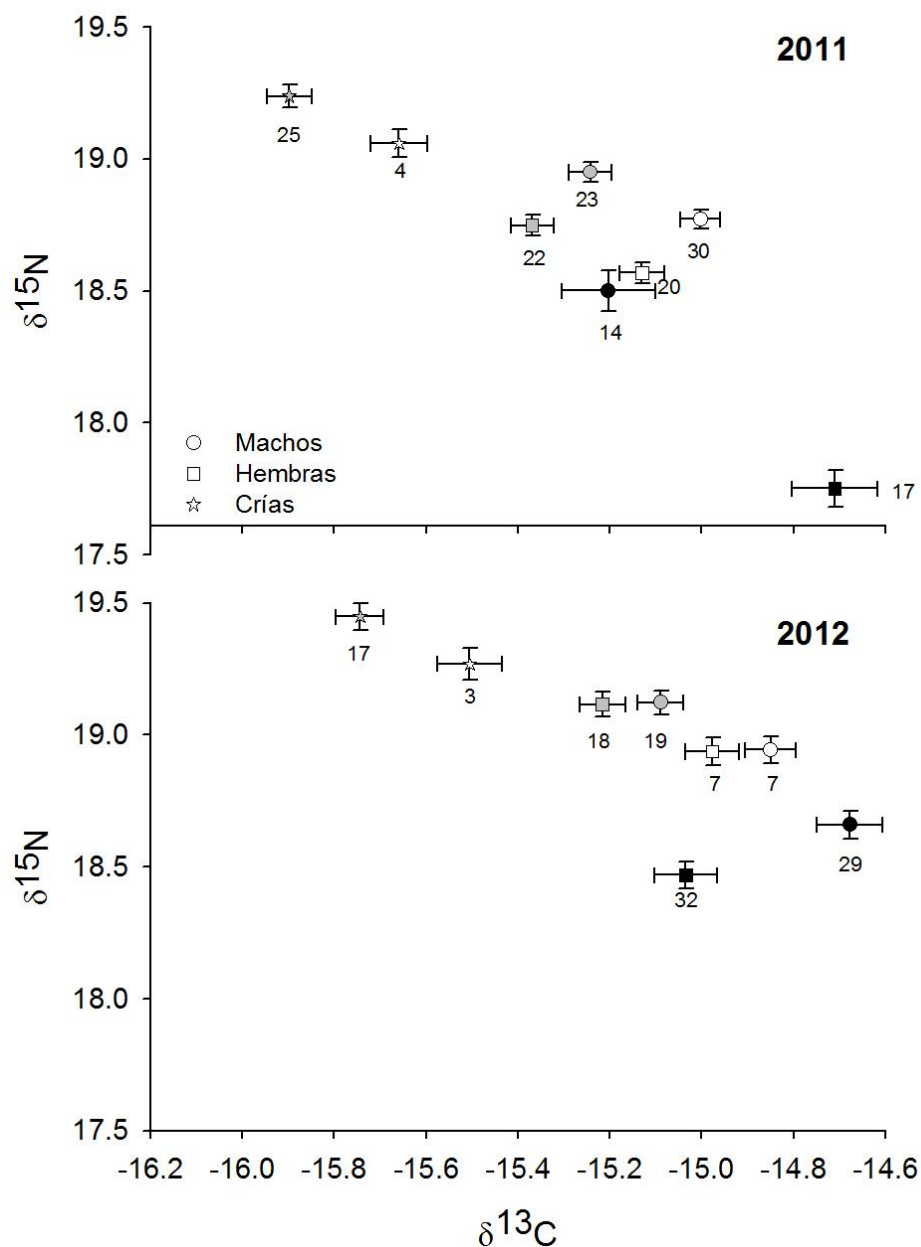


Figura 6. Isotopos estables ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$) de muestras de sangre entera en el bobo de patas azules donde se muestran adultos durante la incubación (símbolos negros), crías-adultos durante la crianza temprana (símbolos blancos) y crías-adultos durante la crianza tardía (símbolos grises) de la colonia en la isla El Rancho, Sinaloa, México, durante dos temporadas reproductivas (2011 y 2012). Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ representan medias \pm ES. El tamaño de la muestra se presenta junto a cada símbolo.

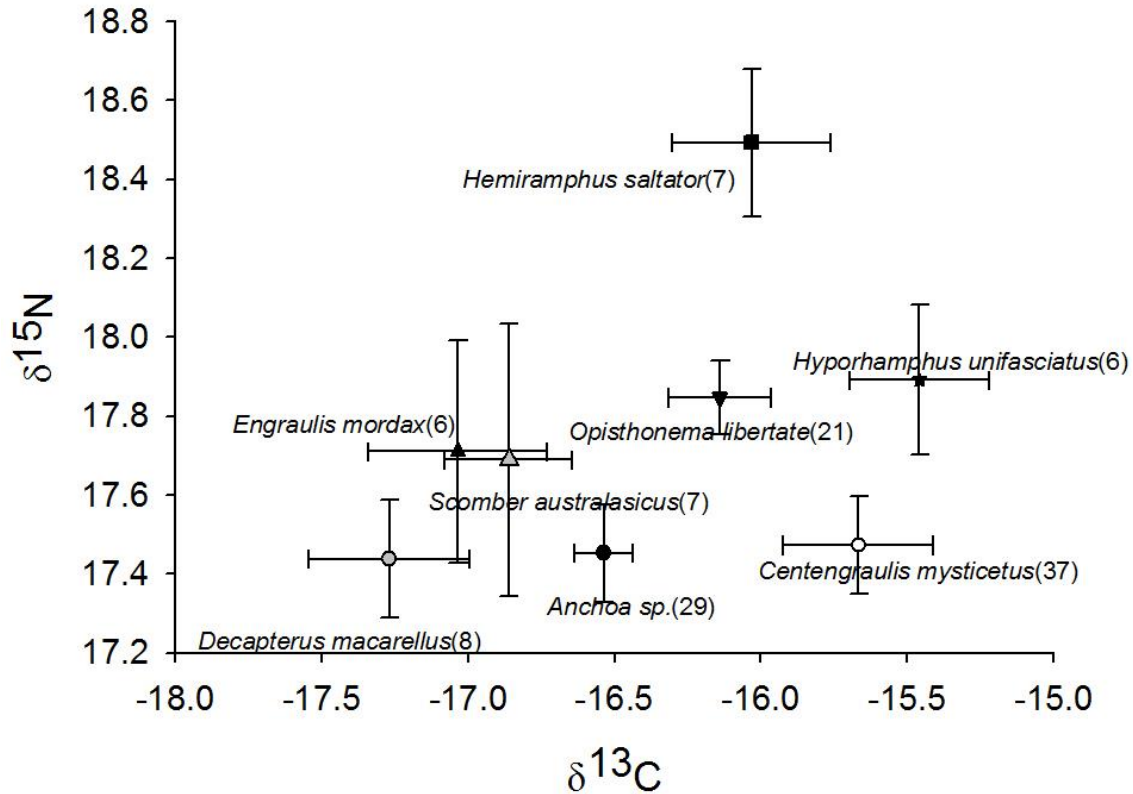


Figura 7. Valores promedio (\pm ES) de isotopos estables ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$) de las presas principales de los bobos de patas azules que anidan en la colonia de la Isla El Rancho, Sinaloa, México durante dos temporadas reproductivas (2011 y 2012). El tamaño de la muestra se presenta junto a cada símbolo.

Las crías se mantuvieron estables en un ambiente isotópico distinto al de los padres, con un mayor enriquecimiento en ^{15}N y menor en ^{13}C . Esta es una evidencia de que los padres seleccionaron específicamente las presas para alimentar a sus crías, lo cual es consistente con la teoría del forrajeo óptimo. La proporción de consumo de las presas por parte de los padres indicó se modificó entre las etapas reproductivas (incubación-crianza), disminuyendo la proporción de anchoveta y aumentando el consumo de pajarito plateado. A su vez la proporción de consumo de presas entre adultos y crías fue distinto en la etapa de crianza temprana, donde las crías se alimentaron de varias especies con un

aporte similar, mientras que los adultos se alimentaron de dos presas principales (anchoveta y pajarito plateado).

IV.5.1. Variación en la firma isotópica de C y N entre etapas de la reproducción y sexos

El cambio en las composiciones isotópicas de los adultos entre la incubación y crianza sugiere que consumieron presas de niveles tróficos superiores y en zonas alejadas de la costa conforme avanzó la temporada reproductiva. Este cambio puede ser consecuencia de dos procesos no excluyentes: 1) un cambio en la conducta de forrajeo de los padres en respuesta a las mayores demandas nutricionales de las crías (Williams *et al.* 2008, Hedd *et al.* 2009, Ito *et al.* 2009, Hipfner *et al.* 2013), y/o 2) cambios en la disponibilidad de peces pelágicos menores durante la temporada reproductiva, como se ha documentado que ocurre en la zona central del GC (Lluch-Belda *et al.* 1986, Hammann *et al.* 1988). En el bobo de patas azules hay evidencia de que los costos de forrajeo aumentan durante la crianza porque los padres proveen más alimento (Guerra y Drummond 1995) y hay un incremento en su esfuerzo físico conforme las crías crecen (González-Medina *et al.* 2015). Los padres deben ajustar su conducta de forrajeo debido a que presentan mayores limitaciones de tiempo impuestas por las obligaciones parentales (Shaffer *et al.* 2003), por lo que consumir presas más enriquecidas en ^{15}N o de mayor tamaño puede ser una estrategia que les permita maximizar el tiempo de captura de las presas. Se sabe que el bobo de patas azules se alimenta de presas abundantes (sardinias y anchovetas), e incorporan otras especies menos abundantes en su dieta durante años menos productivos (Ancona *et al.* 2012). Por lo tanto, el cambio en el

consumo de anchoveta (disminuyó) y pajarito plateado (incrementó) entre las etapas reproductivas parece relacionado con cambios en su disponibilidad, pues las sardinas están presentes en forma abundante durante el periodo de alta productividad, relacionado con las surgencias (meses Diciembre-Mayo) para después disminuir debido a movimientos migratorios, además de que tienden a evitar temperaturas muy altas cerca de la superficie por lo que migran o se encuentran en zonas más profundas. Por lo tanto, es probable que tanto cambios intrínsecos como extrínsecos sean responsables de los cambios estacionales en el nicho trófico de los adultos.

Varios estudios han reportado diferencias en las dietas de hembras y machos en aves marinas (Clarke *et al.* 1998, González-Solís *et al.* 2000, Forero *et al.* 2002). En el bobo de patas azules se han registrado diferencias intersexuales en el comportamiento de forrajeo, dieta y tamaño de las presas (Zavalaga *et al.* 2007, Weimerskirch *et al.* 2009, Castillo-Guerrero y Mellink 2011). Esperábamos que las hembras tuvieran valores significativamente más enriquecidos en ^{15}N que los machos por que se pueden alimentar sobre especies más grandes y de mayor nivel trófico por su tamaño mayor (Zavalaga *et al.* 2007, Castillo-Guerrero y Mellink 2011). Contrario a lo esperado, los valores de ^{15}N fueron más enriquecidos en machos que en hembras, sin mostrar cambios entre temporadas durante la crianza (temprana y tardía). Sin embargo, el patrón temporal de enriquecimiento de los valores de ^{15}N fue similar entre sexos. Las condiciones oceanográficas durante ambas temporadas reproductivas fueron consideradas como ligeramente frías (anomalías en temperatura superficial del mar ecuatorial negativa [SST por sus siglas en inglés]; Centro de Predicción de Clima www.nws.noaa.gov), por lo que los bobos experimentaron buenas condiciones de reproducción, lo que pudo favorecer que la diferencia entre sexos fuera menor y en algunos casos no se observaran diferencias, ya que se sabe que las diferencias entre sexos suelen ocurrir cuando existe escasez de alimentos (Castillo-Guerrero y Mellink 2011).

Nuestros resultados indicaron que los machos tienen la capacidad de modificar su comportamiento de alimentación similar a las hembras (ya sea debida a la disponibilidad de presas o a necesidades de las crías), por lo que ambos sexos tienen flexibilidad en la selección y consumo de presas. La hipótesis de que las hembras mostrarían valores isotópicos más enriquecidos en ^{15}N que los machos no se cumplió, ya que éstas presentaron valores iguales o menos enriquecidos en ^{15}N que los machos. Lo que nos indica que ambos sexos tienen una capacidad para modificar su comportamiento de alimentación y ser flexibles en la selección de presas para su consumo, lo que les permite mantener el valor reproductivo de su nidada en un ambiente con variaciones amplias en la disponibilidad de presas.

IV.5.2. Diferencia en la composición isotópica de C y N entre adultos y crías

Durante el periodo de crianza, los adultos deben forrajear para obtener alimento para sus crías y para ellos mismos. Con base en la teoría del forrajeo óptimo nosotros predijimos que los padres del bobo de patas azules serían selectivos en la alimentación de las crías con presas más enriquecidas en ^{15}N . Nuestros resultados fueron consistentes con esta predicción y encontramos que los padres alimentaron a sus crías con presas más enriquecidas en ^{15}N , las cuales pueden estar asociadas a una dieta con mayor energía metabólica (Albano *et al.* 2011), lo cual favorece el crecimiento y asimilación de energía de los pollos (Hodum y Hobson 2000, Cherel 2008, Gremillet *et al.* 2008). El valor isotópico de ^{15}N en los padres mostró variaciones estacionales, mientras que la composición isotópica de las crías se mantuvo con valores isotópicos similares, independientemente de las variaciones ambientales (estacionales y anuales). Esta es una evidencia clara de una alimentación selectiva a las crías por parte de los padres, con un cierto grado de especialización en el forrajeo por parte de los padres cuando proveen alimento para sus crías. Cruz *et al.* (2012) establecieron que las crías del bobo de patas azules en las Islas de Galápagos fueron alimentadas de manera consistente en un mismo nivel trófico durante todo el periodo de crianza con base en análisis de isótopos estables, lo cual es

consistente con nuestro estudio. En conjunto esta estrategia de alimentación les puede conferir una ventaja adaptativa mejorando la condición corporal de las crías por alimentarlas con presas de niveles tróficos superiores (Hodum y Hobson 2000; Forero *et al.* 2002; Dahdul y Horn 2003), y con ello facilitando su supervivencia. Sin embargo, el proceso de decisión de los padres para alimentar a sus crías podría cambiar bajo condiciones extremas de poca disponibilidad de alimento (i.e. bajo condiciones del fenómeno del Niño), cuando se reduce la disponibilidad de presas de alto contenido energético (i.e., Baird 1990, Österblom *et al.* 2008) y muchos pelágicos menores disminuyen su abundancia en el GC, ya que restringen su distribución a las áreas alrededor de las grandes islas, donde el agua se mantiene más fría durante el fenómeno del Niño (Huato-Soberanis y Lluch-Belda, 1987, Nevárez-Martínez *et al.* 2001), por lo que los padres deben priorizar su alimentación y supervivencia, ocasionando una alta tasa de fracaso reproductivo en la especie (Ancona *et al.* 2011).

IV.6. CONCLUSIÓN

Utilizando el enfoque isotópico, hemos descrito la selectividad en la dieta para alimentar a las crías del bobo de patas azules por parte de los padres y como varían los valores isotópicos de los padres desde la incubación hasta crianza tardía. Nuestros resultados muestran claramente que los adultos alimentan activamente a sus crías con presas más enriquecidas en ^{15}N , a diferencia de los que se consumen por sí mismos. Esto apoya un principio fundamental de la teoría de forrajeo óptimo. Nuestros resultados indican firmemente que este comportamiento de los padres a pesar de la variabilidad ambiental les puede conferir múltiples beneficios tanto a sus crías (mejor crecimiento y una mayor supervivencia) como a ellos mismos (disminuyendo el número de viajes de forrajeo y aumentando el éxito reproductivo).

Tabla IV. Resumen de la composición de la dieta predicha (% composición) del bobo de patas azules (hembras, machos y crías) en la colonia de la isla El Rancho, durante dos temporadas reproductivas (2011 y 2012) en tres periodos diferentes (incubación, crianza temprana y tardía). La composición de las dietas se estimaron sobre la base de los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en sangre entera utilizando una aproximación bayesiana para un modelo de mezcla isotópica de múltiples fuentes SIAR (Parnell *et al.* 2010), y se presentan estimaciones promedio con IC del 95% (entre paréntesis). Presas principales están marcados en color gris.

Especies de presas	Incubación		Crianza temprana			Crianza tardía		
	Hembra	Macho	Hembra	Macho	Crías	Hembra	Macho	Crías
<i>Anchoa sp</i>	4.56 (0-12.8)	3.98 (0-11.6)	6.56 (0-17.8)	4.70 (0-12.9)	12.95 (0-24.8)	10.55 (0-22.7)	7.27 (0-17.4)	8.43 (0-19.3)
<i>Centengraulis mysticetus</i>	40.5 (14.5-64.7)	38.97 (9.4-64.9)	29.46 (4.5-52.1)	29.28 (5-50.9)	15.42 (0.1-29.3)	22.10 (6.6-37.3)	27.15 (8.6-44.8)	23.05 (6.4-39.1)
<i>Opisthonema libertate</i>	12.13 (0-27.3)	12.3 (0-27.6)	14.36 (0-29.1)	11.77 (0-24.9)	14.80 (0-28.5)	7.74 (0-16.2)	8.47 (0-18)	8.19 (0-17.2)
<i>Scomber australasicus</i>	2.56 (0-7.3)	2.39 (0-6.9)	3.96 (0-11.1)	2.81 (0-8)	10.34 (0-23.3)	4.58 (0-12)	3.34 (0-9)	4.03 (0-10.8)
<i>Engraulis mordax</i>	2.17 (0-6.2)	2.03 (0-5.8)	3.38 (0-9.5)	2.38 (0-6.7)	10.34 (0-22.7)	3.63 (0-9.9)	2.79 (0-7.8)	3.22 (0-8.8)
<i>Decapterus macarellus</i>	2.17 (0-6.3)	1.96 (0-5.7)	3.23 (0-9.2)	2.30 (0-6.5)	10.10 (0-22.5)	3.59 (0-9.6)	2.87 (0-7.9)	3.14 (0-8.5)
<i>Hyporhamphus unifasciatus</i>	33 (5-60.4)	35.3 (3.3-66.8)	33.54 (5.2-62.2)	42.63 (15-71.7)	15.00 (0-28.7)	42.02 (22.2-61)	44.29 (20.6-67.1)	44.69 (23.6-64.9)
<i>Hemiramphus saltator</i>	2.9 (0-8.5)	3.05 (0-8.7)	5.51 (0-15.4)	4.11 (0-11.5)	11.52 (0-24.2)	5.79 (0-15.7)	3.83 (0-10.9)	5.24 (0-14.1)

IV.7. AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a M. Guevara, A. Mendoza, M. Leal, M. Arvizú, S. Rendón, M. Lerma, F. Quesada, J.P. Ceyca, A. Leal, D. Brito, C. Franco, y N. Albano por su ayuda durante el trabajo de campo; M.R. Barradas, J. Simancas y Ricardo por su apoyo en el laboratorio de isotopos estables del Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE) y P. Castro por brindarnos el transporte a las isla y mantenernos con bien. Este proyecto fue financiado por el Fondo Mexicano para la Conservación de la Naturaleza A.C. (PIE-2012-A-P-C-IGSI-12-12), CONACYT (No. I010/176/2012), Sonoran Joint Venture, Pronatura México A.C. E. González-Medina fue apoyado mediante una beca de Doctorado proporcionada por CONACYT (Programa de Doctorado en Ciencias del Mar y Limnología, UNAM #201218). La colecta de datos cumple con las leyes vigentes en el país y se llevó a cabo bajo los permisos de la Dirección General de Vida Silvestre (SGPA/DGVS/08559/11). Este documento constituye el cumplimiento parcial del Programa de Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología-UNAM.

IV.8. REFERENCIAS

- Albano N, Masero JA, Sánchez-Guzmán JM, Villegas A, Santiago-Quesada F (2011). Effects of diet on growth-related patterns of energy and macronutrient assimilation efficiency in a semi-precocial bird, the Gull-billed Tern *Gelochelidon nilotica*. *Ardea* 99:93–101.
- Alvarez-Borrego S (1983). Gulf of California. In: Ketchum BH (ed.). In Estuaries and enclosed seas. Elsevier, Amsterdam, p 427–449.
- Ancona S, Sánchez-Colón S, Rodríguez C, Drummond H (2011). El Niño in the warm tropics: local sea temperature predicts breeding parameters and growth of blue-footed boobies. *J. Anim. Ecol.* 80:799–808.
- Anderson DJ (1989). Differential responses of boobies and other seabirds in the Galápagos to the 1986–87 El Niño southern oscillation event. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 52:209–216.
- Anderson DJ, Ricklefs R (1992). Brood size and food provisioning in masked and blue-footed boobies (*Sula* spp.). *Ecology* 73:1363–1374.
- Baird PH (1990). Influence of abiotic factors and prey distribution on diet and reproductive success of three seabird species in Alaska. *Ornis. Scand.* 21:224–235.

- Bearhop S, Adams CE, Waldron S, Fuller RA, MacLeod H (2004). Determining trophic niche width: a novel approach using stable isotope analysis. *J. Anim. Ecol.* 73:1007–1012.
- Bearhop S, Waldron S, Votier SC, Furness RW (2002). Factors that influence assimilation rates and fractionation of nitrogen and carbon stable isotopes in avian blood and feathers. *Physiol. Biochem. Zool.* 75:451–458.
- Beaulieu M, Sockman KW (2014). Comparison of optimal foraging versus life-history decisions during nestling care in Lincoln's Sparrows *Melospiza lincolnii* through stable isotope analysis. *Ibis* 156:424–432.
- Bond AL, McClelland GTW, Jones IL, Lavers JL, Kyser TK (2010). Stable isotopes confirm community patterns in foraging among Hawaiian Procelariiformes. *Waterbirds* 33:50–58.
- Brooke M (2004). Albatrosses and petrels across the world. Oxford University Press, Oxford.
- Castillo-Guerrero JA, Mellink E (2011). Occasional inter-sex differences in diet and foraging behavior of the Blue-footed Booby: maximizing chick rearing in a variable environment? *J. Ornithol.* 152:269–277.
- Cherel Y, Hobson KA (2007). Geographical variation in carbon stable isotope signatures of marine predators: a tool to investigate their foraging areas in the Southern Ocean. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 329:281–287.
- Cherel Y, Hobson KA, Hassani S (2005). Isotopic discrimination factors between food and blood and feathers of captive penguins: implications for dietary studies in the wild. *Physiol. Biochem. Zool.* 78:106–115.
- Cherel Y (2008). Isotopic niches of emperor and Adélie penguins in Adélie Land, Antarctica. *Mar. Biol.* 154:813–821.
- Cherel Y, Le Corre M, Jaquemet S, Ménard F, Richard P, Weimerskirch H (2008). Resource partitioning within a tropical seabird community: new information from stable isotopes. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 366:281–291.
- Clarke J, Manly B, Kerry K, Gardner H, Franchi E, Corsolini S, Focardi S (1998). Sex differences in Adélie penguin foraging strategies. *Polar Biol.* 20:248–258.
- Crawley MJ (2007). The R book. John Wiley y Sons, Chichester.
- Cruz LL, McGill RAR, Goodman SJ, Hamer KC (2012). Stable isotope ratios of a tropical marine predator: confounding effects of nutritional status during growth. *Mar. Biol.* 159:873–880.
- Dahdul WA, Horn MH (2003). Energy allocation and postnatal growth in captive Elegant Tern (*Sterna elegans*) chicks: responses to high- versus low-energy diets. *Auk* 120:1069–1081.
- Dänhardt A, Fresemann T, Becker PH (2011). To eat or to feed? Prey utilization of Common Terns *Sterna hirundo* in the Wadden Sea. *J. Ornithol.* 152:347–357.

- Davies WE, Hipfner JM, Hobson KA, Ydenberg RC (2009). Seabird seasonal trophodynamics: isotopic patterns in a community of Pacific alcid. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 382:211-219.
- Davoren GK, Burger AE (1999). Differences in prey selection and behaviour during self-feeding and chick provisioning in rhinoceros auklets. *Anim. Behav.* 58:853–863.
- Deguchi T, Wada A, Watanuki Y, Osa Y (2010). Seasonal changes of the at-sea distribution and food provisioning in rhinoceros auklets. *Ecol. Res.* 25:123–137.
- Drummond H, Osorno JL, Torres R, García-Chavelas C, Merchant Larios H (1991). Sexual size dimorphism and sibling competition: implications for avian sex ratios. *Am. Nat.* 138:623–641.
- Drummond H, González E, Osorno JL (1986). Parent–offspring cooperation in the blue-footed booby (*Sula nebouxii*): social roles in infanticidal brood reduction. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 19:65–372.
- Engilis A, Oring LW, Carrera E, Nelson JW, Martinez-Lopez A (1998). Shorebird surveys in Ensenada Pabellones and Bahía Santa María, Sinaloa, Mexico: critical winter habitats for Pacific Flyway shorebirds. *Wilson Bull.* 110:332–341.
- Forero MG, Hobson KA, Bortolotti GR, Donazar JA, Bertellotti M, Blanco G (2002). Food resources utilisation by the Magellanic penguin evaluated through stable-isotope analysis: segregation by sex and age and influence on offspring quality. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 234:289-299.
- Forero MG, González-Solís J, Hobson KA, Doñazar JA, Bertellotti M, Blanco G, Bortolotti GR (2005). Stable isotopes reveal trophic segregation by sex and age in the Southern Giant Petrel in two different food webs. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 296:107-113.
- Fort J, Cherel Y, Harding AMA, Welcker J, Jakubas D, Steen H, Karnovsky NJ, Grémillet, D (2010). Geographic and seasonal variability in the isotopic niche of Little Auks. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 414:293-302.
- González-Medina E, Castillo-Guerrero JA, Santiago-Quesada F, Villegas A, Masero JA, Sánchez-Guzmán JM, Fernández G (2015). Regulation of breeding expenditure in the Blue-footed Booby (*Sula nebouxii*): an experimental approach. *Anim. Behav.* 18: 9–16.
- González-Solís J, Croxall JP, Wood AG (2000). Sexual dimorphism and sexual segregation in foraging strategies of northern giant petrels, *Macronectes halli*, during incubation. *Oikos* 90:390-398.
- Grémillet D, Pichegru L, Kuntz G, Woakes AG, Wilkinson S, Crawford RJM, Ryan PG (2008). A junk-food hypothesis for gannets feeding on fishery waste. *P. Roy. Soc. Lond. B Bio.* 275:1149–1156.

- Guerra M, Drummond H (1995). Reversed sexual size dimorphism and parental care: minimal division of labour in the blue-footed booby. *Behaviour* 132:479–496.
- Hammann G, Baumgartner TR, Badan-Dangon A (1988). Coupling of the Pacific Sardine (*Sardinops sagax caeruleus*) life cycle with the Gulf of California pelagic environment. *Calif. Coop. Oceanic Fish Invest. Rep.* 22:102–109.
- Harding AMA, Hobson KA, Wojciech W, Dmoch K, Karnovsky NJ, Van Pelt TI, Lifjeld JT (2008). Can stable isotope ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) measurements of little auk (*Alle alle*) adults and chicks be used to track changes in high-Arctic marine foodwebs? *Polar Biol.* 31:725–733.
- Hedd A, Regular PM, Montevecchi WA, Buren AD, Burke CM, Fifield DA (2009). Going deep: Common Murres dive into frigid water for aggregated, persistent, slow-moving Capelin. *Mar. Biol.* 156:741–751.
- Hedd A, Fifield DA, Burke CM, Montevecchi WA, McFarlane Tranquilla L, Regular PM, Buren AD, Robertson GJ (2010). Seasonal shift in the foraging niche of Atlantic puffins *Fratercula arctica* revealed by stable isotope ($\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$) analyses. *Aquat. Biol.* 9:13–22.
- Hipfner JM, McFarlane-Tranquilla L, Addison B, Hobson KA (2013). Trophic responses to the hatching of offspring in a central-place foraging seabird. *J. Ornithol.* 154:965–970.
- Hobson KA, Piatt JF, Pitocchelli J (1994). Using stable isotopes to determine seabird trophic relationships. *J. Anim. Ecol.* 63:786–798.
- Hobson KA (1993). Trophic relationships among high Arctic seabirds: insights from tissue-dependent stable-isotope models. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 95:7–18.
- Hodum PJ, Hobson KA (2000). Trophic relationships among Antarctic fulmarine petrels: insights into dietary overlap and chick provisioning strategies inferred from stable-isotope ($\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$) analyses. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 198:273–281.
- Huato-Soberanis L, Lluch-Belda D (1987). Mesoscale cycles in the series of environmental indices related to the sardine fishery in the Gulf of California. *CalCOFI Report* 28:128–134.
- Ito M, Minami H, Tanaka Y, Watanuki Y (2009). Seasonal and interannual oceanographic changes induce diet switching in a piscivorous seabird. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 393:273–284.
- Jerónimo-Balcázar J (2011). Variación interannual de las larvas de peces pelágicos menores en el Golfo de California, y su relación con el zooplancton y el ambiente durante marzo de 2005 y 2006. B.S. thesis, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. La Paz, B.C.S.

- Lluch-Belda D, Magallón BFJ, Schwartzlose RA (1986). Large fluctuations in the sardine fishery in the Gulf of California: possible causes. *Calif. Coop. Oceanic Fish. Invest. Rep.* 27:136–140.
- Lluch-Cota SE, Aragón-Noriega EA, Arreguín-Sánchez F, Aurióles-Gamboa D, Bautista-Romero JJ, Brusca RC, Cervantes-Duarte R, Cortés-Altamirano R, Del-Monte-Luna P, Esquivel-Herrera A, Fernández G, Hendrickx ME, Hernández-Vázquez S, Herrera-Cervantes H, Kahru M, Lavín M, Lluch-Belda D, Lluch-Cota DB, López-Martínez J, Marinote SG, Nevárez-Martínez MO, Ortega-García S, Palacios-Castro E, Parés-Sierra A, Ponce-Díaz G, Ramírez-Rodríguez M, Salinas-Zavala CA, Schwartzlose RA, Sierra-Beltrán AP (2007). The Gulf of California: Review of ecosystem status and sustainability challenges. *Prog. Oceanogr.* 73:1–26.
- MacArthur RH, Pianka ER (1966). On optimal use of a patchy environment. *Am. Nat.* 100:603–609.
- Moreno J, Sanz JJ (1996). Field metabolic rates of breeding Chinstrap penguins (*Pygoscelis antarctica*) in the South Shetlands. *Physiol. Zool.* 69:586–598.
- Navarro J, González-Solís J (2009). Environmental determinants of foraging strategies in Cory's shearwaters *Calonectris diomedea*. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 378:259–267.
- Nelson JB (1978). The Sulidae: gannets and boobies. Oxford University Press, Oxford.
- Nelson JB (2005). Pelicans, cormorants and their relatives. The Pelecaniforms. Oxford: Oxford University Press, Oxford.
- Nevárez-Martínez MO, Lluch-Belda D, Cisneros-Mata MA, Santos-Molina JP, Martínez-Zavala MA, Lluch-Cota SE (2001). Distribution and abundance of the Pacific sardine (*Sardinops sagax*) in the Gulf of California and their relation with the environment. *Prog. Oceanogr.* 49:565–580.
- Österblom H, Olsson O, Blenckner T, Furness RW (2008). Junk-food in marine ecosystems. *Oikos* 117:967–977.
- Parnell A, Inger R, Bearhop S, Jackson AL (2008). Stable isotope analysis in R (SIAR). <http://cran.r-project.org/web/packages/siar/index.html>.
- Parnell AC, Inger R, Bearhop S, Jackson AL (2010). Source partitioning using stable isotopes: coping with too much variation. *PLoS ONE* 5: e9672 doi: 10.1371/journal.pone.0009672.
- R Development Core Team (2009). R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available at: www.R-project.org.
- Raya Rey A, Polito M, Archuby D, Coria N (2012). Stable isotopes identify age- and sex-specific dietary partitioning and foraging habitat segregation in

- Southern Giant Petrels breeding in Antarctica and Southern Patagonia. *Mar. Biol.* 159:1317-1326.
- Rector ME, Kouwenberg AL, Wilhelm SI, Robertson GJ, McKay DW, Fitzsimmons MG, Baker CR, Cameron-MacMillan ML, Walsh CJ, Storey AE (2012). Corticosterone levels of Atlantic puffins vary with breeding stage and sex but are not elevated in poor foraging years. *Gen. Comp. Endocr.* 178:408–416.
- Romano MD, Piatt JF, Roby DD (2006). Testing the Junk- food hypothesis on marine birds: effect of prey type on growth and development. *Waterbirds* 29:407–414.
- Santamaría-del-Ángel E, Álvarez-Borrego S, Müller-Karger FE (1994). Gulf of California biogeographic regions based on coastal zone color scanner imagery. *J. Geophys. Res.* 99:7411–7421.
- Sears J, Hatch SA, O'Brien DM (2009). Disentangling effects of growth and nutritional status on seabirds stable isotope ratios. *Oecologia* 159:41–48.
- Shaffer SA, Costa DP, Weimerskirch H (2003). Foraging effort in relation to the constraints of reproduction in free-ranging albatrosses. *Funct. Ecol.* 17:66–74.
- Shealer DA (2002). Foraging behaviour and food of seabirds. In Schreiber EA, Burger J (Eds.) *Biology of marine birds*. Boca Raton: CRC Press. pp. 179-216.
- Stephens DW, Krebs JR (1986). *Foraging theory*. Princeton University Press, Princeton.
- Torres R, Drummond H (1999). Does large size make daughters of the blue-footed booby more expensive than sons? *J. Anim. Ecol.* 68:1133–1141.
- Weimerskirch H, Shaffer SA, Tremblay Y, Costa DP, Gadenne H, Kato A, Ropert-Coudert Y, Sato K, Auriolles D (2009). Species- and sex-specific differences in foraging behaviour and foraging zones in blue-footed and brown boobies in the Gulf of California. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 391:267–278.
- Williams CT, Buck CL, Sears J, Kitaysky AS (2007). Effects of nutritional restriction on nitrogen and carbon stable isotopes in growing seabirds. *Oecologia* 153:11–18.
- Williams CT, Iverson SJ, Buck CL (2008). Stable isotopes and fatty acid signatures reveal age- and stage-dependent foraging niches in tufted puffins. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 363:287–298.
- Wilson LJ, Daunt F, Wanless S (2004). Self-feeding and chick provisioning diet differ in the common guillemot *Uria aalge*. *Ardea* 92:197–208.
- Ydenberg RC, Welham CVJ, Schmid-Hempel R, Schmid-Hempel P, Beauchamp G (1994). Time and energy constraints and the relationship between currencies in foraging theory. *Behav. Ecol.* 5:28–34.

- Zavalaga CB, Benvenuti S, Dall'Antonia L, Emslie SD (2007). Diving behavior of the blue-footed boobies *Sula nebouxii* in northern Peru in relation to sex, body size and prey type. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 336:291–303.
- Zavalaga CB, Benvenuti S, Dall'Antonia L, Emslie SD (2008). Foraging areas of breeding blue-footed boobies *Sula nebouxii* in northern Peru, as determined by direction recorders. *J. Avian Biol.* 39:405–412.

Efecto de la dieta en los parámetros reproductivos de las hembras del bobo de patas azules (*Sula nebouxii*): ¿Eres lo que comes?



Erick González-Medina, José Alfredo Castillo-Guerrero, Sharon Z. Herzka, Guillermo Fernández.

V.1. RESUMEN

Entender el papel de la dieta sobre la condición fisiológica individual durante la reproducción, y como se refleja en el desempeño reproductivo es fundamental para entender las estrategias reproductivas en las aves marinas. Se conoce poco sobre la influencia que tiene el alimento al inicio de la reproducción y sus repercusiones de corto plazo en el éxito reproductivo. Nosotros evaluamos si las diferencias individuales en la dieta (nivel de alimentación trófico) de las hembras del bobo de patas azules (*Sula nebouxii*) previo a la puesta de huevos y durante la incubación influyen en su condición corporal (niveles de triglicéridos en plasma) y en el rendimiento reproductivo (definido por las medidas de fecha de puesta, tamaño de puesta y éxito de eclosión). Las hembras con valores más enriquecidos de ^{15}N en sangre durante cortejo e incubación tuvieron una mejor condición corporal, una fecha de puesta más temprana, un tamaño de puesta y un éxito de eclosión mayor. Se estimó que las hembras que anidaron temprano y pusieron 2 huevos o más consumieron preferentemente dos presas: anchoveta [*Cetengraulis mysticetus*] y sardina crinuda [*Opisthonema libertate*] con una elevada cantidad de lípidos (razón C:N) y contenido calórico (Kcal/g peso fresco). La calidad del alimento consumido por las hembras al inicio de la reproducción incide a corto plazo en su condición fisiológica individual y en el rendimiento reproductivo. Nuestro trabajo enfatiza la importancia de determinar la influencia del alimento durante la reproducción para comprender las decisiones reproductivas en un ave marina de vida larga.

Palabras clave: *Sula nebouxii*, triglicéridos, reproducción, alimento

V.2. INTRODUCCIÓN

La disponibilidad de alimento puede tener un efecto sustancial en los costos y el desempeño durante la reproducción, y por lo tanto puede ser un factor importante en cuanto a cómo los individuos ajustan sus estrategias reproductivas (Martin 1987). La mayoría de los trabajos sobre la influencia del alimento en la historia de vida de las aves se han centrado en la fase de crianza (Martin 2004, Sorensen *et al.* 2009). No se ha explorado en detalle la influencia del alimento durante otras etapas, como la formación del huevo e incubación, (Nager 2006, Navarro y González-Solís 2007, pero véase Monaghan *et al.* 1998, Ito *et al.* 2009). Hay evidencia que indica que en las etapas iniciales de la reproducción (formación del huevo e incubación) pueden ser tan exigentes energéticamente como la etapa de crianza en algunas especies de aves (Nager 2006).

La cantidad y calidad de alimento consumido por las hembras previo a la formación del huevo e incubación puede influenciar su condición corporal, la calidad del huevo y parámetros reproductivos como la cantidad de huevos, la fecha y el tamaño de puesta (Chastel *et al.* 1995, Oro *et al.* 1996, Clifford y Anderson 2001, Gasparini *et al.* 2007). La condición corporal al inicio de la época reproductiva es un factor crítico que puede influir sobre las decisiones reproductivas y repercutir en el éxito reproductivo de las aves (Chastel *et al.* 1995). Las hembras con una condición corporal alta suelen anidar al inicio de la temporada reproductiva y tienen un tamaño de puesta y un éxito reproductivo mayor en comparación con las que exhiben una condición corporal pobre (Sydeman *et al.* 1991, De Forest y Gaston 1996, Harris y Wanless 2004). En aves marinas, la variación en la fecha de puesta de los individuos es frecuentemente asociada a la condición corporal del ave, su edad y/o su experiencia reproductiva (Sydeman *et al.* 1991, Robinson *et al.* 2005). De acuerdo a esta información, el alimento consumido (calidad de la dieta y disponibilidad de las presas) antes de la etapa de crianza puede afectar la condición corporal y en consecuencia los parámetros reproductivos.

En pocos estudios se ha evaluado el efecto de la dieta sobre el desempeño reproductivo. En aves marinas se ha relacionado el alimento consumido (mediante el uso de isotopos estables $\delta^{15}\text{N}$ en plumas) con la condición corporal (medida como la masa corporal controlada por tamaño), fecha de puesta y tamaño del huevo (volumen del huevo) en *Ptychoramphus aleuticus* (Sorensen *et al.* 2009). Las hembras con valores de $\delta^{15}\text{N}$ mayores pusieron huevos de menor tamaño y relativamente tardíos en la temporada, estimaron que las hembras que se alimentaron de presas de “mayor calidad” (mayor contenido energético: cal/g) fueron las que anidaron a principios y además pusieron huevos de mayor tamaño que las hembras que se alimentaron de presas de menor calidad (< cal/g). Sin embargo, la condición corporal de las hembras no se relacionó con la calidad de la dieta ni con la fecha de puesta, quizás debido a que no utilizaron un buen indicador de la condición corporal, ó que no fue medida en el tiempo adecuado. En la especie *Brachyramphus marmoratus* se determinó una relación positiva entre el contenido energético (nivel trófico) de la dieta y el éxito reproductivo, así las hembras que se alimentan de presas con un contenido energético inferior previo a la reproducción, presentan un éxito reproductivo menor (Becker y Beissinger 2006, Norris *et al.* 2007).

Los niveles de triglicéridos son buenos indicadores del nivel de reservas corporales (Quillfeldt *et al.* 2004). Se relacionan con la presencia de precursores de huevo en la sangre (Vanderkist *et al.* 2000) y con el metabolismo de las grasas, donde se asume que mayores niveles de triglicéridos en la sangre indican un mejor estado nutricional (Jenni-Eiermann y Jenni 1998; Alonso-Álvarez *et al.* 2002). Se ha reportado en varios estudios que las aves que se reproducen presentan mayores niveles de triglicéridos que las hembras que no lo hacen (MacCluskie y Sedinger 2000, Vanderkist *et al.* 2000, Williams 2005). Previo a la incubación, las aves marinas necesitan almacenar suficientes reservas nutricionales para hacer frente al periodo de incubación, donde pasan un tiempo de ayuno mayor, en consecuencia, mayores niveles de triglicéridos probablemente indiquen una mayor capacidad para capturar presas y almacenar reservas de grasa (Giudici *et al.* 2010).

Por otra parte, una dieta alta en lípidos puede mejorar el desempeño reproductivo debido a que son energéticamente densos (Litzow *et al.* 2002, Romano *et al.* 2006). La razón carbono y nitrógeno (C:N) en una muestra de tejido puede utilizarse como una aproximación confiable de contenido de lípidos en animales acuáticos como los peces debido al alto contenido de carbono de los lípidos (Post *et al.* 2007). El aporte calórico (Kcal/g peso fresco) de las presas consumidas puede aportar una idea del valor y la calidad energética del tipo de presa (Becker *et al.* 2007). Las presas de nivel trófico superior tiene mayor contenido energético por unidad de masa que los peces de nivel trófico menor (Becker *et al.* 2007). Las presas de niveles tróficos superiores pueden estar asociados con un alto contenido de lípidos (i.e. según lo reportado por Romano *et al.* 2006 en aves marinas alimentadas con dietas controladas), por lo que el forrajeo sobre niveles tróficos superiores puede incrementar el rendimiento reproductivo debido a una mayor disponibilidad de energía metabólica (Albano *et al.* 2011). Los valores de $\delta^{15}\text{N}$ se enriquecen en ^{15}N de manera predecible entre niveles tróficos y por lo tanto indica la posición trófica de los consumidores (Bearhop *et al.* 2004).

En este estudio examinamos si las diferencias en la dieta consumida (en particular la composición de las dietas, el nivel de alimentación trófico y el nivel de lípidos inferidos a través de mediciones de C:N) por parte de las hembras del bobo de patas azules (*Sula nebouxii*) previo a la crianza influyen sobre la condición corporal (medido mediante niveles de triglicéridos) y en el rendimiento reproductivo (definido por las medidas de fecha de puesta, tamaño de puesta y éxito de eclosión). Nosotros predecimos que las hembras que se alimentan de presas de niveles tróficos superiores, con mayor contenido energético (Kcal/g) y mayor contenido de lípidos (razón C:N) durante el cortejo y la incubación presentarán una condición corporal mejor (niveles de triglicéridos mayor), y como consecuencia, iniciaran la puesta de huevos a principios de la temporada, tendrán un tamaño de puesta y éxito de eclosión mayor.

Probamos estas predicciones en el bobo de patas azules, un ave marina colonial con un periodo prolongado de cuidado biparental (más de seis meses). Anida en zonas de surgencias del Pacífico oriental que ocurren en el golfo de California y la corriente del Humbolt en el norte del Perú. Las hembras ponen de 1-3 huevos, aunque generalmente son dos (Nelson 2005). Se alimenta de pequeños peces pelágicos como anchovetas y sardinas (Anderson 1989, Zavalaga *et al.* 2008, Castillo-Guerrero y Mellink 2011), los cuales los adultos capturan mediante buceos después de caídas en picada (Nelson 2005). Las zonas de forrajeo abarcan áreas dispersas en un radio de 30-50 km de la colonia (Anderson y Ricklefs 1992, Zavalaga *et al.* 2007, Weimerskirch *et al.* 2009). Las hembras muestran una amplia variación en la fecha de puesta del primer huevo y otros parámetros reproductivos, así como en su condición corporal. Por ejemplo, en la colonia de El Rancho, Sinaloa, la diferencia entre la fecha de puesta de las primeras y últimas hembras es de aproximadamente 90 días (González-Medina datos sin publicar), mientras que para Isla Isabel, Nayarit, hay una variación de hasta 161 días (Peña Alvarez 2009). Existe evidencia que durante eventos de escasez de alimento asociados a la ocurrencia del fenómeno El Niño Oscilación del Sur (ENSO) el inicio de la reproducción se retrasa, y como consecuencia existe un efecto negativo sobre otros parámetros reproductivos como el tamaño de puesta y el tamaño de nidada, además de afectar el éxito de eclosión y volantón (Ancona *et al.* 2011). Por lo tanto, el alimento es importante ya que puede repercutir sobre la condición corporal de las hembras y sus parámetros reproductivos.

V.3. MÉTODOS

V.3.1. Área de estudio

Este trabajo se realizó en la Isla El Rancho (25°10'N, 108°23'W), la cual se ubica a menos de 1 km de distancia de la boca noroeste en la Bahía de Santa María-La Reforma, el humedal costero más grande del estado de Sinaloa (Engilis *et al.* 1998) en la parte continental de la región central del Golfo de California,

México. La bahía es altamente productiva y es un área potencial de alimentación para los bobos de patas azules. La colonia se localiza en la parte noroeste de la isla entre dunas de arena de 4 m de altura. Alrededor de 3,000 parejas de bobos de patas azules anidan en un área de 1.6 hectáreas, con una densidad promedio de 0.26 ± 0.12 (SE; $n = 245$) nidos por metro cuadrado (González-Medina datos sin publicar).

Realizamos visitas a la isla entre Diciembre y Mayo (18 visitas en total, cinco días de duración en cada visita) durante dos temporadas reproductivas (2011 y 2012). La etapa de cortejo fue evaluada solo en la temporada 2012 dándole seguimiento a 22 nidos, mientras que la etapa de incubación se analizó en ambas temporadas con observaciones en 36 nidos (2011 = 20 nidos, 2012 = 16 nidos, de los cuales 13 fueron los mismos que los de cortejo). Durante ambas temporadas reproductivas, se llevó a cabo un seguimiento de los nidos seleccionados y se registró la fecha de puesta, tamaño de puesta, volumen de huevos (volumen total de puesta, cm^3) y éxito de eclosión (huevos eclosionados/total de huevos puestos*100). Cuando no se registró la fecha, se calculó utilizando la fecha de eclosión del pollo sustrayendo 42 días de incubación. El valor que utilizamos como fecha de puesta fueron los días julianos, tomando como referencia el día cero cuando registramos el primero nido con huevos. Para clasificar anidantes tempranos y tardíos, se utilizó como referencia la moda de la puesta, de manera que los nidos que estuvieron por debajo de la moda se clasificaron como anidantes tempranos y los que estuvieron por encima se clasificaron como tardíos. Se midió la longitud (L) y ancho (A) de cada huevo, utilizando un vernier ($\pm 0,1$ mm). Con estas medidas se calculó el volumen de los huevos (cm^3) con la fórmula: $(L \times A^2 \times 0.51 / 1,000)$, Hoyt 1979), la cual ya ha sido utilizada para calcular el volumen de los huevos en bobos de patas azules por Dentressangle *et al.* (2008). Para cada nido calculamos el volumen total de los huevos sumando el volumen del total de huevos puestos.

V.3.2. Muestras del bobo de patas azules y las presas principales

Las hembras fueron marcadas individualmente con bandas de colores con códigos numéricos únicos. Las muestras de sangre se tomaron de la vena braquial (~ 1 ml) y se transfirieron (~ 0.5 ml) a dos tubos de polipropileno sin anticoagulante. Para los análisis de metabolitos el suero se obtuvo por centrifugación a $2,800 \times g$ durante 10 min, mientras que para los análisis de los isótopos estables ($\delta^{13}C$ y $\delta^{15}N$), se utilizó sangre entera. Todas las muestras se mantuvieron en hielo durante la estancia en campo, y se mantuvieron congeladas en el laboratorio hasta que se realizaron los análisis de metabolitos e isótopos estables. En aves marinas, la composición isotópica en sangre entera integra la dieta de aproximadamente 30 días antes del muestreo (Bearhop *et al.* 2002, Hahn *et al.* 2012). Las muestras colectadas corresponden a dos periodos diferentes durante el ciclo reproductivo (cortejo e incubación).

Se colectaron muestras de las especies de presas más comunes en el bobo de patas azules para realizar un análisis isotópico. Seleccionamos solo presas que estuvieran completas o que hubiesen sufrido una cantidad mínima de digestión de los regurgitados obtenidos en la colonia mientras manipulábamos las aves para la toma de sangre o mientras caminábamos en la colonia durante ambas temporadas reproductivas. Se colectaron al menos seis individuos por especie de presa. Las muestras se mantuvieron en hielo en el campo y se congelaron en el laboratorio hasta su análisis. Las especies de presas fueron identificadas en el campo y en el laboratorio mediante el uso de guías taxonómicas. Una pequeña porción de musculo de la parte dorsal de cada presa se disecciono para realizar los análisis de isótopos estables ($\delta^{13}C$ y $\delta^{15}N$). Además, obtuvimos la razón C:N del musculo de las presas principales (como indicador de contenido lipídico) de los análisis de isótopos estables, y el aporte calórico (Kcal/g peso fresco) de las presas principales de la literatura.

V.3.3. Preparación de las muestras y análisis de isótopos estables

Antes de realizar el análisis de isótopos estables, sangre y tejido de músculo de las presas fueron colocadas y secadas en un horno a 60 °C durante aproximadamente 24 h, y se procedió a macerar cada muestra en un mortero de ágata, hasta obtener un polvo fino y homogéneo. El tejido pulverizado se pesó (0.7–1.0 mg) y encapsulo en capsulas de estaño. Ya pesadas, se enviaron al Laboratorio de Isótopos Estables (SIF, por sus siglas en ingles) en la Universidad de Davis en California (EUA) para su análisis en el espectrómetro de masas, con el fin de cuantificar los isótopos estables de Carbono ($\delta^{13}\text{C}$) y Nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$). Las proporciones de isótopos son reportados usando la notación estándar: $\delta_{muestra} = ((R_{muestra} - R_{estandar}) / R_{estandar}) * 1000$ donde $\delta_{muestra}$ es la relación isotópica de la muestra y R es la proporción entre los isótopos ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ o $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) con respecto a V-PDB o nitrógeno atmosférico, respectivamente. De manera interna, los estándares del laboratorio certificado se intercalan de forma rutinaria con muestras objetivo durante ejecuciones de análisis. Las desviaciones estándar a largo plazo de los estándares internos utilizados en el SIF son 0.2% y 0.3% para carbono y nitrógeno, respectivamente.

V.3.4. Condición corporal (triglicéridos)

Los niveles plasmáticos de triglicéridos totales (triglicéridos más glicerol libre) se analizaron en un analizador químico multiparamétrico (Falcor 360; Menarini Diagnostics, Barcelona, España), con kits comerciales (Menagent; Menarini Diagnostics) adaptado a pequeños volúmenes de muestra (Villegas *et al.* 2013). El analizador se calibró con un kit de calibración comercial (Menagent; Menarini Diagnostics) y sueros de referencia de control (Menagent; Menarini Diagnostics) que se corrieron junto con las muestras de plasma. Los niveles plasmáticos de glicerol libre se analizaron mediante ensayo de punto final en un espectrofotómetro de microplacas (BioTek, Winooski, VT, USA), utilizando kits de

diagnóstico estándar y microplacas de fondo plano de 400- μ L (Greiner Bio-One, Alemania). Los kits comerciales se adaptaron para las muestras de volumen pequeño como se describe por Albano *et al.* (2011). Para las mediciones de glicerol libre, los reactivos se obtuvieron de Sigma (2.5 μ L plasma y 200 μ L reactivo). Todas las mediciones se realizaron por duplicado. Los niveles de triglicéridos reales se calcularon restando glicerol libre de triglicéridos totales.

V.3.5. Análisis estadísticos y modelos de mezcla isotópica

Para evaluar la relación entre el nivel de alimentación trófico de las hembras durante el cortejo y la condición corporal (niveles de triglicéridos) utilizamos una regresión lineal simple, con la condición corporal como variable de respuesta y como variable independiente utilizamos los valores de $\delta^{15}\text{N}$. Para evaluar la relación entre el nivel de alimentación trófico de las hembras durante incubación y la condición corporal utilizamos un modelo lineal general (GLM, por sus siglas en inglés), con la condición corporal como variable de respuesta, año como variable categórica (debido a que se incluyen datos de dos temporadas reproductivas: 2011 y 2012) y los valores de $\delta^{15}\text{N}$ como variable continua. Para evaluar si la composición isotópica ($\delta^{15}\text{N}$) de la sangre durante el periodo de cortejo estuvo relacionada con los parámetros reproductivos medidos en las hembras del bobo de patas azules, utilizamos un análisis de regresión lineal simple para cada variable, con fecha y tamaño de puesta (volumen total de huevos cm^3) como variables de respuesta, y como efecto fijo utilizamos los valores de $\delta^{15}\text{N}$. Mientras que para determinar el efecto de la composición isotópica ($\delta^{15}\text{N}$) de la sangre durante el periodo de incubación sobre el éxito de eclosión de los huevos utilizamos un modelo lineal generalizado (GLZ, por sus siglas en inglés) con un ligamiento logit para considerar la distribución binomial de la variable dependiente (eclosión exitosa: 1, no eclosión: 0). Se consideró como variable categórica el año (temporadas reproductivas: 2011 y 2012), y como variable continua la señal isotópica de ^{15}N . Se usó la prueba de Wald para probar la significancia estadística de cada coeficiente en el modelo.

Se utilizó el análisis de isótopos estables en R (SIAR por sus siglas en inglés, Parnell *et al.* 2008), el cual se utiliza para calcular o estimar valores probables de la proporción de las fuentes tróficas que integran los tejidos del depredador mediante una aproximación bayesiana que produce la simulación de valores probables de la proporción de las fuentes tróficas que integran los tejidos del depredador consistentes con los datos isotópicos (Parnell *et al.* 2010). Utilizamos los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de sangre del bobo de patas azules y de musculo de las presas principales en los modelos de mezcla de SIAR para estimar la contribución de las fuentes de presas potenciales a las dietas de las hembras que anidaron de manera temprano o tardía durante reproducción, y también de acuerdo con el tamaño de la puesta. Se utilizaron factores de discriminación de isótopos para sangre entera obtenidos de estudios controlados de cuatro aves piscívoras en cautiverio para corregir fraccionamiento isotópico trófico del tejido utilizado ($\delta^{15}\text{N}$: 2.7 ± 0.4 ; $\delta^{13}\text{C}$: 0.0 ± 0.7 ; Cherel *et al.* 2005a). Para estimar la posición trófica relativa (PT) de las especies de presas consumidas, se utilizaron sus valores de $\delta^{15}\text{N}$ en la siguiente fórmula (Post 2002): $PT = \lambda + [(\delta^{15}\text{N}_{\text{consumidor}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{base}}) / \Delta\delta^{15}\text{N}]$, donde $\lambda = 2$ es la posición trófica de *Anchoa* sp., $\delta^{15}\text{N}_{\text{base}}$ es la determinación de $\delta^{15}\text{N}$ para *Anchoa* sp., y $\Delta\delta^{15}\text{N}$ = es el valor de fraccionamiento trófico (3.03 obtenida de valores promedio para músculo en peces; McCutchan *et al.* 2003, Vanderklift y Ponsard 2003). Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa Statistica 10 (Statsoft 2011) y el programa R (R Development Core Team 2007) con el paquete SIAR para cuantificar la proporción de cada presa en la dieta de las hembras muestreadas. Los valores reportados son la media \pm ES. El nivel de significancia se fijó en 0.05.

V.4. RESULTADOS

V.4.1. Nivel de alimentación trófica y condición corporal

Se colectaron un total de 121 individuos de ocho especies de presa (Tabla V) durante ambas temporadas reproductivas (excepto macarela caballa [*Decapterus macarellus*] y anchoveta norteña [*Engraulis mordax*] capturados

durante 2011; y pajarito plateado [*Hyporhamphus unifasciatus*] capturado durante 2012). Las presas muestreadas durante ambas temporadas no exhibieron diferencias en la composición isotópica de ^{13}C y ^{15}N ($P > 0.05$) por lo tanto fueron agrupados. Entre las especies de presas estimamos una diferencia máxima de 0.3 niveles tróficos (Tabla V). El pajarito saltador (*Hemiramphus saltator*) presentó los valores más enriquecidos en ^{15}N , siguiéndole pajarito plateado (Tabla V), mientras que la macarela caballa y anchoas (*Anchoa sp.*) presentaron valores menos enriquecidos en $\delta^{15}\text{N}$ (Tabla V). Por otro lado las presas que presentaron una mayor razón C:N en musculo fueron anchoveta (*Centengraulis mysticetus*) y sardina crinuda (*Opisthonema libertate*, Tabla V), mientras que las que presentaron valores menores fueron pajarito plateado y anchoas (Tabla V). En cuanto a los valores energéticos de las especies de presas principales en el bobo de patas azules, los valores energéticos fluctuaron entre 6.96 Kcal/g en peso fresco anchoveta y los 0.92 Kcal/g en peso fresco seco de las anchoas (Tabla V). La condición corporal de las hembras (medida mediante los niveles de triglicéridos) se relacionó positivamente con los valores de $\delta^{15}\text{N}$ durante ambos periodos reproductivos ($\delta^{15}\text{N}$ -cortejo: $F_{1,18} = 35.04$, $r^2 = 0.66$, $\beta = 371.15$, $P < 0.001$; $\delta^{15}\text{N}$ -incubación: $F_{1,29} = 22.63$, $r^2 = 0.44$, $\beta = 0.69$, $P < 0.001$, Fig. 8). La variable año no tuvo ningún efecto sobre la condición corporal en la etapa de incubación ($F_{1,29} = 3.17$, $P = 0.08$).

V.4.2. Nivel de alimentación trófico y variables reproductivas

Hubo una relación negativa entre los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de las hembras y la fecha de puesta ($F_{1,20} = 237.94$, $r^2 = 0.92$, $\beta = -17.78$, $P < 0.00$). Las hembras con una composición isotópica enriquecida en ^{15}N anidaron a principios de la temporada reproductiva (Fig. 9a). Hubo una relación positiva entre los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de las hembras (durante el periodo de cortejo) y su tamaño de puesta ($F_{1,20} = 47.01$, $r^2 = 0.70$, $\beta = 77.87$, $P < 0.00$), y una relación significativa entre los valores de $\delta^{15}\text{N}$ (periodo de incubación) y su éxito de eclosión ($Wald = 5.65$, $gl = 1$, $P = 0.02$). Las hembras que presentaron valores más enriquecidos en la composición isotópica presentaron un tamaño de puesta y un éxito de eclosión mayor (Fig. 9b y

Fig. 10). No encontramos diferencias significativas en el éxito de eclosión entre temporadas reproductivas (Wald = 0.01, $gI = 1$, $P = 0.91$).

V.4.3. Dieta

Los valores isotópicos obtenidos de las presas (Tabla V) fueron utilizados en los modelos mixtos SIAR para cuantificar la contribución proporcional de cada presa a la dieta de las hembras durante el cortejo e incubación (Tabla VI y VII). Se estimó que las hembras que anidaron temprano tuvieron preferencia por anchoveta y sardina crinuda, las cuales aportaron alrededor del 77% del total del C y N (Tabla VI). A su vez estas presas presentaron una mayor cantidad de lípidos (mayor razón C:N) y contenido calórico (Kcal/g peso fresco). En tanto que las hembras que anidaron de manera tardía tuvieron un consumo menor de anchoveta y sardina crinuda y se incrementó la proporción de las otras presas (Tabla VI). Por su parte, las hembras con un tamaño de puesta entre 2-3 huevos consumieron principalmente anchoveta y sardina crinuda, que suman alrededor del 48-71% del consumo total (Tabla VII). Las hembras con un tamaño de puesta de 0-1 huevos consumieron todas las presas en proporciones bajas (< 14%), sin consumir preferentemente una presa en particular (Tabla VII).

Tabla V. Resumen de las estimaciones promedio (+/- DE) de los valores de isotopos estables de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$, nivel trofico relativo (presas principales), contenido energetico (Kcal/g peso fresco de presas principales) y la razón C:N en las hembras del bobo de patas azules (*Sula nebouxii*) y en las presas principales de peces.

	<i>n</i>	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	Nivel trófico relativo	Kcal/g (peso fresco)	Razón C:N
<i>Anchoa sp</i>	29	-16.59 ± 0.64	17.45 ± 0.66	2.00	5.3 ¹	3.44
<i>Centengraulis mysticetus</i>	37	-15.86 ± 1.31	17.47 ± 0.75	2.01	6.96 ²	5.57
<i>Opisthonema libertate</i>	21	-15.16 ± 1.63	17.85 ± 0.43	2.13	4.29 ²	5.87
<i>Scomber australasicus</i>	7	-17.18 ± 0.56	17.69 ± 0.91	2.07	1.87 ³	3.68
<i>Engraulis mordax</i>	6	-17.21 ± 0.55	17.71 ± 0.69	2.08	1.42 ⁴	3.71
<i>Decapterus macarellus</i>	8	-17.92 ± 1.34	17.44 ± 0.42	1.99	1.38 ⁵	4.01
<i>Hyporhamphus unifasciatus</i>	6	-16.45 ± 0.60	17.89 ± 1.41	2.14	1.41 ⁵	3.34
<i>Hemiramphus saltator</i>	7	-17.20 ± 1.05	18.49 ± 0.93	2.34	1.51 ⁵	3.52
Dieta durante cortejo	22	-15.32 ± 0.73	18.57 ± 0.62	---	---	3.66
Dieta durante incubación	36	-14.86 ± 0.42	18.94 ± 0.24	---	---	3.29

¹Castro-González *et al.* 1998, ²Hleap *et al.* 2010, ³Smith 2011, ⁴Bykov1983, ⁵Hernández Aguilar 2012.

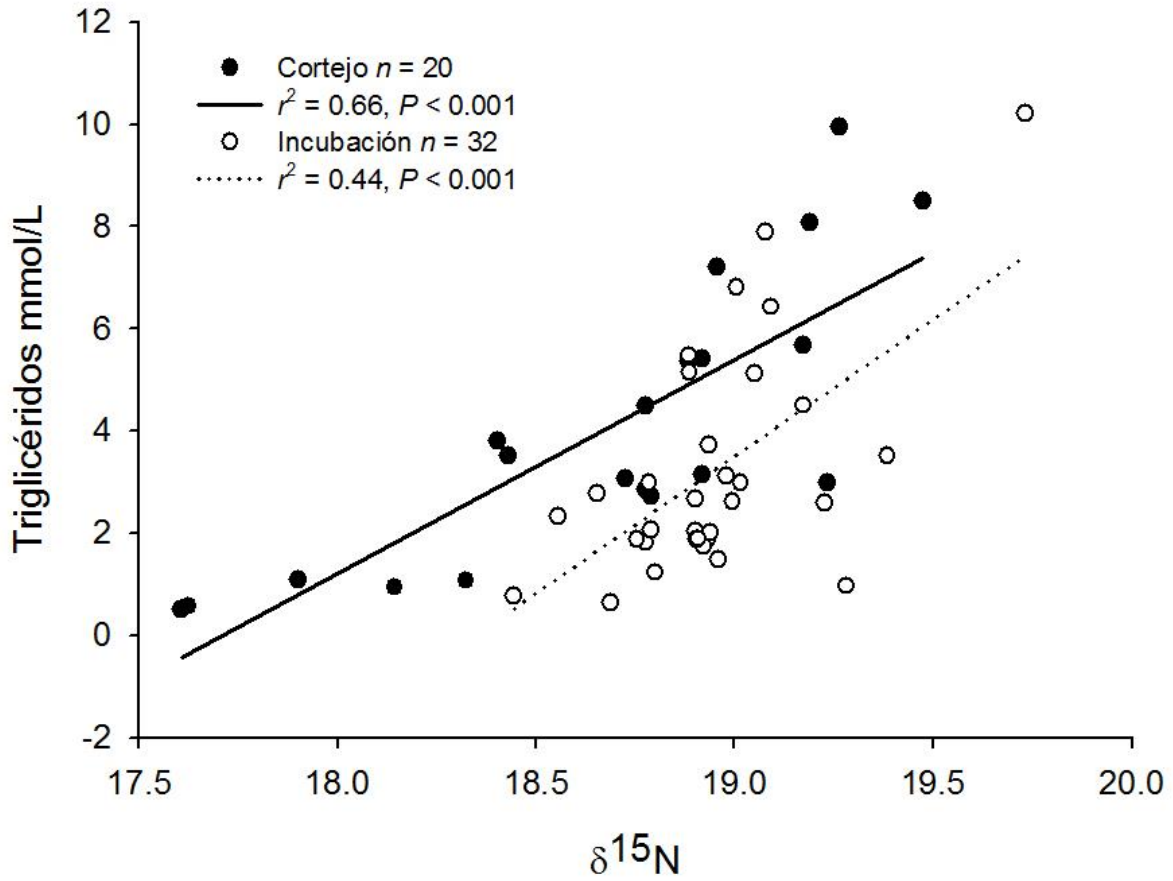


Figura 8. Relación entre nivel de triglicéridos en plasma (indicador de condición corporal) y valores de $\delta^{15}\text{N}$ en sangre de las hembras del bobo de patas azules (*Sula nebouxi*) muestreado durante dos períodos reproductivos (cortejo e incubación) en la isla de El Rancho, Sinaloa, México.

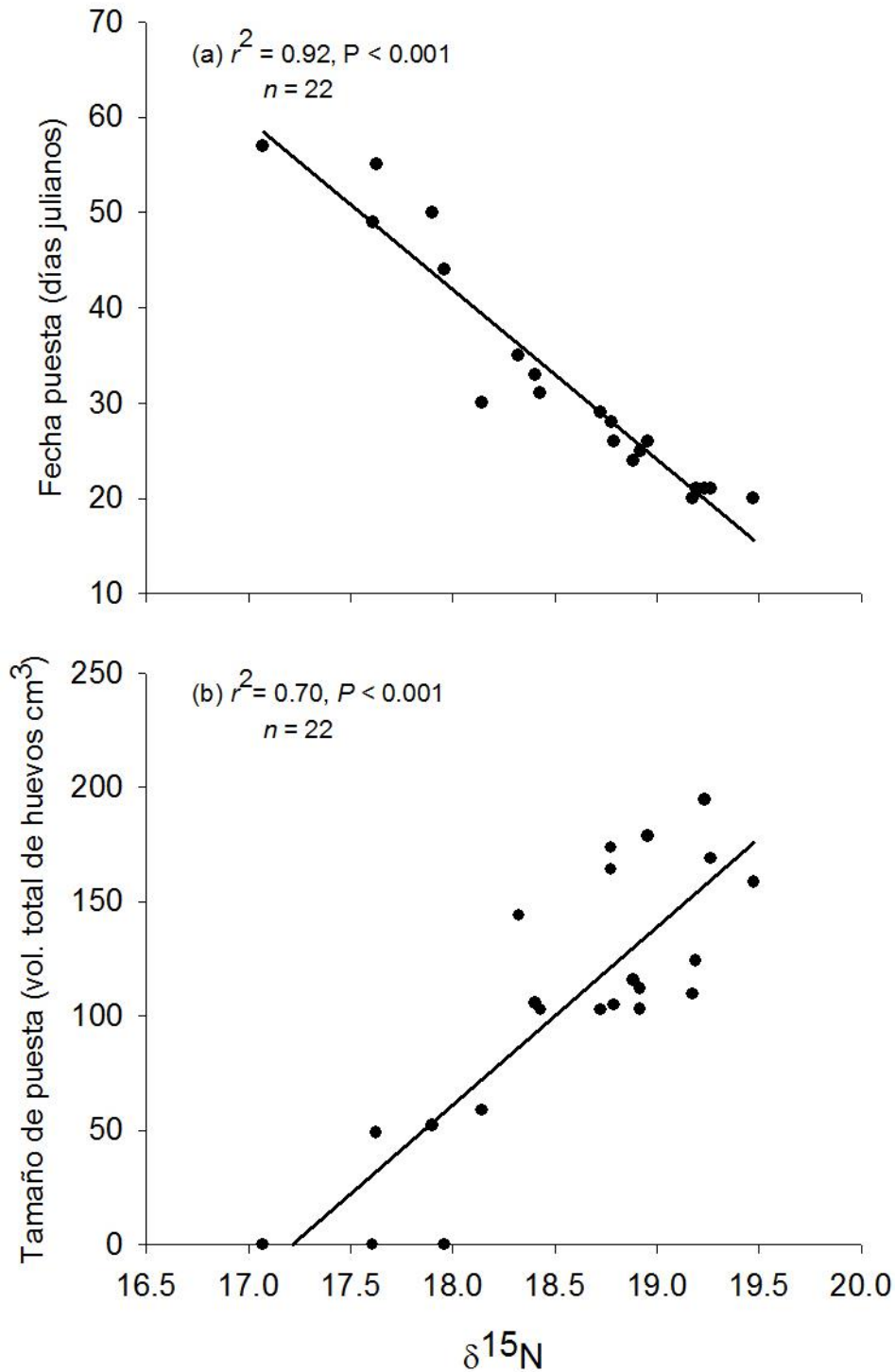


Figura 9. Relación entre los valores de $\delta^{15}\text{N}$ con: (a) la fecha de puesta y (b) el tamaño de puesta (volumen total de huevos, cm^3) durante el periodo de incubación. Los valores de $\delta^{15}\text{N}$ disminuyen en función de la fecha de puesta y aumentan con el tamaño de puesta.

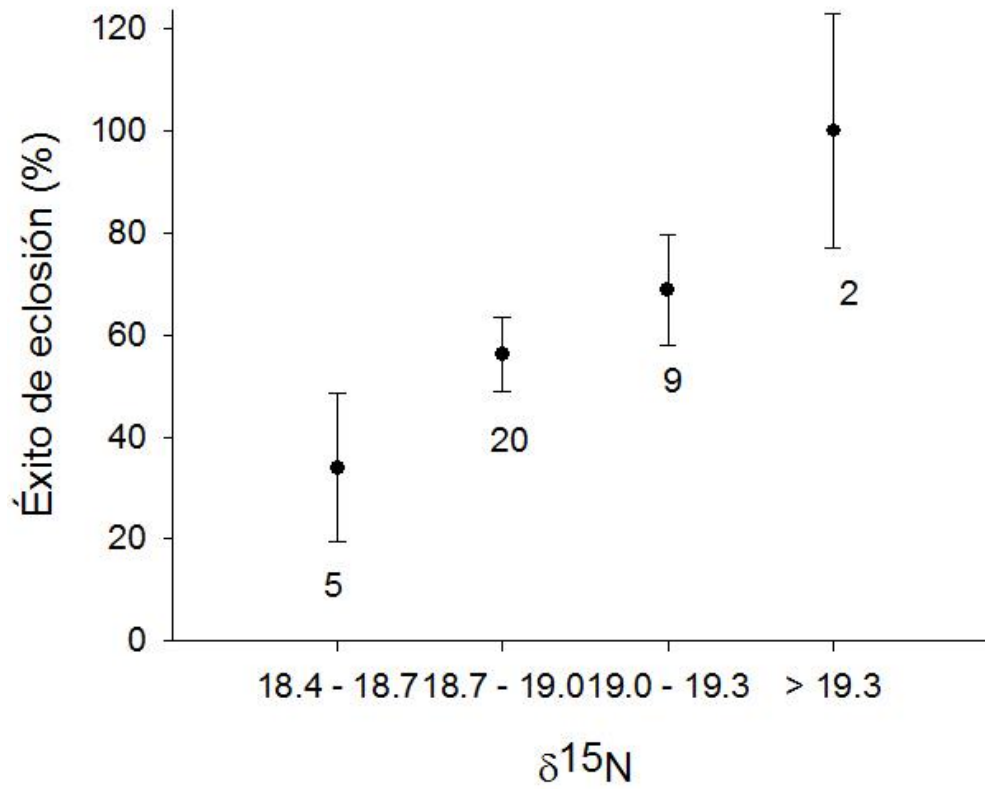


Figura 10. Relación entre los valores de $\delta^{15}\text{N}$ del periodo de incubación y el éxito de eclosión en las hembras del bobo de patas azules (*Sula nebouxi*). El número ubicado debajo de la barra de error representa el tamaño de la muestra.

Tabla VI. Resumen de la composición de la dieta estimada en las hembras del bobo de patas azules (*Sula nebouxii*) en función de la fecha de puesta (anidación temprana vs anidación tardía) basado en el análisis isotópico de presas obtenidas por regurgitados de las aves ($n = 121$) colectadas en la isla de El Rancho, durante las temporadas reproductivas (2011 y 2012). La composición de la dieta se estimó sobre la base de los valores de sangre entera de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ utilizando modelos de mezcla de SIAR (Parnell *et al.* 2010), se presentan estimaciones promedio con IC del 95% (entre paréntesis). Las especies de presas dominantes se presentan marcadas en color gris.

Especies de presas	Kcal/g (peso fresco)	Razón C:N	Anidantes tempranos	Anidantes tardíos
<i>Anchoa sp</i>	5.3 ¹	3.44	7.18 (0-18)	13.15 (0-26)
<i>Centengraulis mysticetus</i>	6.96 ²	5.57	31.12 (7-54)	15.95 (0-30)
<i>Opisthonema libertate</i>	4.29 ²	5.87	46.49 (29-62)	17.42 (0-34)
<i>Scomber australasicus</i>	1.87 ³	3.68	3.08 (0-8)	10.99 (0-23)
<i>Engraulis mordax</i>	1.42 ⁴	3.71	2.97 (0-8)	10.81 (0-23)
<i>Decapterus macarellus</i>	1.38 ⁵	4.01	2.22 (0-6)	10.0 (0-22)
<i>Hyporhamphus unifasciatus</i>	1.41 ⁵	3.34	4.99 (0-13)	12.45 (0-25)
<i>Hemiramphus saltator</i>	1.51 ⁵	3.52	1.95 (0-5)	9.22 (0-21)

¹Castro-González *et al.* 1998, ²Hleap *et al.* 2010, ³Smith 2011, ⁴Bykov 1983, ⁵Hernández Aguilar 2012.

V.5. DISCUSIÓN

Las hembras con una composición isotópica más enriquecida en ^{15}N en la sangre durante los periodos de cortejo e incubación se relacionaron con una mejor condición corporal (mayores niveles de triglicéridos), con una fecha de puesta más temprana en la temporada, tamaño de puesta y éxito de eclosión mayores. El conjunto de resultados obtenidos muestra que la calidad del alimento consumido por las hembras del bobo de patas azules durante las etapas tempranas de la reproducción tiene consecuencias a corto plazo sobre el estado físico y rendimiento reproductivo.

Las hembras que inician la reproducción necesitan obtener fuentes de nutrientes necesarios para la producción de huevos (Walsberg 1983). Tanto lípidos como proteínas (principalmente albumina) son los principales recursos necesarios para la formación del huevo (Whittow 2002, Nager 2006), su consumo y metabolismo tienen repercusiones en la composición isotópica sanguínea de las

Tabla VII. Resumen de la composición de la dieta estimada en las hembras del bobo de patas azules (*Sula nebouxi*) en función del tamaño de puesta basado en el análisis isotópico de presas obtenidas por regurgitados de las aves ($n = 121$) colectadas en la isla de El Rancho, durante las temporadas reproductivas (2011 y 2012). La composición de la dieta se estimó sobre la base de los valores de sangre entera de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ utilizando modelos de mezcla de SIAR (Parnell *et al.* 2010), se presentan estimaciones promedio con IC del 95% (entre paréntesis). Las especies de presas dominantes se presentan marcadas en color gris.

Especies de presas	Kcal/g (peso fresco)	Razón C:N	Razón			
			0-huevos	1-huevo	2-huevos	3-huevos
<i>Anchoa sp</i>	5.3 ¹	3.44	12.86 (0-25)	12.89 (0-25)	8 (0-21)	12.05 (0-27)
<i>Centengraulis mysticetus</i>	6.96 ²	5.57	13.53 (0-26)	14.63 (0-28)	24.43 (0-48)	20.26 (0-40)
<i>Opisthonema libertate</i>	4.29 ²	5.87	13.73 (0-26)	15.6 (0-29)	47.16 (21-69)	28.54 (3-56)
<i>Scomber australasicus</i>	1.87 ³	3.68	12.15 (0-24)	11.55 (0-29)	4.09 (0-11)	8.08 (0-20)
<i>Engraulis mordax</i>	1.42 ⁴	3.71	12.03 (0-24)	11.48 (0-24)	3.91 (0-11)	7.86 (0-20)
<i>Decapterus macarellus</i>	1.38 ⁵	4.01	11.76 (0-23)	10.77 (0-23)	3.06 (0-11)	6.52 (0-18)
<i>Hyporhamphus unifasciatus</i>	1.41 ⁵	3.34	12.48 (0-24)	12.61 (0-25)	6.48 (0-17)	10.72 (0-25)
<i>Hemiramphus saltator</i>	1.51 ⁵	3.52	11.45 (0-23)	10.46 (0-22)	2.85 (0-8)	5.96 (0-17)

¹Castro-González *et al.* 1998, ²Hleap *et al.* 2010, ³Smith 2011, ⁴Bykov 1983, ⁵Hernández Aguilar 2012.

aves (Bearhop *et al.* 2000, Post *et al.* 2007, Cherel *et al.* 2005b). Las hembras del bobo de patas azules presentan niveles elevados de triglicéridos en plasma previo a la puesta de los huevos, mientras que los niveles de butirato (indicador de uso de reservas energéticas) y albumina en plasma sanguíneo no muestran variaciones durante la reproducción, lo cual indica que es poco probable que el enriquecimiento en los valores de $\delta^{15}\text{N}$ que observamos en las hembras que se deba a un efecto fisiológico asociado al catabolismo de las proteínas y uso de reservas endógenas. (Lerma-Lizarraga 2014, González-Medina sin publicar). Más bien, se debe a la selectividad en la dieta de las hembras. La relación positiva que encontramos entre el nivel de triglicéridos y los valores de $\delta^{15}\text{N}$ durante cortejo e incubación es consistente con esta explicación. Otra posibilidad del enriquecimiento de $\delta^{15}\text{N}$ en las hembras podría ser las variaciones estacionales de las presas, aunque se tendría que evaluar en un futuro para poderlo corroborar.

Los resultados obtenidos en nuestro estudio mostraron un vínculo estrecho entre el nivel de alimentación trófica, la calidad del alimento y la condición corporal, que a su vez se relacionan con el éxito reproductivo. Las hembras del bobo de patas azules que presentaron una condición corporal y éxito reproductivo elevado se alimentaron de anchoveta y pajarito plateado, las presas con mayor cantidad de energía disponible (Kcal/g peso fresco) y lípidos (razón C:N). Estudios previos en aves marinas registraron un efecto positivo en la condición corporal (masa corporal) asociado al consumo de presas enriquecidas en ^{15}N (Forero *et al.* 2002 *Spheniscus magellanicus*, Moody *et al.* 2012 *Uria lomvia* y *Rissa tridactyla*). Aunque otros estudios, no establecieron una relación significativa entre valores de $\delta^{15}\text{N}$ y la condición corporal; Sorensen *et al.* 2009), o la relación fue negativa (Janssen *et al.* 2009). Estos resultados contradictorios pueden ser consecuencia del método de estimación de la condición corporal, ya que en esos estudios se utilizó como medida la masa corporal (controlada por tamaño corporal, lo cual puede ser un estimador poco adecuado de la condición corporal, especialmente si la relación es no-lineal (Hayes y Shonkwiler 2001). En nuestro estudio, hubo una fuerte relación entre el alimento que consumieron las hembras y la condición

corporal medida con base en metabolitos plasmáticos (triglicéridos), los cuales han demostrado ser un indicador sensible de reservas corporales en aves, y además aportan información sobre la magnitud o dirección del cambio que dicha condición está experimentando en un determinado momento a diferencia de la masa corporal que es una medida estática (Williams *et al.* 1999), por lo tanto se demuestra la importancia a corto plazo del alimento en la fisiología de las hembras.

La variación individual de la fecha de puesta ha sido asociada a la condición corporal del ave, su edad y/o su experiencia reproductiva (Sydeman *et al.* 1991, Robinson *et al.* 2005). Los individuos con mejor condición suelen anidar a principios de la temporada de reproducción en las colonias, con puestas más grandes y con mayor éxito reproductivo en comparación con los de menor condición corporal (Sydeman *et al.* 1991, De Forest y Gaston 1996, Harris y Wanless 2004). Las aves que acumulan rápidamente las reservas de grasa corporal necesarias para la reproducción pueden exhibir diferencias en la eficiencia de forrajeo (Sydeman *et al.* 1991). Nuestros resultados indicaron que las hembras que se alimentaron de presas con mayor contenido calórico y lipídico (razón C:N), y que presentaron niveles mayores de triglicéridos, anidaron primero en la temporada, con un tamaño de puesta y éxito de eclosión mayor con respecto a las que se alimentaron de presas de menor calidad. Esto es concordante con estudios que señalan que el éxito reproductivo declina conforme avanza la fecha de puesta (Perdeck y Cavé 1992, Rowe *et al.* 1994, Harris y Wanless 2004), aunque en nuestro caso, la condición y los parámetros reproductivos están ligados al alimento consumido.

El volumen del huevo refleja la capacidad de las hembras para asignar reservas de nutrientes para la formación del huevo (Gilmour *et al.* 2015), y es un rasgo con una alta plasticidad que está limitado por las condiciones de alimentación previo a su puesta (Karell *et al.* 2008). La formación del huevo requiere de nutrientes, especialmente lípidos y proteínas (Ankney y Alisauskas 1991, Nager 2006). En el caso de las hembras del bobo de patas azules su

tamaño de puesta normal (2 huevos) representa aproximadamente 7.2% de la masa de las hembras (Nelson 1978). Nuestros resultados, al igual que otros estudios (Monaghan *et al.* 1996, Selman y Houston 1996, Williams 1996), mostraron una correlación positiva entre tamaño de puesta (volumen total de los huevos) y el nivel trófico de alimentación. Las hembras del bobo de patas azules que no anidaron o solo pusieron un huevo presentaron los valores isotópicos menos enriquecidos en ^{15}N y una condición corporal baja, pues se alimentaron en proporciones menores de las presas de mayor calidad (las de mayor contenido energético y de lípidos). El hecho de que algunas hembras no hayan anidado y/o hayan puesto un solo huevo, puede sugerir una limitación fisiológica que impida la formación de los huevos, y que por lo tanto la inversión reproductiva se vea restringida. Otra posibilidad es que las hembras con menor tamaño de puesta sean de menor edad y/o experiencia, pues se les ha vinculado con una menor masa corporal al inicio de la reproducción y un menor éxito de captura de presas (Dunn 1972, Limmer y Becker 2007), lo cual también podría provocar una menor capacidad para asignar reservas para la reproducción.

Se ha resaltado la importancia de la condición corporal como predictor del éxito reproductivo en las aves, y se ha postulado que la cantidad de reservas al inicio de la reproducción, regulado por las condiciones ambientales, influye sobre el gasto energético dedicado a la reproducción (Drent y Daan 1980). Lo anterior implica que la calidad del alimento que consumen las hembras puede tener repercusiones directas a corto plazo sobre su rendimiento reproductivo. Hay una serie de estudios que relacionan la condición corporal de las hembras con el éxito reproductivo (Chastel *et al.* 1995 *Halobaena caerulea*, Crawford *et al.* 2008 *Eudyptes chrysocome*). Se sabe que cuando las aves se enfrentan a la escasez de alimentos a inicios de la reproducción, las hembras pueden responder en corto plazo reduciendo el tamaño de la puesta (Penniman *et al.* 1990), o incluso reduciendo el tamaño de los huevos (Grindstaff *et al.* 2005). En este contexto, la cantidad y/o calidad del alimento consumido es de gran importancia. La hipótesis de comida de desecho (junk-food hypothesis) postula que las aves marinas que se alimentan de presas con poco valor nutricional y energético reducen su éxito

reproductivo (Piatt y Anderson 1996). Esto se debe a que afecta la condición corporal de las hembras, así como los patrones de crecimiento de las crías y limita sus capacidades cognitivas (Wanless *et al.* 2005). Cabe señalar que la hipótesis sustenta que el éxito reproductivo se reduce como consecuencia de los efectos negativos sobre las crías. Sin embargo, según nuestros resultados, el efecto del consumo de alimentos de baja calidad tiene efectos más amplios, que es detectable desde la etapa de producción del huevo (antes de la eclosión de las crías).

Nuestros resultados en su conjunto sugieren que las diferencias individuales en el consumo de presas previo a la crianza, influyeron a corto plazo en su condición corporal y rendimiento reproductivo de las hembras del bobo de patas azules. Varios estudios han demostrado que el rendimiento reproductivo puede estar influenciado por factores ambientales, así como la fisiología individual durante los periodos reproductivos y no reproductivos (Yerkes *et al.* 2008, Crossin *et al.* 2013). Las hembras parecen depender de presas específicas (enriquecidas en ^{15}N , mayor contenido energético y lipídico) que les permiten maximizar su reproducción sin incurrir en costos reproductivos que afecten su supervivencia. Sin embargo, los cambios ambientales que modifican la estructura trófica (como el fenómeno El Niño, o el calentamiento global) ocasionan una disminución en la disponibilidad de los pelágicos menores, lo que implicaría que solo las hembras con mejores habilidades individuales de forrajeo serían capaces de reproducirse. Los ajustes que exhibieron las hembras del bobo de patas azules en la inversión reproductiva basadas en su condición corporal individual, nos indican que se prioriza el auto-mantenimiento (supervivencia) a expensas del éxito reproductivo, lo cual es consistente con la teoría de historia de vida para organismos de vida larga como lo son las aves marinas.

V.6. AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a M. Guevara, A. Mendoza, M. Leal, M. Arvizú, S. Rendón, M. Lerma, F. Quesada, J.P. Ceyca, A. Leal, D. Brito, C. Franco, y N. Albano por su

ayuda durante el trabajo de campo; M.R. Barradas, J. Simancas y Ricardo por su apoyo en el laboratorio de isotopos estables del Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE) y P. Castro por brindarnos el transporte a las isla y mantenernos con bien. Este proyecto fue financiado por el Fondo Mexicano para la Conservación de la Naturaleza A.C. (PIE-2012-A-P-C-IGSI-12-12), CONACYT (No. I010/176/2012), Sonoran Joint Venture, Pronatura México A.C. E. González-Medina fue apoyado mediante una beca de Doctorado proporcionada por CONACYT (Programa de Doctorado en Ciencias del Mar y Limnología, UNAM #201218). La colecta de datos cumple con las leyes vigentes en el país y se llevó a cabo bajo los permisos de la Dirección General de Vida Silvestre (SGPA/DGVS/08559/11). Este documento constituye el cumplimiento parcial del Programa de Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología-UNAM.

V.7. REFERENCIAS

- Albano N, Masero JA, Sánchez-Guzmán JM, Villegas A, Santiago-Quesada F (2011). Effects of diet on growth-related patterns of energy and macronutrient assimilation efficiency in a semi-precocial bird, the Gull-billed Tern *Gelochelidon nilotica*. *Ardea* 99:93–101.
- Alonso-Álvarez C, Velando A, Ferrer M, Veira JAR (2002). Changes in plasma biochemistry and body mass during incubation in the yellow-legged gull. *Waterbirds* 25: 253–258.
- Ancona S, Sánchez-Colón S, Rodríguez C, Drummond H (2011). El Niño in the warm tropics: local sea temperature predicts breeding parameters and growth of blue-footed boobies. *J. Anim. Ecol.* 80:799–808.
- Anderson DJ (1989). Differential responses of boobies and other seabirds in the Galápagos to the 1986–87 El Niño southern oscillation event. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 52:209–216.
- Anderson DJ, Ricklefs R (1992). Brood size and food provisioning in masked and blue-footed boobies (*Sula* spp.). *Ecology* 73:1363–1374.
- Ankney CD, Alisauskas RT (1991). Nutrient-reserve dynamics and diet of breeding female gadwalls. *Condor* 93:799–810.
- Bearhop S, Adams CE, Waldron S, Fuller RA, MacLeod H (2004). Determining trophic niche width: a novel approach using stable isotope analysis. *J. Anim. Ecol.* 73:1007–1012.

- Bearhop S, Teece MA, Waldron S, Furness RW (2000). The influence of lipid and uric acid $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values in avian blood: implications for trophic studies. *Auk* 117:504–507.
- Bearhop S, Waldron S, Votier SC, Furness RW (2002). Factors that influence assimilation rates and fractionation of nitrogen and carbon stable isotopes in avian blood and feathers. *Physiol. Biochem. Zool.* 75:451–458.
- Becker BH, Beissinger SR (2006). Centennial decline in the trophic level of an endangered seabird after fisheries decline. *Conserv. Biol.* 20:470–479.
- Becker BH, Peery MZ, Beissinger SR (2007). Ocean climate and prey availability affect the trophic level and reproductive success of the Marbled Murrelet, an endangered seabird. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 329:267–279.
- Bykov VP (1983). *Marine Fishes: Chemical composition and processing properties.* New Delhi: Amerind Publishing Co. Pvt. Ltd.
- Castillo-Guerrero JA, Mellink E (2011). Occasional inter-sex differences in diet and foraging behavior of the Blue-footed Booby: maximizing chick rearing in a variable environment? *J. Ornithol.* 152:269–277.
- Castro-González MI, Silencio Barrita JL, Juárez Silva ME, Montaña Benavides S, Pérez-Gil Romo F (1998). Composición química de la fauna de acompañamiento del camarón de Veracruz (Golfo de México). *Rev. Biol. Trop.* 46:249–256.
- Chastel O, Weimerskirch H, Jouventin P (1995). Body condition and seabird reproductive performance: a study of three petrel species. *Ecology* 76:2240–2246.
- Cherel Y, Hobson KA, Hassani S (2005a). Isotopic discrimination factors between food and blood and feathers of captive penguins: implications for dietary studies in the wild. *Physiol. Biochem. Zool.* 78:106–115.
- Cherel Y, Hobson KA, Bailleul FR, Groscolas R (2005b). Nutrition, physiology, and stable isotopes: new information from fasting and molting penguins. *Ecology* 86:2881–2888.
- Clifford LD, Anderson DJ (2001). Food limitation explains most clutch size variation in the Nazca booby. *J. Anim. Ecol.* 70:539–545.
- Crawford RJM, Makhado AB, Upfold L, Dyer BM (2008). Mass on arrival of rockhopper penguins at Marion Island correlated with breeding success. *Afr. J. Marine Sci.* 30:185–188.
- Crossin GT, Phillips RA, Lattin CR, Romero LM, Williams TD (2013). Corticosterone mediated costs of reproduction link to current future breeding. *Gen. Comp. Endocrinol.* 193:112–120.
- De Forest L, Gaston A (1996). The effect of age on timing of breeding and reproductive success in the Trick-billed Murre. *Ecology* 77:1501–1511.

- Dentressangle F, Boeck L, Torres R (2008). Maternal investment in eggs is affected by male feet colour and breeding conditions in the blue-footed booby, *Sula nebouxii*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 62:1899–1908.
- Drent RH, Daan S (1980). The prudent parent: energetic adjustments in avian breeding. *Ardea* 68:225–252.
- Dunn EK (1972). Effect of age on the fishing ability of Sandwich Terns *Sterna sandvicensis*. *Ibis* 114:360–366.
- Engilis A, Oring LW, Carrera E, Nelson JW, Martinez-Lopez A (1998). Shorebird surveys in Ensenada Pabellones and Bahia Santa Maria, Sinaloa, Mexico: critical winter habitats for Pacific Flyway shorebirds. *Wilson Bull.* 110:332–341.
- Forero MG, Hobson KA, Bortolotti GR, Donázar JA, Bertellotti M, Blanco G (2002). Food resource utilisation by Magellanic penguin evaluated through stable isotope analysis: segregation by sex and age and influence of offspring quality. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 234:289–299.
- Gasparini J, Boulinier T, Gill VA, Gil D, Hatch SA, Roulin A (2007). Food availability affects the maternal transfer of androgens and antibodies into eggs of a colonial bird seabird. *J. Evol. Biol.* 20:874–880.
- Gilmour ME, Lattin CR, Romero LM, Hausmann MF, Mauck RA, Dearborn DC (2015). Finding the best predictor of reproductive performance of Leach's Storm-Petrels. *Auk* 132:191–205.
- Giudici A, Navarro J, Juste C, González-Solís J (2010). Physiological ecology of breeders and sabbaticals in a pelagic seabird. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 389:13–17.
- Grindstaff JL, Demas GE, Ketterson ED (2005). Diet quality affects egg size and number but does not reduce maternal antibody transmission in Japanese quail *Coturnix japonica*. *J. Anim. Ecol.* 74:1051–1058.
- Hahn S, Hoyer BJ, Korthals H, Klaassen M (2012). From food to offspring down: tissue-specific discrimination and turn-over of stable isotopes in herbivorous waterbirds and other avian foraging guilds. *PLoS One* 7:e30242.
- Harris M, Wanless S (2004). Extremely late laying by Guillemonts *Uria aalge* can be successful. *Bird Study* 51:31–93.
- Hayes JP, Shonkwiler JS (2001). Morphometric indicators of body condition: worthwhile or wishful thinking? En: *Body composition analysis of animals: a handbook of nondestructive methods* (Speakman JR ed). Cambridge University Press, Cambridge, pp 8–38.
- Hernández Aguilar SB (2012). Ecofisiología de la reproducción del pez vela *Istiophorus platypterus* en el Océano Pacífico Mexicano. Tesis de doctorado, Instituto Politécnico Nacional-Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, La Paz, Baja California Sur.

- Hleap JI, Gutiérrez A, Rivera LJ (2010). Análisis microbiológico y sensorial de productos elaborados a partir de surimi de *Carduma* (*Cetengraulis mysticetus*) y Plumuda (*Opisthonema spp.*). Facultad de Ciencias Agropecuarias 8:57–65.
- Hoyt DF (1979). Practical methods of estimating volume and fresh weight of bird eggs. *Auk* 96:73–77.
- Ito M, Minami H, Tanaka Y, Watanuki Y (2009). Seasonal and inter-annual oceanographic changes induce diet switching in a piscivorous seabird. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 393:273–284.
- Janssen MH, Arcese P, Kyser TK, Bertram DF, McFarlane-Tranquilla L, Williams T, Norris D (2009). Pre-breeding diet, condition, and timing of breeding in a threatened seabird, the marbled murrelet *Brachyramphus marmoratus*. *Mar. Ornithol.* 37:33–40.
- Jenni-Eiermann S, Jenni L (1998). What can plasma metabolites tell us about the metabolism, physiological state and condition of individual birds? An overview. *Biol. Conserv. Fauna* 102:312–319.
- Karell P, Kontiainen P, Pietiainen H, Siitari H, Brommer JE (2008). Maternal effects on offspring Igs and egg size in relation to natural and experimentally improved food supply. *Funct. Ecol.* 22:682–690.
- Lerma-Lizarraga M (2014). Condición corporal y concentración de metales pesados (Hg, Pb, Cd y Zn) en *Sula nebouxii* durante la época reproductiva en la Isla El Rancho, Sinaloa. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México, Distrito Federal, México.
- Limmer B, Becker PH (2007). The relative role of age and experience in determining variation in body mass during the early breeding career of the common tern (*Sterna hirundo*) *Behav. Ecol. Sociobiol.* 61:1885–1896.
- Litzow MA, Piatt JF, Prichard AK, Roby DD (2002). Response of Pigeon Guillemots to variable abundance of high-lipid and low-lipid prey. *Oecologia* 132:286–295.
- MacCluskie MC, Sedinger JS (2000). Nutrient reserve and clutch-size regulation of northern shovelers in Alaska. *Auk* 117:971–979.
- McCutchan JH, Lewis WM, Kendall C, McGrath CC (2003). Variation in trophic shift for stable isotope ratios of carbon, nitrogen and sulfur. *Oikos* 102:378–390.
- Martin TE (1987). Food as a limit on breeding birds: a life-history perspective. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 18:453–487.
- Martin TE (2004). Avian life-history evolution has an eminent past: does it have a bright future? *Auk* 121:289–301.
- Moody AT, Hobson KA, Gaston AJ (2012). High-arctic seabird trophic variation revealed through long-term isotopic monitoring. *J. Ornithol.* 153:1067–1078.

- Monaghan P, Metcalfe NB, Houston DC (1996). Male finches selectively mate with fecund finches. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 263:1183–1186.
- Monaghan P, Nager RG, Houston DC (1998). The price of eggs: increased investment in egg production reduces the offspring rearing capacity of parents. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 265: 1731–1735.
- Nager RG (2006). The challenges of making eggs. *Ardea* 94:323–346.
- Navarro J, González-Solís J (2007). Experimental increase of flying costs in a pelagic seabird: effects on foraging strategies, nutritional state and chick condition. *Oecologia* 151:150–160.
- Nelson JB (1978). The Sulidae: gannets and boobies. Oxford University Press, Oxford.
- Nelson JB (2005). Pelicans, cormorants and their relatives. The Pelecaniforms. Oxford: Oxford University Press, Oxford.
- Norris DR, Arcese P, Preikshot D, Bertram DF, Kyser TK (2007). Diet reconstruction and historic population dynamics in a threatened seabird. *J. Appl. Ecol.* 44:875–884.
- Oro D, Jover L, Ruiz X (1996). Influence of trawling activity on the breeding ecology of a threatened seabird, Audouin's gull *Larus audouinii*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 139:19–29.
- Parnell A, Inger R, Bearhop S, Jackson AL (2008). Stable isotope analysis in R (SIAR). <http://cran.r-project.org/web/packages/siar/index.html>.
- Parnell AC, Inger R, Bearhop S, Jackson AL (2010). Source partitioning using stable isotopes: coping with too much variation. *PLoS ONE* 5: e9672.
- Penniman TM, Coulter MC, Spear LB, Boekelheide RJ (1990). Western Gull. En: Seabirds of the Farallon Islands (Ainley DG, Boekelheide RJ, eds.) Stanford Univ. Press, Stanford, CA. pp. 218-244.
- Peña Alvarez B (2009). Variación de la fecha de puesta del bobo de patas azules. Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México, Distrito Federal, México.
- Perdeck A, Cavé A (1992). Laying date in the coot: effects of age and mate choice. *J. Anim. Ecol.* 61:13–19.
- Piatt, JF, Anderson P (1996). Response of common murrelets to the Exxon Valdez oil spill in the Gulf of Alaska Marine Ecosystem. En: *Exxon Valdez Oil Spill Symposium Proceedings* (Rice SD, Spies RB, Wolfe DA, Wright BA eds). American Fisheries Society Symposium, Bethesda, MD: American Fisheries Society, pp. 712–719.
- Post DM (2002). Using stable isotopes to estimate trophic position: Models, methods and assumptions. *Ecology* 83:703–718.

- Post DM, Layman CA, Albrey Arrington D, Takimoto G, Quattrochi J, Montana CG (2007). Getting to the fat of the matter: models, methods and assumptions for dealing with lipids in stable isotope analyses. *Oecologia* 152:179–189.
- Quillfeldt P, Masello JF, Möstl E (2004). Blood chemistry in relation to nutrition and ectoparasite load in Wilson's storm-petrels *Oceanites oceanicus*. *Polar Biol.* 27:168–176.
- R Development Core Team (2007). R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. <http://www.r-project.org/>. ISBN 3–900051–07–0.
- Robinson S, Chiaradia A, Hindell M (2005). The effect of body corporal condition on the timing and success of breeding in Little Penguins *Eudyptula minor*. *Ibis* 147:483–489.
- Romano MD, Piatt JF, Roby DD (2006). Testing the junk-food hypothesis on marine birds: Effects of prey type on growth and development. *Waterbirds* 29:407–414.
- Rowe L, Ludwig D, Schluter D (1994). Time, condition and the seasonal decline of avian clutch size. *Am. Nat.* 143:698–722.
- Selman R, Houston DC (1996). The effect of prebreeding diet on reproductive output in zebra finches. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 263:1585–1588.
- Smith I (2011). Meat Weight, Nutritional and Energy Yield Values for New Zealand Archaeofauna. Otago Archaeological Laboratory Report: Number 8. Otago Archaeological Laboratory, Anthropology Department, University of Otago www.otago.ac.nz/anthropology/anth/publications/OALR/.
- Sorensen MC, Hipfner JM, Kyser TK, Norris DR (2009). Carry-over effects in a Pacific seabird: stable isotope evidence that pre-breeding diet quality influences reproductive success. *J. Anim. Ecol.* 78:460–467.
- Sydeman W, Penniman J, Penniman T, Pyle P, Ainley D (1991). Breeding performance in the western gull: effects of parental age, timing of breeding and year in relation to food availability. *J. Anim. Ecol.* 60:135–149.
- Vanderklift MA, Ponsard S (2003). Sources of variation in consumer-diet ¹⁵N enrichment: a meta-analysis. *Oecologia* 136:169–182.
- Vanderkist BA, Williams TD, Bertram DF, Lougheed LW, Ryder JL (2000). Indirect, physiological assessment of reproductive state and breeding chronology in free-living birds: an example in the Marbled murrelet (*Brachyramphus marmoratus*). *Funct. Ecol.* 14:758–765.
- Villegas A, Masero JA, Corbacho C, Gutiérrez JS, Albano N, Sánchez-Guzmán JM (2013). Sex-specific vulnerability to breeding conditions in chicks of the sexually monomorphic gull-billed tern. *J. Ornithol.* 154:431–439.
- Walsberg GE (1983). Ecological energetics: what are the questions? En: Perspectives in Ornithology (Bush AH y Clark GA eds). Cambridge University Press, Cambridge, pp. 135–158.

- Wanless S, Harris MP, Redman P, Speakman JR (2005). Low energy value of fish as a probable cause of a major seabird breeding failure in the North Sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 294:1–8.
- Weimerskirch H, Shaffer SA, Tremblay Y, Costa DP, Gadenne H, Kato A, Ropert-Coudert Y, Sato K, Aurioules D (2009). Species- and sex-specific differences in foraging behaviour and foraging zones in blue-footed and brown boobies in the Gulf of California. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 391:267–278.
- Williams TD (1996). Variation in reproductive effort in female zebra finches *Taeniopygia guttata* in relation to nutrient-specific dietary supplements during egg-laying. *Physiol. Zool.* 69:1255–1275.
- Williams GC (2005). Mechanisms underlying the costs of egg production. *BioScience* 55:39–48.
- Williams TD, Guglielmo CG, Egeler O, Martyniuk CJ (1999). Plasma lipid metabolites provide information on mass change over several days in captive Western Sandpiper. *Auk* 116:994–1000.
- Whittow GC (2002). Seabird reproductive physiology and energetics. En: *Biology of Marine Birds* (Schreiber EA y Burger J eds). U.S.A: CRC Press, pp. 409–437.
- Yerkes T, Hobson KA, Wassenaar LI, MacLeod R, Coluccy JM (2008). Stable isotopes (δD , $\delta^{13}C$, $\delta^{15}N$) reveal associations among geographic location and condition of Alaskan Northern Pintails. *J. Wildl. Manage.* 72:715–725.
- Zavalaga CB, Benvenuti S, Dall'Antonia L, Emslie SD (2007). Diving behavior of the blue-footed boobies *Sula nebouxii* in northern Peru in relation to sex, body size and prey type. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 336:291–303.
- Zavalaga CB, Benvenuti S, Dall'Antonia L, Emslie SD (2008). Foraging areas of breeding blue-footed boobies *Sula nebouxii* in northern Peru, as determined by direction recorders. *J. Avian Biol.* 39:405–412.

Conclusión general



En los capítulos anteriores se evaluó como las necesidades de las crías y el tipo y/o calidad de alimento inciden en la regulación de las decisiones reproductivas en el bobo de patas azules (*Sula nebouxii*). Los resultados obtenidos indican que los ajustes realizados por los padres generaron costos en el corto plazo que se compartieron con su descendencia, pero sin efectos aparentes en la supervivencia inmediata de las crías. Se determinó que la especie puede ajustar su esfuerzo reproductivo en respuesta a las necesidades de las crías y a la calidad/tipo de alimento disponible, lo cual le confiere una ventaja adaptativa al vivir en un sistema de alta variabilidad ambiental como lo es el Golfo de California, donde la estructura trófica depende de las surgencias estacionales.

En el capítulo II se determinó que los padres del bobo de patas azules son capaces de modificar su esfuerzo de forrajeo en respuesta a la variación en la demanda por alimento de sus crías y mantuvieron el valor de la reproducción. Sin embargo, el realizar ajustes tuvo costos que se evidenciaron en su estado fisiológico e inmunológico (p. ej. mayor nivel de estrés, mayor desgaste muscular, etc.) cuando las demandas se incrementaron, y con beneficios (p. ej. menor nivel de estrés, menor desgaste muscular) cuando las demandas de las crías disminuyeron. En el capítulo III se evidenció que aunque los padres hacen ajustes para satisfacer las demandas de alimento de las crías, estas fueron insuficientes y se transmitieron parte de los costos (efectos fisiológicos e inmunológicos) hacia sus crías. Sin embargo, la magnitud de estos costos no fue suficiente para que se activara el mecanismo de fratricidio facultativo en esta especie y para que la supervivencia de las crías se viera afectada. La capacidad de regular el esfuerzo reproductivo por parte de los padres en respuesta a las demandas de las crías parece desempeñar un papel importante para garantizar el éxito reproductivo en un sistema de alta variabilidad ambiental.

En cuanto al papel de la alimentación, se determinó que los padres son selectivos y eligen presas más enriquecidas en ^{15}N para alimentar a sus crías con respecto a las que consumen ellos (capítulo IV). Estos resultados concuerdan con

la teoría del forrajeo óptimo, que predice que el forrajeo de los padres está enfocado en maximizar la ganancia neta de energía, entregando el alimento de mayor calidad nutricional para sus crías, ya que la energía entregada depende del porcentaje de provisión de energía, que incrementan al maximizar la entrega de presas de tamaño, contenido energético y calidad mayor. El aplicar una estrategia de forrajeo de optimización es una ventaja adaptativa que les permite a los bobos de patas azules vivir y reproducirse en un ambiente con fluctuaciones en la disponibilidad de recursos. Esta estrategia le confiere beneficios a la especie, tanto a las crías (mejor crecimiento y mayor supervivencia) como a los padres (disminuye la cantidad de viajes de forrajeo e incrementa el éxito reproductivo).

Para entender las decisiones reproductivas de las aves al inicio de la reproducción es esencial comprender el papel que juega el alimento sobre la condición fisiológica individual. En el capítulo V se determinó que la calidad del alimento consumido por las hembras del bobo de patas azules al inicio de la reproducción incide a corto plazo en su condición fisiológica individual y en el rendimiento reproductivo. Las hembras con limitaciones en la calidad/tipo alimento consumido tuvieron una baja en los niveles de triglicéridos (indicando una condición corporal baja), que afectó sus decisiones reproductivas al no reproducirse y/o invertir una menor cantidad de energía para reproducirse. Esto demuestra que el tipo/calidad del alimento juega un papel importante en la regulación de las decisiones reproductivas durante la reproducción en el bobo de patas azules.

De acuerdo a la evidencia que existe para la especie de estudio, esperaba diferencias en los ajustes de inversión reproductiva dependientes a cada sexo. Sin embargo, los resultados obtenidos mostraron que las diferencias entre sexos fueron mínimas. Ambos sexos ajustaron en la misma magnitud y dirección su inversión reproductiva cuando se incrementaron o disminuyeron experimentalmente las demandas de sus crías. A su vez, la calidad y/o tipo de presas que consumieron ambos sexos mostraron ciertas inconsistencias entre temporadas y etapas reproductivas. Las hembras presentaron valores menos

enriquecidos en $\delta^{15}\text{N}$ que los machos durante el 2011, mientras que en 2012 la diferencia entre sexos se observó sólo en el periodo de incubación. A pesar de estas diferencias, el patrón temporal de enriquecimiento de ^{15}N que mostraron ambos sexos fue similar entre sexos. Durante nuestro trabajo los bobos experimentaron buenas condiciones ambientales, lo que pudo favorecer que la diferencia entre sexos fuera menor y en algunos casos no se observaran diferencias, ya que las diferencias detectadas entre sexos en el bobo de patas azules suelen ocurrir cuando existe escasez de alimentos de acuerdo a otros estudios. Nuestros resultados indican que ambos sexos tienen la capacidad de modificar su inversión reproductiva mediante ajustes en el comportamiento de forrajeo con consecuencias fisiológicas e inmunológicas, lo que les confiere la capacidad de mantener y/o incrementar el valor reproductivo de su nidada en un ambiente con variaciones amplias en la disponibilidad de presas.

En general este estudio aporta nuevas ideas respecto al papel que juegan las necesidades de las crías y la calidad y/o tipo de alimento en la toma de decisiones reproductivas de los padres en un ave marina de vida larga. El bobo de patas azules tiene la capacidad de regular su inversión reproductiva en función de ambos factores, pero con ciertos límites, de manera que las decisiones de inversión reproductiva que se llevan a cabo involucran tanto a factores intrínsecos (p. ej. condición fisiológica e inmunológica) como extrínsecos (p. ej. necesidades de alimento de crías, disponibilidad de presas, variabilidad ambiental). Los resultados de este trabajo indican que la especie posee una estrategia de inversión flexible, en la cual, los padres ajustan la cantidad de energía que invierten en la reproducción considerando las condiciones ambientales y la condición fisiológica e inmunológica individual.

Ambos sexos son capaces de ajustar su inversión reproductiva con el fin de maximizar el éxito reproductivo en un ambiente estocástico. Sin embargo, al realizar ajustes en su inversión parental, los padres pueden adquirir y/o transmitir hacia sus crías ciertos costos reproductivos (reflejados en su estado fisiológico e inmunológico), lo cual pareciera una desventaja, pero al menos para las crías del

bobo de patas azules no tiene consecuencias aparentes a corto y largo plazo sobre su supervivencia. A su vez, la calidad y/o tipo de alimento es un factor que influye en la toma de decisiones reproductivas, por ejemplo: bajo condiciones de escasez de alimento los padres disminuyen y/o dejan de invertir en la reproducción, mientras que bajo condiciones favorables de alimento se incrementa la inversión reproductiva, esto nos indica que la especie sigue una estrategia en la toma de decisiones de inversión reproductiva que consiste, por una parte una mayor inversión reproductiva bajo condiciones favorables, mientras que bajo condiciones desfavorables disminuyen su inversión para invertirlo a futuro al ser organismos de vida larga.

Afiliaciones y direcciones de los co-autores

José Alfredo Castillo-Guerrero¹

Guillermo Fernández²

Sharon Z. Herzka³

José A. Masero⁴

J. M. Sánchez-Guzmán⁴

Francisco Santiago-Quesada⁴

Auxiliadora Villegas⁴

¹ CONACYT Research Fellow – Centro Universitario de la Costa Sur, Universidad de Guadalajara. 48980 San Patricio–Melaque, Municipio de Cihuatlán, Jalisco, México.

² Unidad Académica Mazatlán, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México, 82040 Mazatlán, México.

³ Departamento de Oceanografía Biológica, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE), Baja, California, México.

⁴ Conservation Biology Research Group, Área de Zoología, Universidad de Extremadura, 06006 Badajoz, Spain.