



Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas

Centro de Estudios Avanzados

Postgrado en Ecología

**“Evolución de las llamadas de contacto en las subespecies
del perico cara sucia, *Aratinga pertinax*”**

Trabajo de Grado presentado como requisito parcial para optar al Título de *Magister Scientiarum*, mención Ecología.

Estudiante graduada: **Irene Zager Fernández**

Tutor de la tesis: **Dra. Kathryn Rodríguez-Clark**

Altos de Pipe, Abril de 2007

El Trabajo de Grado de Irene Zager Fernández titulado “Evolución de las llamadas de contacto en las subespecies del perico cara sucia, *Aratinga pertinax*”, ha sido aprobado por el jurado, quien no se hace responsable de su contenido, pero que lo ha encontrado correcto en su calidad y en su forma de presentación en fe de lo cual firman,

MARGARITA LAMPO

I. V. I. C.

JORGE LUIS PÉREZ

U. C. V.

KATHRYN RODRÍGUEZ-CLARK

Directora del Trabajo de Grado

I.V.I.C.

Centro de Estudios Avanzados, IVIC

Altos de Pipe, Abril 2007

RESUMEN DEL TRABAJO DE GRADO PRESENTADO PARA OPTAR
AL TÍTULO DE MAGISTER SCIENTIARUM
MENCIÓN ECOLOGÍA

**“Evolución de las llamadas de contacto en las subespecies del
perico cara sucia, *Aratinga pertinax*”**

Por

Irene Zager Fernández

Centro de Estudios Avanzados

Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas

I. V. I. C.

Caracas, Abril 2007

Kathryn Rodríguez-Clark

Tutor del Trabajo de Grado

Resumen

El complejo de subespecies de *Aratinga pertinax* resulta un sistema particularmente apropiado para estudiar la evolución vocal de los psitácidos. Con 14 subespecies reconocidas, distribuidas a través del norte de Suramérica y las islas del sur del Caribe, observaciones preliminares sugerían una mayor variabilidad en las llamadas de contacto (LLC) de las poblaciones insulares que las continentales. Dada la importante función que estas llamadas parecen cumplir en las interacciones sociales de los psitácidos, así como las graves amenazas que este grupo de aves enfrenta en la actualidad, la comprensión de los factores determinantes de esta variación podría probar ser de gran importancia para la implementación de programas de manejo y conservación. En este estudio buscamos investigar los procesos que pueden estar determinando la evolución de las LLC dentro del complejo del perico cara sucia. Para ello, realizamos la primera estimación de las relaciones filogenéticas entre las subespecies del complejo, basada en 1.581 pb del ADN mitocondrial, encontrando indicios de que a pesar de que la especie constituye un grupo monofilético, las poblaciones insulares no son recíprocamente monofiléticas entre sí, lo que sugiere que se originaron a partir de varios eventos de colonización desde la tierra firme suramericana. Estos resultados brindaron el marco filogenético necesario para interpretar los análisis de grabaciones de campo, los cuales nos permitieron comprobar la existencia del patrón de variación geográfica descrito previamente para esta especie, expresado en una mayor variabilidad de la duración de las llamadas en localidades insulares que en tierra firme. Dados nuestros resultados genéticos, inferimos que este patrón no es consecuencia de un efecto del linaje, sino el resultado de presiones selectivas diferenciales asociadas al reconocimiento de grupos. Finalmente, llevamos a cabo la primera evaluación del estatus poblacional de las subespecies insulares venezolanas, comprobando que su tasa de saqueo es muy alta en la actualidad (probablemente mayor al 50%) y que sus poblaciones parecen haberse reducido en las últimas décadas.

A mis padres

Agradecimientos

A la Dra. Kathryn Rodríguez-Clark y la Dra. Jessica Eberhard por sus enseñanzas, su guía, apoyo y palabras de aliento durante todo el proceso que ha sido el desarrollo de mi maestría y el presente Trabajo de Grado.

Al Dr. Jorge L. Pérez, por siempre estar dispuesto a brindarme su escaso tiempo para aclarar dudas o discutir sus valiosas sugerencias para el desarrollo del proyecto, y a la Dra. Margarita Lampo por sus sugerencias para mejorar el manuscrito.

A los Dres. Jon Paul Rodríguez y Jafet Nassar, por su ayuda y recomendaciones a lo largo de estos años.

A la Dra. Zaida Tárano, por introducirme al complejo mundo del análisis del sonido.

A José Rafael, el mejor amigo que alguien pudiera desear, por las muestras, la compañía durante los días largos y noches cortas de las salidas, y por su apoyo incondicional en los momentos de crisis. Su ayuda fue invaluable para llevar a cabo los análisis estadísticos de las vocalizaciones.

Al Dr. Emilio Herrera, por darme la oportunidad de iniciarme en el laboratorio y a Ascanio Rojas, por responder mis innumerables preguntas al respecto.

A Silvia Montagnini, por la colaboración prestada en las últimas etapas del trabajo de laboratorio.

A todas aquellas instituciones que de uno u otro modo permitieron financiar este proyecto: Whitley Laing Foundation, WISC, Lincoln Park Zoo, Cornell Lab of Ornithology, Raven Awards, Provita, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas y FONACIT (Proyecto No. 2001000902).

A todas las personas e instituciones que colaboraron en la obtención de muestras de tejido o secuencias: J. A. González, J. R. Ferrer París, familia Montiel-Villalobos, Colección Ornitológica Phelps (especialmente a su director M. Lentino), C. M. Milensky

y B. K. Schmidt (colectores de los tejidos provenientes de la División de Aves del Smithsonian Institution), T. Wright y E. Schirtzinger (del NMSU), C. Y. Miyaki, familia Delfino, LSU Museum of Natural Science Collection of Genetic Resources, Comando de Guardacostas de la Armada Venezolana y la tripulación de los patrulleros PG-33 “Albatros” y PG-410 “Pigarco” y Fundación La Salle-Tumeremo.

A la Oficina Administrativa de Permisos y Oficina Nacional de Diversidad Biológica del Ministerio del Ambiente y de los Recursos Naturales por otorgar los permisos para obtener las muestras de tejido y grabaciones necesarias (Permiso de Acceso a Recursos Genéticos N° 41-0022; Licencias de colecta con fines científicos: N° 41-0066 y N° 01-03-03-2416; Permisos CITES N°: 04US081324/9, 04US082267/9, 05US095260/9, 1658).

Al equipo del programa BioInsula de Provita, por su apoyo en las salidas de campo a la Isla de Margarita y La Tortuga, particularmente a Pablo A. Millán (La Jaula) y José M. Briceño Linares.

Al equipo del Ecosig, especialmente a Sergio Zambrano y Rodrigo Lazo, por aclarar mis innumerables preguntas respecto a la utilización de los programas de SIG con los cuales se elaboraron los mapas.

A Ana M. Pérez del CIET, por brindarme un espacio donde realizar los análisis.

A todos aquellos quienes me acompañaron y apoyaron durante mi estadía en el IVIC: Gaby, José Rafael, Ada, Gloria, José Antonio, Elmará, Laurie, Ileana, Sergio y Tina.

A mis queridos amigos, Beatriz, Mercedes y Arturo, por su apoyo incondicional y palabras de aliento, y simplemente por estar siempre allí.

A mi familia, por su paciencia, cariño y estímulo constantes. Sin ustedes, nada de esto hubiese sido posible.

Índice General

Resumen	iv
Agradecimientos	vi
Índice General	viii
Índice de Tablas	xi
Índice de Figuras	xiii
Capítulo 1: Introducción	1
Capítulo 2: Relaciones filogenéticas de las subespecies insulares del perico cara sucia, <i>Aratinga pertinax</i>.....	5
2.1.- <i>Introducción</i>	5
2.1.1.- Posibles orígenes de las poblaciones insulares	10
2.1.2.- Filogenia molecular: ADN mitocondrial.....	12
2.2.- <i>Materiales y métodos</i>	14
2.2.1.- Obtención de muestras	14
2.2.2.- Selección de grupos externos.....	18
2.2.3.- Selección de marcadores moleculares	19
2.2.4.- Extracción, amplificación y secuenciación del ADN.....	21
2.2.5.- Alineamiento de las secuencias y estadísticas.....	23
2.2.6.- Análisis Filogenético	24
2.3.- <i>Resultados</i>	29
2.3.1.- Características de las secuencias	29
2.3.2.- Distancias genéticas	31
2.3.3.- Análisis filogenéticos	34
2.3.4.- Análisis de haplotipos	37

2.4.- <i>Discusión</i>	40
2.4.1.- Relaciones entre las poblaciones insulares y de tierra firme.....	40
2.4.2.- Posibles explicaciones a la falta de diferenciación genética del perico cara sucia.....	42
2.4.3.- Próximos pasos	45
Capítulo 3: Variación geográfica de las llamadas de contacto en las subespecies del perico cara sucia, <i>Aratinga pertinax</i>	47
3.1.- <i>Introducción</i>	47
3.1.1.- Variación de las llamadas de contacto y reconocimiento de individuos .	48
3.1.2.- Estructura social y llamadas de contacto de <i>Aratinga pertinax</i>	50
3.2.- <i>Materiales y métodos</i>	55
3.2.1.- Grabaciones.....	55
3.2.2.- Patrones de sílabas	58
3.2.3.- Duración de la primera sílaba y de la llamada total.....	63
3.3.- <i>Resultados</i>	72
3.3.1.- Estructura general de las llamadas	72
3.3.2.- Patrones de sílabas	72
3.3.3.- Variabilidad de la duración de las llamadas de contacto	73
3.4.- <i>Discusión</i>	82
3.4.1.- Resultados generales: variación de las llamadas de contacto	82
3.4.2.- Origen de la variación de las vocalizaciones: revisión de las hipótesis....	84
3.4.3.- Significancia ecológica de la variación de las llamadas	87
3.4.4.- Próximos pasos	89
Capítulo 4 – Saqueo de nidos en las poblaciones insulares de <i>Aratinga pertinax</i> en Venezuela	91

4.1.-Introducción	91
4.1.1.- Aspectos básicos de los sitios de anidación y de dormitorio del perico cara sucia.....	93
4.2.- Métodos	94
4.2.1.- Áreas de estudio	94
4.2.2.- Caracterización de nidos y tasas de saqueo	96
4.2.3.- Ubicación de dormitorios y censo poblacional	98
4.3.- Resultados y discusión	99
4.3.1.- <i>Aratinga pertinax margaritensis</i>	99
4.3.2.- <i>Aratinga pertinax tortuguensis</i>	105
4.3.3.- Implicaciones de conservación.....	107
Capítulo 5: Conclusiones y recomendaciones	110
Referencias bibliográficas	114

Índice de Tablas

Capítulo 2

Tabla 2.1.- Listado de muestras de plumas y tejido de <i>Aratinga pertinax</i> (Psittacidae: Psittaciformes) incluidas en el presente estudio.....	15
Tabla 2.2.- Listado de las muestras de tejido de <i>Aratinga</i> utilizadas como grupos externos en los análisis filogenéticos.....	20
Tabla 2.3.- Cebadores utilizados para la amplificación de PCR y secuenciación de las regiones mitocondriales de <i>Aratinga</i>	20
Tabla 2.4.- Resumen de las etapas seguidas para la estimación del árbol filogenético de máxima verosimilitud de <i>Aratinga pertinax</i>	28
Tabla 2.5.- Sitios variables, sitios informativos, composición nucleotídica y cociente de transiciones y transversiones (T_s/T_v) de dos regiones mitocondriales (fragmento de la región de control y gen ND2) de <i>Aratinga pertinax</i>	30
Tabla 2.6.- Divergencia génica de la RC (distancia K2P) entre las subespecies de <i>Aratinga pertinax</i>	32
Tabla 2.7.- Divergencia génica del gen ND2 (distancia K2P) entre las subespecies de <i>Aratinga pertinax</i>	33

Capítulo 3

Tabla 3.1.- Número de llamadas de contacto disponibles para los análisis de variación de las vocalizaciones de <i>Aratinga pertinax</i>	59
Tabla 3.2.- Resumen de los modelos lineales comparados para evaluar las diferencias de los promedios y varianzas de las duraciones de las llamadas de <i>Aratinga pertinax</i>	71
Tabla 3.3.- Resultados de la comparación de modelos lineales (con efectos fijos y aleatorios anidados, y errores heterocedásticos) para la duración de la primera sílaba de la llamada de contacto de <i>A. pertinax</i>	77

Tabla 3.4.- Estimados de los parámetros de los efectos fijos para el modelo seleccionado (modelo V) en el análisis de la duración de la primera sílaba de la llamada de contacto de <i>A. pertinax</i>	78
Tabla 3.5.- Descomposición de la varianza de la duración de la primera sílaba de la llamada de contacto de <i>A. pertinax</i> según el modelo seleccionado (Modelo V).....	79
Tabla 3.6.- Resultados de la comparación de modelos lineales (con efectos fijos y aleatorios anidados, y errores heterocedásticos) para la duración de la llamada de contacto total de <i>A. pertinax</i>	80
Tabla 3.7.- Estimados de los parámetros de los efectos fijos para el modelo seleccionado (Modelo I) en el análisis de la duración de la llamada de contacto total de <i>A. pertinax</i> ...	80
Tabla 3.8.- Descomposición de la varianza de la duración de la llamada de contacto total de <i>A. pertinax</i> según el modelo seleccionado (Modelo I).....	81

Capítulo 4

Tabla 4.1.- Resumen del número de pericos cara sucia que fueron observados volando desde los distintos puntos de observación de la península de Macanao, isla de Margarita, en junio del 2004.	104
---	-----

Índice de Figuras

Capítulo 2

Figura 2.1.- Distribución de las subespecies continentales de <i>Aratinga pertinax</i>	6
Figura 2.2.- Distribución de las subespecies insulares de <i>Aratinga pertinax</i>	7
Figura 2.3.- Dos hipótesis extremas sobre el posible origen de las poblaciones insulares de <i>A. pertinax</i> y sus consecuencias filogenéticas.....	13
Figura 2.4.- Reconstrucción filogenética de <i>Aratinga pertinax</i> que incluye muestras de mascotas, basada en 1.581 pb de secuencias de ADN mitocondrial (ND2 y RC) utilizando el método de máxima verosimilitud.	35
Figura 2.5.- Reconstrucción filogenética de <i>Aratinga pertinax</i> que no incluye muestras de mascotas, basada en 1.581 pb de secuencias de ADN mitocondrial (ND2 y RC) utilizando el método de máxima verosimilitud	38
Figura 2.6.- Diagrama de haplotipos de las secuencias de la RC de <i>Aratinga pertinax</i> incluidas en este estudio	39

Capítulo 3

Figura 3.1.- Localidades donde se han realizado grabaciones de las llamadas de contacto de <i>Aratinga pertinax</i>	56
Figura 3.2.- Patrones de sílabas identificados para las llamadas de contacto de <i>Aratinga pertinax</i> en esta investigación así como en investigaciones previas.....	60
Figura 3.3.- Representación de los criterios utilizados para definir una sílaba dentro de una llamada de contacto.	61
Figura 3.4.- Representación esquemática de los niveles de análisis de la variabilidad de las llamadas de contacto de <i>A. pertinax</i> incluidos en el presente estudio	65
Figura 3.5.- Dispersión de la duración de la primera sílaba de las llamadas de contacto de <i>Aratinga pertinax</i>	74

Figura 3.6.- Dispersión de la duración de la llamada de contacto total de <i>Aratinga pertinax</i>	75
---	-----------

Capítulo 4

Figura 4.1.- Ubicación relativa de las zonas de estudio y de las localidades donde fueron encontrados nidos de pericos cara sucia en la isla La Tortuga y la Isla de Margarita.	95
---	-----------

Figura 4.2.- Estado de los nidos de <i>Aratinga pertinax</i> en la península de Macanao en el mes de junio del 2004.....	100
---	------------

Figura 4.3.- Evidencias de saqueo de nidos de <i>Aratinga pertinax</i> en las islas de Margarita y La Tortuga	101
--	------------

Capítulo 1: Introducción

La comunicación intra-específica es esencial dentro de cualquier sociedad animal, razón por la cual ha capturado el interés de los investigadores por largos años. El estudio de la evolución de las señales empleadas, así como del papel que cumplen en los mecanismos reproductivos, la identificación de individuos (especie, sexo, pertenencia a un grupo, identidad individual) o jerarquías, entre otros, ha permitido mejorar notablemente nuestra comprensión sobre la intensidad y el tipo de procesos evolutivos que se dan dentro de dichas sociedades, tales como la selección natural y la selección sexual (Bradbury y Vehrencamp 1998, Podos *et al.* 2004).

Entre las diferentes modalidades de comunicación animal, la comunicación acústica de las aves ha recibido especial atención. Dentro de la larga tradición del estudio de las vocalizaciones de este grupo, se han conducido investigaciones sobre el proceso de aprendizaje de las mismas, su función y variación geográfica, así como su utilidad en la clasificación taxonómica (p. ej. Baker y Thompon 1985, Isler *et al.* 1998, Latruffe *et al.* 2000, Shieh 2004, Podos *et al.* 2004). Gran parte de estos trabajos han estado sesgados hacia el estudio de los passeriformes, uno de los tres grupos de aves, junto con los colibríes y los psitácidos, que presentan la habilidad de aprender vocalizaciones (el resto de las aves producen cantos y llamados instintivamente, sin imitar lo que escuchan a su alrededor; Jarvis *et al.* 2000). En cambio, es muy poco lo que se conoce sobre la función y evolución de la comunicación vocal en los psitácidos, a pesar de que esta familia está representada en el Neotrópico por unas 148 especies de loros, pericos y guacamayas agrupadas en 27 géneros (Forshaw 1989), dentro de las cuales se incluyen algunas de las especies de aves más conocidas por los seres humanos.

Comprender el contexto ecológico y la evolución de la comunicación vocal en los psitácidos es interesante tanto desde la perspectiva de la biología básica como de la biología de la conservación. Algunos estudios de loros silvestres han generado evidencia que indica que estas aves dependen del conocimiento culturalmente transmitido sobre lugares de alimentación y dormideros (Rowley y Chapman 1991, Snyder *et al.* 1994). Adicionalmente, gran parte de su dinámica social en bandadas

parece ser mediada por la comunicación vocal (Farabaugh y Dooling 1996). En consecuencia, el manejo de poblaciones de psitácidos y el éxito de programas de conservación y reintroducción podrían ser mejorados con un mayor conocimiento del comportamiento social de estas aves. Hasta ahora, la experiencia indica que a menudo las aves criadas en cautiverio carecen del repertorio conductual necesario para sobrevivir en la vida silvestre (Snyder 1994). Por lo tanto, la comprensión del modo en que se desarrollan las interacciones entre los miembros de un grupo al momento de buscar alimento o parejas, podría sugerir formas de incrementar el éxito de los programas de cría en cautiverio, al destacar el tipo de interacciones que deben ser experimentadas por los individuos con el fin de incrementar su probabilidad de sobrevivir una vez sean liberados.

El complejo de subespecies del perico cara sucia (*Aratinga pertinax* sspp.) es un sistema muy apropiado en el cual estudiar la evolución de la comunicación vocal en los psitácidos. Actualmente este grupo incluye 14 subespecies, reconocidas principalmente por la variación geográfica de los caracteres del plumaje. Cinco de estas taxa son endémicos de islas del sur del Caribe, mientras que el resto se distribuye en la tierra firme continental de Centro y Sur América (Forshaw 1989, Juniper y Parr 1998). De las dos poblaciones insulares presentes en Venezuela, se ha postulado que al menos una (*A. pertinax tortuguensis*, isla la Tortuga) está decayendo, probablemente debido al saqueo de nidos para el comercio de mascotas y la depredación (Desenne y Strahl 1994, Rodríguez y Rojas-Suárez 1999).

Datos preliminares de otros investigadores indican que una de las vocalizaciones características de esta especie, la llamada de contacto, es más variable en las subespecies insulares que en las subespecies de tierra firme (Eberhard, datos sin publicar). Este patrón de variación geográfica podría tener distintas causas. En primer lugar, las diferencias entre las subespecies podrían ser simplemente resultado de los procesos históricos de colonización de las islas. Este sería el caso si las cinco islas en las que actualmente se distribuye *A. pertinax* fueron colonizadas a partir de una misma población fuente que, por azar, presentaba una alta variabilidad de sus vocalizaciones. En este caso, los altos niveles de variación de las llamadas observados en las islas

podrían ser explicados mejor por descendencia común (“hipótesis de factores históricos aleatorios”) en lugar de por un efecto de las islas. Alternativamente, el patrón geográfico de las vocalizaciones podría representar una diferencia cultural (resultado del aprendizaje) entre poblaciones aisladas en islas y poblaciones continentales, que refleje alguna función de las llamadas operando en contextos diferentes (“hipótesis de factores ecológicos determinísticos”). En este caso, factores ecológicos como el ambiente de transmisión o presiones sociales de reconocimiento de individuos podrían influir en la diferenciación de las llamadas de las distintas poblaciones de pericos. Tales explicaciones alternativas sólo pueden ser distinguidas en el contexto de una filogenia basada en caracteres no correlacionados a la vocalización.

Adicionalmente, la comprensión de las relaciones filogenéticas entre las subespecies de pericos cara sucia resultará de gran importancia para el manejo futuro de la especie. Concretamente, en el caso de que se confirmen los patrones de diferenciación genética o de comportamiento de las poblaciones insulares, estas podrían representar por sí mismas unidades de conservación. Estas poblaciones endémicas, debido a su aislamiento, son particularmente susceptibles a las amenazas que actualmente enfrentan muchas especies de psitácidos: el saqueo de nidos para la comercialización de pichones como mascotas y la destrucción de sus sitios de anidación y alimentación (Desenne y Strahl 1994, Snyder *et al.* 2000).

Teniendo esto en consideración, el presente proyecto de investigación tuvo como objetivo principal documentar los patrones de variación en las vocalizaciones del perico cara sucia (*Aratinga pertinax*), comparando subespecies que se encuentran en las islas del sur del Caribe y subespecies continentales de Venezuela, e inferir cuáles procesos evolutivos pueden haberlos determinado. Para ello planteamos los siguientes objetivos específicos:

- 1.- Estimar las relaciones filogenéticas entre las subespecies de *A. pertinax* utilizando datos moleculares (secuencias de ADN mitocondrial), con el fin de determinar si las cinco subespecies insulares de este complejo forman un grupo

recíprocamente monofilético, lo que sugeriría que el cambio en la estructura de las llamadas representa una única transición evolutiva, o no.

2.- Cuantificar, caracterizar y comparar la variabilidad de las llamadas de contacto de las subespecies insulares y continentales de *A. pertinax* mediante el análisis de grabaciones de campo, para confirmar la robustez del patrón observado en investigaciones previas.

3.- Analizar los resultados del análisis de las vocalizaciones dentro del contexto de la filogenia molecular del grupo para explorar si los cambios en la variabilidad de las llamadas de contacto en esta especie pueden deberse a factores históricos aleatorios en contraste a factores ecológicos determinísticos.

Adicionalmente, dada la posible importancia de las razas endémicas de islas como unidades de conservación, nos propusimos evaluar de forma preliminar el estatus poblacional de las subespecies insulares del perico cara sucia en Venezuela, *A. p. margaritensis* y *A. p. tortuguensis*, y el nivel de amenaza que representa el saqueo de nidos para estas poblaciones.

Es importante destacar que este es el primer estudio que busca esclarecer las relaciones históricas entre las poblaciones de un psitácido distribuido tanto en las islas del sur del Caribe (Antillas Holandesas, La Tortuga y Margarita) como en la tierra firme centro y suramericana. De hecho, es uno de los pocos estudios llevados a cabo para taxa distribuidos en estas islas, ya que la mayoría de los estudios filogenéticos y biogeográficos en la región caribeña han estado enfocados en las Antillas Mayores y Menores (p. ej. orquídeas: Trejo-Torres y Ackerman 2001; insectos: Davies y Bermingham 2002; aves: Terborgh *et al.* 1978, Klein y Brown 1994, Rusello y Amato 2004; mamíferos: Dávalos 2004, 2006). Por lo tanto, nuestros resultados no sólo permitirán entender mejor la evolución de la comunicación vocal en los psitácidos, sino que posiblemente contribuirán a comprender los procesos biogeográficos que han tenido lugar en la región.

Capítulo 2: Relaciones filogenéticas de las subespecies insulares del perico cara sucia, *Aratinga pertinax*

2.1.- Introducción

A pesar de que ciertas características diferencian claramente a los psitácidos del resto de los órdenes de aves (Smith 1975), la taxonomía dentro del grupo aún es bastante confusa y es poco lo que se conoce sobre las relaciones filogenéticas de los taxa que lo conforman (Marien y Koopman 1955, Tavares *et al.* 2004), particularmente a los niveles específicos e intraespecíficos (Ribas y Miyaki 2004). Aún cuando la mayoría de las especies de psitácidos neotropicales agrupan varias subespecies identificadas por la variación geográfica de caracteres morfológicos y de comportamiento, en general los investigadores concuerdan en que es necesario llevar a cabo revisiones sistemáticas detalladas de gran parte de estos complejos con el fin de verificar la validez de las unidades taxonómicas y las relaciones entre ellas (p. ej. Forshaw 1989, Ribas y Miyaki 2004).

El perico cara sucia, *Aratinga pertinax*, se encuentra entre los taxa para los cuales diversos autores han resaltado la necesidad de llevar a cabo una revisión taxonómica. Estas aves tienen aproximadamente 25 cm de longitud (incluyendo la cola de 12 cm), con un plumaje predominantemente verde y distintas cantidades de marrón en la cara, la garganta y el pecho (Forshaw 1989). La variación geográfica de la intensidad y extensión de esta coloración del plumaje, junto con otros rasgos morfológicos (como el tamaño), han resultado en el reconocimiento de 14 subespecies diferentes (Figura 2.1 y 2.2). Cinco de estos taxa son endémicos de islas del sur del Caribe, localizadas a distancias similares de la tierra firme suramericana: *A. p. pertinax* (Curazao), *A. p. xanthogenia* (Bonaire), *A. p. arubensis* (Aruba), *A. p. tortuguensis* (isla la Tortuga, Venezuela), y *A. p. margaritensis* (isla de Margarita, Venezuela) (Forshaw 1989, Juniper y Parr 1998). El resto de las subespecies se distribuye en el norte de Sur América, desde

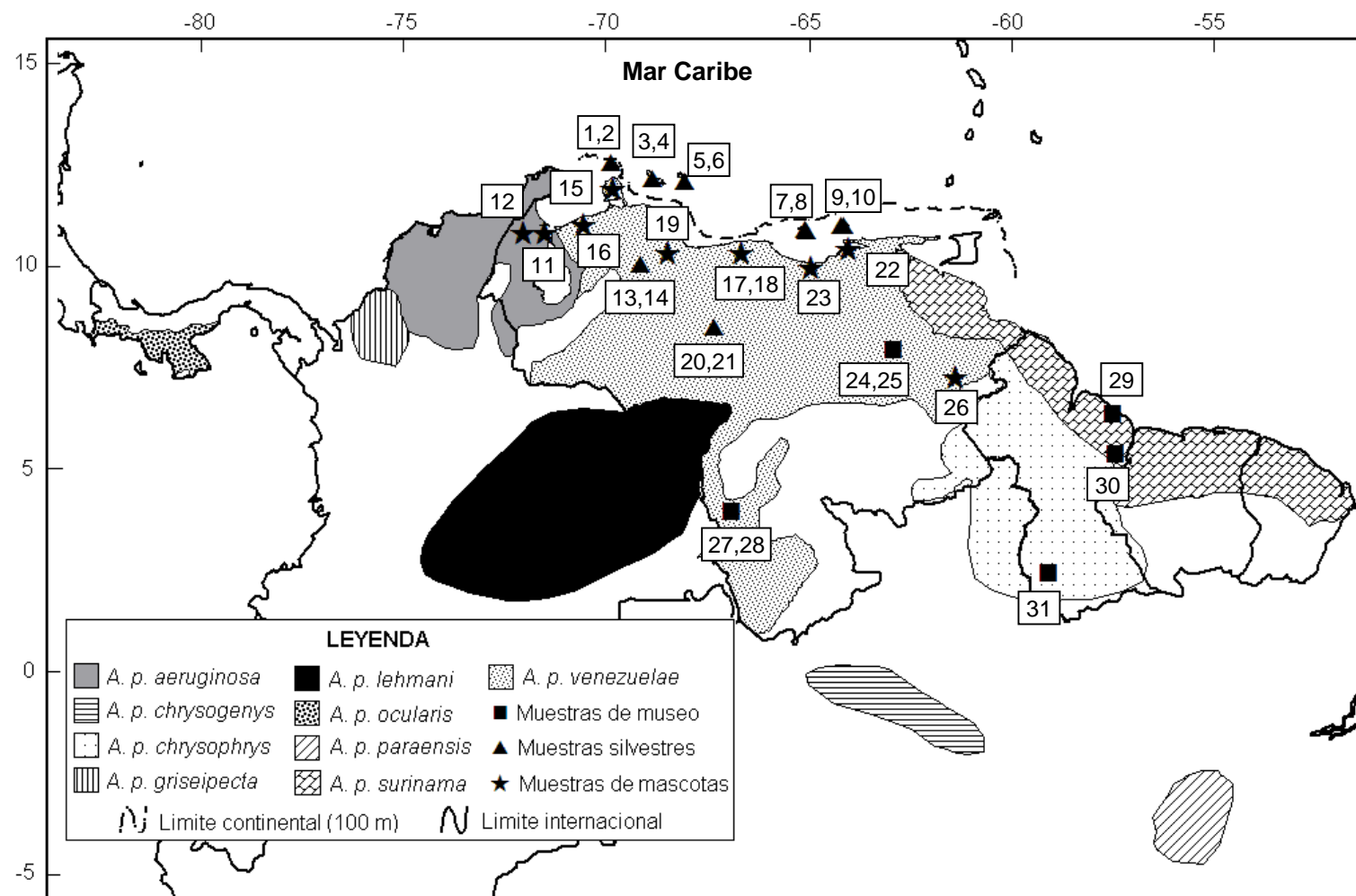


Figura 2.1.- Distribución de las subespecies continentales de *Aratinga pertinax* (basado en Forshaw 1989, Arndt 1996, Juniper y Parr 1998, Hilty 2003 e Infonatura 2004). Los números corresponden a las muestras utilizadas en este estudio (Tabla 2.1). Límite de la línea continental de 100 m (línea discontinua) según Koopman (1958). Ver Figura 2.2 para la distribución de las subespecies insulares.

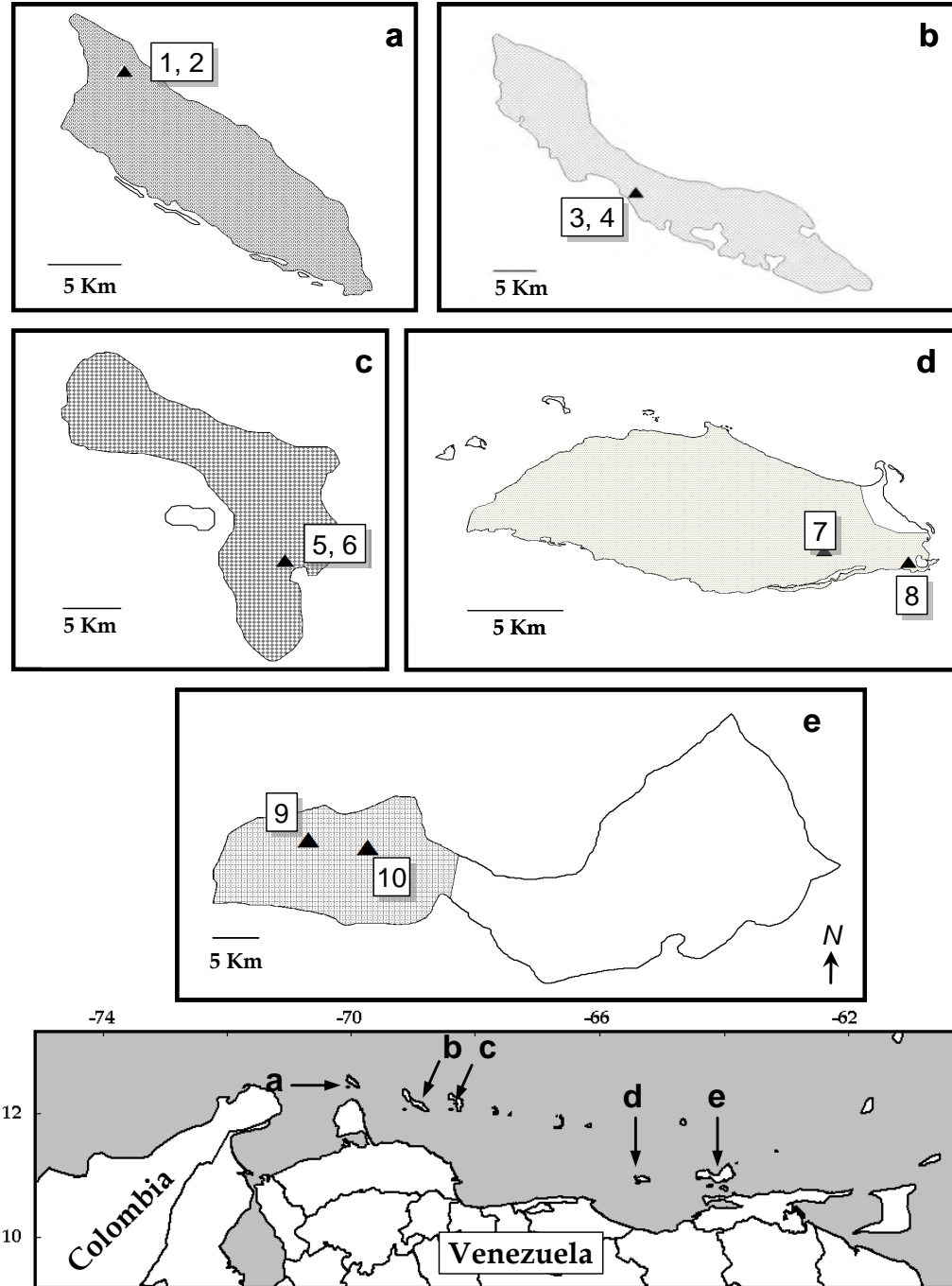


Figura 2.2.- Distribución de las subespecies insulares de *Aratinga pertinax* (basado en Forshaw 1989, Arndt 1996, Juniper y Parr 1998, Hilty 2003). (a) *A. p. arubensis*, Aruba; (b) *A. p. pertinax*, Curazao; (c) *A. p. xanthogenia*, Bonaire; (d) *A. p. tortuguensis*, isla La Tortuga; (e) *A. p. margaritensis*, isla de Margarita. Los números corresponden a las muestras utilizadas en este estudio (Tabla 2.1).

Panamá y Colombia al oeste hasta el norte de Brasil en el este, y cinco de ellas se encuentran en las regiones continentales de Venezuela: *A. p. aeruginosa* (noroeste de Zulia), *A. p. venezuelae* (tierras bajas del norte y centro de Venezuela), *A. p. surinama* (sureste de Monagas y Delta Amacuro), *A. p. chrysophrys* (sureste de Bolívar) y *A. p. lehmani* (oeste de Amazonas) (Juniper y Parr 1998, Hilty 2003). La distinción morfológica de algunas de estas subespecies es clara; por ejemplo, aquellas encontradas en las islas de Curazao y Bonaire, que se diferencian por presentar una coloración naranja-amarillenta en la cara y gran parte de la cabeza, en lugar de la coloración marrón característica del resto de las subespecies (Forshaw 1989). Sin embargo, la diferenciación de otras subespecies no resulta tan evidente, y se ha sugerido que algunas de ellas podrían constituir más bien variaciones clinales en lugar de unidades taxonómicas diferenciadas (Forshaw 1989, Juniper y Parr 1998).

La comprensión de las relaciones entre las diferentes razas del perico cara sucia no sólo tiene gran importancia desde un punto de vista sistemático, sino que resulta esencial para llevar a cabo estudios en los que se pretenda poner a prueba hipótesis relacionadas con los procesos ecológicos, evolutivos y biogeográficos que podrían haber determinado diferencias genéticas, morfológicas y de comportamiento entre sus poblaciones (Sinclair *et al.* 2005). El complejo de subespecies de *A. pertinax* es especialmente atractivo para este tipo de estudios debido a su amplia distribución geográfica y la marcada variación en su fenotipo (coloración del plumaje). Adicionalmente, otros investigadores han encontrado evidencias de un patrón de variación geográfico en el comportamiento vocal de esta especie (Eberhard, datos sin publicar). Dada su presencia simultánea en diferentes islas (unidades geográficas discretas) y su amplia extensión en tierras continentales, es posible investigar cuáles procesos ecológicos asociados a la insularidad podrían estar determinando las diferencias de rasgos entre sus poblaciones. Sin embargo, para cualquier estudio semejante el conocimiento sobre el origen histórico y las relaciones filogenéticas de las distintas poblaciones, al menos de aquellas presentes en las islas en relación a las de tierra firme, juega un papel fundamental.

Por otra parte, la comprensión de las relaciones filogenéticas entre las diferentes subespecies de *A. pertinax*, así como del grado de diferenciación genética entre ellas, también es importante para el campo de la biología de la conservación. En particular, si las subespecies endémicas de islas constituyen poblaciones genotípica o fenotípicamente diferenciadas, podrían constituir importantes unidades de conservación (poblaciones evolutivamente diferenciadas e independientes de otras; Meffe y Carroll 1994) para preservar la diversidad de la especie (Johnson 1995). Esto es así dado que en general las poblaciones de las islas suelen ser muy vulnerables a las presiones ecológicas y humanas y a la extinción (Christian *et al.* 1996). Esta alta vulnerabilidad se ve evidenciada por el hecho de que casi el 90% de las especies de aves que se han extinguido en los últimos cuatro siglos han sido habitantes de islas (Christian *et al.* 1996). En el caso particular de las Indias Occidentales, se sabe que en los años transcurridos desde la llegada de Cristóbal Colón al Nuevo Mundo la diversidad de psitácidos de la región se ha visto marcadamente reducida, habiéndose extinguido todos los representantes del género *Ara* y sobreviviendo en la actualidad apenas el 35% de las especies de psitácidos originales de estas islas (Wiley 1993, Christian *et al.* 1996, Wiley *et al.* 2004).

A pesar de que el perico cara sucia actualmente es muy abundante en casi toda su distribución, comparte con sus congéneres algunas de las amenazas que hacen de los psitácidos uno de los grupos de aves más amenazados a nivel mundial, como por ejemplo el saqueo de nidos, la captura de pichones para el mercado de mascotas y la destrucción de sus sitios de anidación y hábitats (Collar y Juniper 1992, Albornoz y Fernández-Badillo 1994b, Desenne y Strahl 1994, Rodríguez y Rojas-Suárez 1999, Snyder *et al.* 2000, Wright *et al.* 2001, Harms y Eberhard 2003, Wiley *et al.* 2004). De hecho, se ha sugerido que al menos una de las poblaciones insulares endémicas de pericos, *A. p. tortuguensis*, está disminuyendo y podría estar en peligro de extinción (Desenne y Strahl 1994, Rodríguez y Rojas-Suárez 1999). Por lo tanto, la comprensión de las relaciones filogenéticas entre las distintas subespecies y la identificación de unidades de conservación, resultará básica para el diseño de cualquier plan de manejo y conservación de esta especie en el futuro (Miyaki y Eberhard 2002).

Como un primer paso para comprender la historia evolutiva y los patrones de diversificación de *A. pertinax*, en este estudio nos propusimos estimar las relaciones filogenéticas entre algunas de sus subespecies utilizando para ello datos moleculares (secuencias de ADN mitocondrial). Nuestro objetivo específico era determinar si las cinco razas insulares de esta especie forman un grupo recíprocamente monofilético, o lo que es lo mismo, si todas las poblaciones de las islas comparten el mismo ancestro común más cercano y si están más estrechamente relacionadas entre sí que con cualquier otra población. De ser así, esto sugeriría que aquellos caracteres morfológicos o de comportamiento presentes en las poblaciones de las islas pero ausentes en las poblaciones continentales podrían tener su origen en una única transición evolutiva.

2.1.1.- Posibles orígenes de las poblaciones insulares

Los patrones sobre el origen y diversificación de la biota de las islas del Caribe no están claros para la mayoría de los grupos animales y vegetales (Iturralde-Vinent y MacPhee 1999, Dávalos 2004), a pesar de que se han llevado a cabo numerosos estudios con el fin de explicar la diversidad y endemismo de la fauna de esta región, y en particular la de las islas que conforman las Indias Occidentales (p. ej. Rosen 1975, Terborgh *et al.* 1978, Klein y Brown 1994, Hedges 1996, Trejo-Torres y Ackerman 2001, Dávalos 2004, Rusello y Amato 2004, Hedges 2006). Esto se debe, en gran parte, a la compleja historia geológica y paleogeográfica de la región caribeña y a las deficiencias del registro fósil (Donnelly 1988, Iturralde-Vinent y MacPhee 1999).

En su revisión de la paleogeografía de la región del Caribe, Iturralde-Vinent y MacPhee (1999) incluyen a las Antillas Holandesas y a las islas venezolanas dentro del “cinturón Aruba/Tobago”. Según estos autores, esta unidad paleogeográfica consiste en un basamento de costra oceánica del Mesozoico y unidades de arco volcánico del Cretáceo. De forma similar al resto de las unidades geológicas de la región caribeña, este cinturón sufrió numerosas deformaciones y cambios a lo largo de las eras geológicas como resultado de la interacción entre la placa tectónica del Caribe y el margen continental suramericano, que finalmente conllevaron al levantamiento general del cinturón probablemente hace 35-33 m. a. Las evidencias indican que posteriormente a

este evento, la región sufrió una serie de inundaciones y cambios en las extensiones de tierra emergentes durante el Oligoceno Tardío y Mioceno Temprano, debidos en parte a las fluctuaciones del nivel del mar (Yépez-Tamayo 1963, Iturralde-Vinent y MacPhee 1999). Esto significa que el nivel de aislamiento de las islas no ha sido constante a lo largo de las eras geológicas; en algunos casos, algunas de estas islas quedaron conectadas momentáneamente a la tierra firme continental, o a otras islas. Este parece ser el caso de las islas continentales de Aruba, Margarita y La Tortuga, las cuales habrían estado conectadas a la tierra firme venezolana durante las glaciaciones del Pleistoceno (Koopman 1958). Por otra parte, este gran dinamismo resultó en cambios notables en la extensión de tierra emergente de las islas durante las últimas eras geológicas. Así, la evidencia sugiere que no fue sino hasta el Pleistoceno que algunas islas venezolanas (como Margarita, Coche y Cubagua) alcanzaron la extensión actual de tierra emergida (Yépez-Tamayo 1963).

Evidentemente, los patrones biogeográficos de las islas del norte de la costa venezolana y del resto de las antillas están estrechamente ligados a este gran dinamismo, y los cambios que han experimentado estas islas no sólo han definido la forma en que la biota colonizó cada una de ellas (ya sea por dispersión sobre el agua, dispersión sobre puentes de tierra de corta duración y/o vicarianza) sino el momento en que cada colonización tuvo lugar (Iturralde-Vinent y MacPhee 1999). Aunque es de esperar que estos patrones difieran entre los distintos taxa (dependiendo de su vagilidad, origen histórico y edad, entre otros), estudios realizados con orquídeas y mamíferos distribuidos actualmente en algunas de las islas del norte de Venezuela y en zonas continentales sugieren un origen suramericano de la biota de estas islas (Trejo-Torres y Ackerman 2001, Dávalos 2004). Así mismo, se cree que la mayor parte de la avifauna que ha colonizado las Antillas Menores e islas del norte de la costa venezolana (incluyendo las Antillas Holandesas) ha tenido su fuente en el norte de Sur América (Yépez-Tamayo 1963, Bond 1961, 1963, 1978, 1979, 1993 cit. Klein y Brown 1994, Hedges 1996, Ottens-Wainright *et al.* 2004).

Para cada especie en particular, la colonización de estas islas pudo haber ocurrido de múltiples maneras; un caso extremo es la colonización de forma secuencial a partir de

una única población fuente (Figura 2.3A) y el otro corresponde a múltiples colonizaciones desde diferentes fuentes de tierra firme (Figura 2.3B). Esta es una distinción importante, ya que en el primer caso las poblaciones insulares estarían más estrechamente relacionadas entre sí que con cualquier población de tierra firme, constituyendo un grupo recíprocamente monofilético, mientras que en el segundo caso las poblaciones de las islas estarían más relacionadas con poblaciones de tierra firme que con otras poblaciones insulares, formando un grupo polifilético (Klein y Brown 1994, Ottens-Wainright *et al.* 2004). Entre estos dos extremos existe un continuo de posibilidades que incluyen ambos tipos de colonización. Dado que las relaciones predichas en los dos extremos de este continuo son contrastantes (grupo insular recíprocamente monofilético *vs.* grupo insular polifilético), la construcción de una filogenia del complejo de subespecies del perico cara sucia permitiría en principio distinguir cuál ha sido el mecanismo de colonización predominante que dio origen a las poblaciones insulares de esta especie.

2.1.2.- *Filogenia molecular: ADN mitocondrial*

Los estudios de variación geográfica y sistemática, incluyendo las descripciones de subespecies, tradicionalmente recaían en el estudio de caracteres morfológicos. Sin embargo, la diferenciación de estos caracteres pueden tener un origen distinto a la historia evolutiva de los organismos ya que la variación fenotípica puede ser resultado de presiones ambientales que no necesariamente generan cambios genéticos (Barrowclough 1985) o estar sujeta a selección natural y sexual, tal como es el caso de los caracteres de plumaje de algunas aves (p. ej. Greene *et al.* 2000, McDonald *et al.* 2001). Por lo tanto, los métodos moleculares, los cuales permiten en muchos casos utilizar caracteres neutrales o por lo menos bajo regímenes de selección diferentes a los caracteres morfológicos o de comportamiento, se han vuelto de particular interés para los sistemáticos en las últimas décadas (Barrowclough 1985, Sinclair *et al.* 2005).

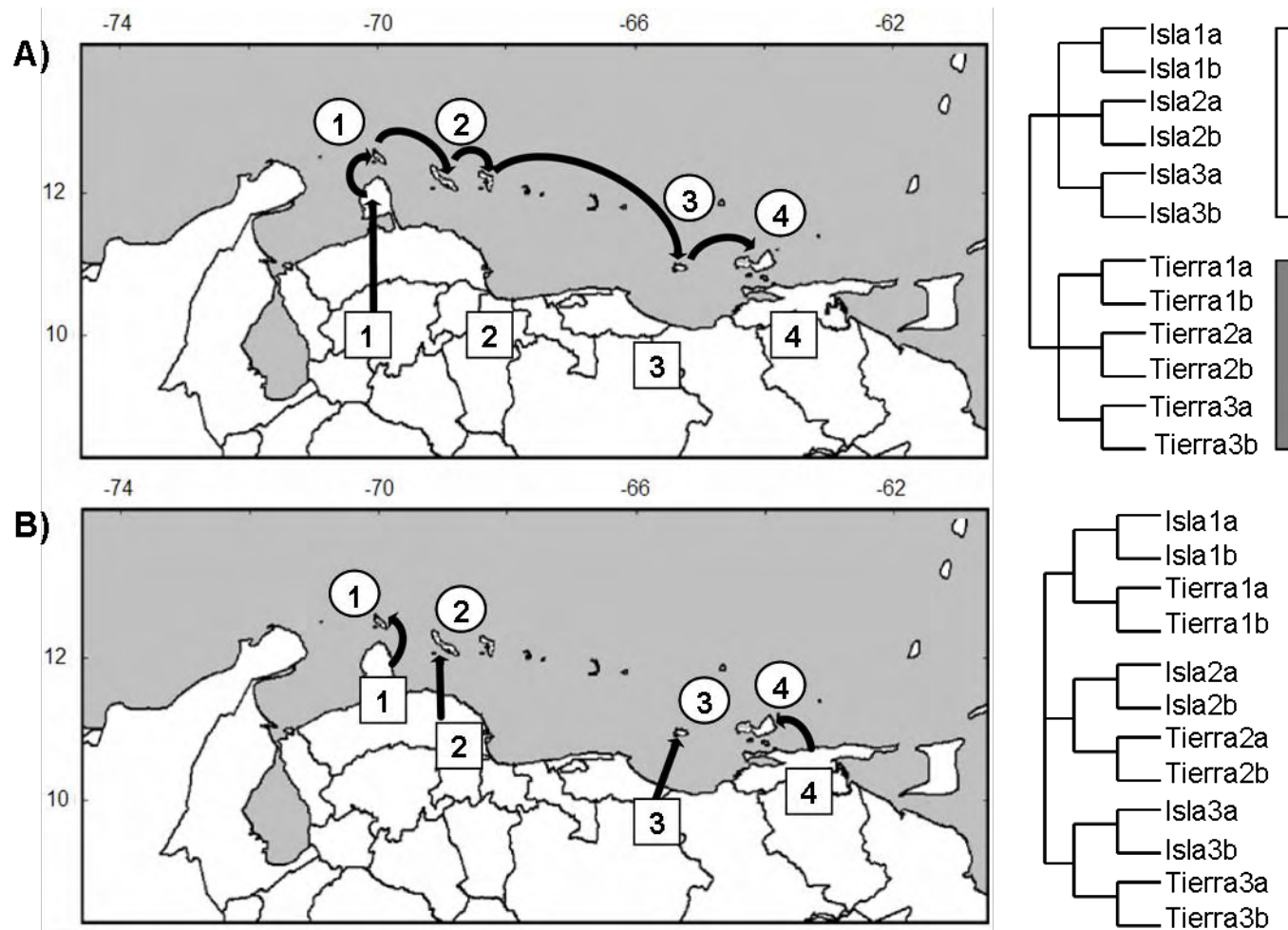


Figura 2.3.- Dos hipótesis extremas sobre el posible origen de las poblaciones insulares de *A. pertinax* y sus consecuencias filogenéticas. Ambas asumen un origen en la tierra firme continental venezolana para todas las poblaciones insulares. A) Colonización secuencial de las islas a partir de una única población inicial, B) Eventos de colonización independientes de las islas a partir de la población de tierra firme más geográficamente.

Entre las diferentes moléculas que pueden ser utilizadas como marcadores filogenéticos, el ADN mitocondrial es muy adecuado para los análisis filogeográficos de taxa estrechamente relacionados, tanto a nivel específico como intraespecífico. Esto se debe principalmente a su herencia por línea materna y al hecho de no estar sujeto a recombinación, lo cual resulta en que este genoma presente altas tasas de evolución de secuencias. En consecuencia, los marcadores mitocondriales suelen tener altos niveles de polimorfismo y una marcada diferenciación geográfica, determinada por la historia evolutiva de los organismos (Moritz *et al.* 1987, Sorenson *et al.* 1999, Lowe *et al.* 2004).

A pesar de las ventajas de la utilización de marcadores moleculares para inferir las relaciones filogenéticas entre diferentes taxa, este método también presenta algunos inconvenientes. Aún cuando la historia evolutiva de cada familia de genes puede estar estrechamente relacionada con la historia de los organismos donde se encuentran, estas historias no son necesariamente idénticas (p. ej., en el caso de que ocurra duplicación génica o que los genes estén sometidos a algún tipo de selección natural positiva). Bajo estas circunstancias, inferir las relaciones filogenéticas de la especie a partir de la historia de los genes resultará en suposiciones erróneas de las relaciones entre los taxa (Page y Holmes 1998, Lowe *et al.* 2004).

2.2.- Materiales y métodos

2.2.1.- Obtención de muestras

Con el fin de investigar las relaciones filogenéticas entre las subespecies insulares y continentales del perico cara sucia, se obtuvieron en total 31 muestras de plumas o tejido correspondientes a nueve de las 14 subespecies reconocidas (Tabla 2.1, Figura 2.1 y 2.2). De estas muestras, doce procedían de individuos silvestres capturados con mallas de neblina (Ralph *et al.* 1996) en cuatro de las islas donde se distribuyen los pericos y a dos localidades de tierra firme. Las muestras de la otra isla donde se distribuye la especie fueron obtenidas a partir de un perico silvestre que no podía volar y la otra de una pluma “vieja” encontrada en un nido de perico abandonado. Otras siete muestras

Tabla 2.1.- Listado de muestras de plumas y tejido de *Aratinga pertinax* (Psittacidae: Psittaciformes) incluidas en el presente estudio. Los nombres de la tercera columna corresponden a aquellos que se muestran en los árboles filogenéticos. El “ID de colección” corresponde a la identificación de la muestra dada por el colector o el museo o colección correspondiente. En el caso de las muestras de museo o de investigaciones previas se identifican entre paréntesis las siglas de origen: COP (Colección Ornitológica Phelps), NMNH (U. S. National Museum of Natural History), LSUMNS (Louisiana State University Museum of Natural Science). Los tipos de muestra listados incluyen: P (plumas), T (tejido en buffer DMSO). Las muestras procedentes de mascotas se indican con un asterisco junto a la descripción de su tipo. Se incluye la información de las regiones mitocondriales secuenciadas para cada muestra.

#	Especie	Nombre	ID de colección	Localidad	Tipo de muestra	Regiones secuenciadas
1	<i>A. p. arubensis</i>	Aruba1	JRE01-2	Aruba	P	RC
2		Aruba2	JRE01-3	Aruba	P	RC, ND2
3	<i>A. p. pertinax</i>	Curazao1	JRE01-7	Curazao	P	RC
4		Curazao2	JRE01-8	Curazao	P	RC, ND2
5	<i>A. p. xanthogenia</i>	Bonaire1	JRE01-10	Bonaire	P	RC, ND2
6		Bonaire2	JRE01-13	Bonaire	P	RC
7	<i>A. p. tortuguensis</i>	Tortuga1	JRE-9	Isla La Tortuga, Venezuela	T	RC, ND2
8		Tortuga2	LT-5	Isla La Tortuga, Venezuela	P	RC
9	<i>A. p. margaritensis</i>	Margarita1	MAR-1	Isla de Margarita, Venezuela	P	RC, ND2
10		Margarita2	MAR04-7	Isla de Margarita, Venezuela	P	RC
11	<i>A. p. aeruginosa</i>	Zulia1	IZ05-12	Santa Cruz, Edo. Zulia, Venezuela	P*	RC, ND2
12		Zulia2	IZ05-14	Cachiri, Edo. Zulia, Venezuela	P*	RC
13	<i>A. p. venezuelae</i>	Lara1	29-17	Cerro Saroche, Edo. Lara, Venezuela	P	RC
14		Lara2	29-27	Cerro Saroche, Edo. Lara, Venezuela	P	RC, ND2
15		Falcon1	IZ05-7	San José de Cocodites, Paraguaná, Edo. Falcón, Venezuela	P*	RC
16		Falcon2	IZ05-8	Dabajuro, Edo. Falcón, Venezuela	P*	RC

Tabla 2.1.- (Continuación)

#	Especie	Nombre	ID Colección	Localidad	Tipo de muestra	Regiones secuenciadas
17	<i>A. p. venezuelae</i>	Miranda1	IZ05-1	San José de Los Altos, Edo. Miranda, Venezuela	P*	RC, ND2
18		Miranda2	IZ05-2	San José de Los Altos, Edo. Miranda, Venezuela	P*	RC
19		Yaracuy1	IZ05-4	Hda. La Marroquina, Edo. Yaracuy, Venezuela	P*	RC
20		Guarico1	La Fe 1	Hato La Fe, Edo. Guárico, Venezuela	P	RC
21		Guarico2	La Fe 4	Hato La Fe, Edo. Guárico, Venezuela	P	RC, ND2
22		Sucre1	IZ06-02	La Mesa, Edo. Sucre, Venezuela	P*	RC
23		Anzoategui1	IZ06-03	Clarines, Edo. Anzoátegui, Venezuela	P*	RC
24		Bolivar1	IC-609 (COP)	Caroní, Río; Río Claro; El Mangal, Edo. Bolívar, Venezuela	T	RC, ND2
25		Bolivar2	IC-610 (COP)	Caroní, Río; Río Claro; El Mangal, Edo. Bolívar, Venezuela	T	RC
26		Bolivar3	Tum01	El Frío, Edo. Bolívar, Venezuela	P*	RC, ND2
27		Amazonas1	ML-683 (COP)	Caño Manaka, Edo. Amazonas, Venezuela	T	RC, ND2
28		Amazonas2	ML-684 (COP)	Caño Manaka, Edo. Amazonas, Venezuela	T	RC
29	<i>A. p. surinama</i>	Guyana1	B11319 (NMNH)	Río Abary. 06°31' N, 57°44' W, Guyana	T	RC, ND2
30		Guyana2	B04338 (NMNH)	Ribera oeste Río Berbice, Dubulay Ranch, Guyana	T	RC
31	<i>A. p. chrysophrys</i>	Guyana3	B12523 (NMNH)	Parabara Savannah, Guyana	T	RC, ND2

representativas de cinco localidades continentales adicionales (dos del sur de Venezuela y tres de Guyana) fueron obtenidas a través de donaciones de tejido de las colecciones de recursos genéticos de la Colección Ornitológica Phelps (COP), el Museo de Historia Natural de los Estados Unidos (U. S. National Museum of Natural History, NMNH), y el Museo de Ciencias Naturales de la Universidad Estatal de Louisiana (Louisiana State University Museum of Natural Science, LSUMNS). Finalmente, se colectaron muestras de plumas a partir de diez mascotas de origen conocido con el fin de incluir en los análisis representantes de otras nueve localidades continentales venezolanas, ubicadas en su mayoría en la zona costera (Tabla 2.1, Figura 2.1). De esta forma, se obtuvieron muestras representativas de las cinco islas donde se distribuyen los pericos y de 16 localidades continentales, logrando abarcar así gran parte de la distribución geográfica de *A. pertinax* en la región caribeña y el norte de Sur América (Figura 2.1 y 2.2).

En lo posible, se incluyeron muestras de dos individuos de cada localidad como el muestreo mínimo necesario para caracterizar los principales patrones de variación entre localidades en contraste con la variación dentro de cada localidad (Baker 1985, Weir 1996). Esto fue así para todas las islas (Aruba, Curazao, Bonaire, Margarita y La Tortuga) y cinco de las localidades de tierra firme (Cerro Saroche, San José de los Altos, Hato La Fé, El Mangal y Caño Manaka). El resto de las localidades continentales estuvo representado en los análisis por muestras procedentes de un único individuo. Este tipo de muestreo, donde cada localidad se ve representada por muestras procedentes de sólo uno o dos individuos, presume que va a encontrarse una clara diferenciación entre grupos, y se utiliza como muestreo inicial para estudios genéticos cuando los recursos son limitados y no hay información previa sobre los niveles de variabilidad esperados (Lowe *et al.* 2004), o en aquellos estudios para los cuales los resultados de grupos cercanos sugieren que podría esperarse una clara diferenciación, incluso a nivel intraespecífico, el cual fue nuestro caso (p. ej. Wright y Wilkinson 2001). Por otra parte, se incluyó el mayor número posible de muestras procedentes de localidades costeras cercanas a las islas, por ser consideradas sus fuentes de colonización más probables (Yépez-Tamayo 1963, Hedges 1996, Ottens-Wainright *et al.* 2004); de ser así, su inclusión en los análisis debería resultar en una filogenia molecular con una adecuada resolución,

ya que se estarían incluyendo muestras de todos o casi todos los taxa más estrechamente relacionados entre si.

Los tejidos fueron preservados en una solución tampón de dimetilsulfóxido (DMSO; Seutin *et al.* 1991, Kilpatrick 2002) y las plumas fueron preservadas en seco en el campo y luego congeladas en el laboratorio (J. Eberhard, com. pers.). Todas las aves capturadas fueron liberadas, con excepción de un individuo de La Tortuga el cual no podía volar cuando fue encontrado y que fue sacrificado y depositado en la Colección Ornitológica Phelps (Nro. 81.084). La identificación de cada ejemplar hasta el nivel de subespecie putativa se basó en sus características de plumaje y en la comparación de sus orígenes geográficos con las distribuciones presumidas de cada una (Desenne y Strahl 1994, Hilty 2003).

Todas las muestras fueron obtenidas en concordancia con las regulaciones nacionales e internacionales (Permiso de Acceso a Recursos Genéticos N° 41-0022; Licencias de colecta con fines científicos: N° 41-0066 y N° 01-03-03-2416; Permisos CITES N°: 04US081324/9, 04US082267/9, 05US095260/9, 1658).

2.2.2.- Selección de grupos externos

Los grupos externos incluidos en un análisis filogenético pueden tener una gran influencia sobre los resultados obtenidos (Swofford *et al.* 1996, Page y Holmes 1998). Lo ideal es incluir como grupo externo al taxón hermano del grupo de interés, con el cual comparte el ancestro común más cercano (Swofford *et al.* 1996). Si se utiliza como grupo externo un taxón muy lejanamente relacionado, el gran número de cambios ocurridos a lo largo de las ramas que lo conectan al grupo interno puede afectar las relaciones inferidas entre los miembros del mismo (p. ej. produciendo el efecto de atracción de ramas largas; Swofford *et al.* 1996). Por lo tanto, al intentar dilucidar las relaciones históricas entre los miembros de un grupo, resulta muy ventajoso contar con un conocimiento previo de las relaciones filogenéticas de este grupo con otros taxa para poder identificar su taxón hermano. En el caso de que no se cuente con esta información, la selección del grupo externo se apoyará en muchos casos en el conocimiento

disponible a partir de la taxonomía tradicional y la coincidencia de rasgos morfológicos con otros taxa.

Debido a la falta de información con respecto a las relaciones filogenéticas entre *A. pertinax* y el resto de los miembros del mismo género, decidimos incluir como grupos externos para nuestros análisis un representante de cada una de las tres agrupaciones putativas sugeridas para el género *Aratinga* por Silveira *et al.* (2005) con base en análisis morfológicos: *A. acuticaudata*, miembro del grupo "*A. leucophthalma*"; *A. aurea*, del grupo "*A. pertinax*" (igual que la especie focal y por lo tanto nuestro candidato más probable para ser el taxón hermano) y *A. weddellii*, del grupo "*A. solstitialis*". Es probable que entre estas otras especies del género *Aratinga* se encuentre al menos una suficientemente cercana a *A. pertinax* que garantice una resolución adecuada de las relaciones genéticas entre sus subespecies. En este estudio sólo se procesaron las muestras correspondientes a *A. acuticaudata*. La información correspondiente a los otros dos grupos externos fue obtenida de GenBank (#AY208269, # AY669445, # AF430818) o a partir de otros investigadores (Tabla 2.2).

2.2.3.- Selección de marcadores moleculares

De las diferentes regiones que conforman el genoma mitocondrial, la región de control (RC) y la subunidad II de la NADH deshidrogenasa (ND2) se encuentran entre los marcadores más utilizados recientemente para el estudio de relaciones filogenéticas a nivel inter e intraespecífico en psitácidos (p. ej. Eberhard *et al.* 2001, Wright y Wilkinson 2001). Aun cuando no existía información sobre la variabilidad de estos marcadores en *Aratinga pertinax*, numerosas investigaciones previas indican que estas dos regiones varían muy rápidamente dentro y entre especies de aves y de otros grupos animales (Avice *et al.* 1987, Moritz *et al.* 1987). Se ha estimado que en algunos grupos la RC evoluciona de tres a cinco veces más rápidamente que el resto del genoma mitocondrial (Aquadro y Greenburg 1983 cit. Delpont *et al.* 2002). Asimismo, el gen ND2 es el tercer gen mitocondrial más variable, luego de los genes de ATPasa 8 y ND6, los

Tabla 2.2.- Listado de las muestras de tejido de *Aratinga* utilizadas como grupos externos en los análisis filogenéticos. El “ID de colección” corresponde a la identificación de la muestra dada por el colector o el museo o colección correspondiente. Las abreviaciones del origen son como sigue: LSUMNS (Louisiana State University Museum of Natural Science), GB (secuencia obtenida de GenBank; el número entre paréntesis corresponde al número de acceso). Se incluye la información de las regiones mitocondriales secuenciadas para cada muestra.

Especie	ID Colección	Origen	Región de ADNmt	Referencia
<i>A. acuticaudata</i>	B-14205	LSUMNS	RC, ND2	Este estudio
<i>A. weddellii</i>	LGEMA 1318	GB (AY208269)	RC	Ribas y Miyaki (2004)
	LGEMA 2085	GB (AY669445)	ND2	Ribas <i>et al.</i> (2005)
<i>A. aurea</i>	LGEMA346	GB (AF430818)	RC	Tavares <i>et al.</i> (2004)
			ND2	T. Wright y E. Schirtzinger (sin publicar)

Tabla 2.3.- Cebadores utilizados para la amplificación de PCR y secuenciación de las regiones mitocondriales de *Aratinga*.

Nombre del cebador	Región del ADNmt	Secuencia (5' - 3')	Referencia
L5216	ND2	GGCCCATACCCCGRAAATG	Sorenson <i>et al.</i> (1999)
H5766	ND2	RGAKGAGAARGCYAGGATYTTKCG	Sorenson <i>et al.</i> (1999)
L5758	ND2	GGNGGNTGAATRGGNYTNAAYCARAC	Sorenson <i>et al.</i> (1999)
H6313	ND2	ACTCTTRTTTAAGGCTTTGAAGGC	Sorenson <i>et al.</i> (1999)
L-Glu	RC	GCCCTGAAAARCCATCGTTG	Eberhard <i>et al.</i> (2001)
H522	RC	TGGCCCTGACYTAGGAACCAG	Eberhard <i>et al.</i> (2001)
F1	RC	CCAGGCTATGTACTTTGTAC	Este estudio
R3	RC	GCCGAACCTTACTAACAC	Este estudio
Fa	RC	GCCACCGCCCATAATTGGC	Este estudio
Ra	RC	GGTTGTCGTAGATCATGGAGTTTAC	Este estudio

cuales son mucho más cortos (Sorenson 2003), razón por la cual también ha sido ampliamente utilizado en estudios filogenéticos (p. ej. Ribas y Miyaki 2004). Debido a esto, esperábamos que la combinación de la RC y el ND2 como marcadores permitiera obtener la resolución suficiente para dilucidar las relaciones filogenéticas entre los pericos cara sucia de distintas poblaciones. Sólo en el caso de que esta primera aproximación no aportara una resolución suficiente, sería necesario expandir el muestreo en el futuro mediante el uso de regiones aun más variables, como los microsatélites.

2.2.4.- Extracción, amplificación y secuenciación del ADN

Se aisló el ADN genómico total de 31 individuos de *Aratinga pertinax* y un individuo de *A. acuticaudata* a partir de las muestras de plumas o tejidos utilizando el kit de extracción DNeasy® Tissue Kit (QIAGEN, Inc.). Para ello, se siguió el protocolo de aislamiento sugerido por el fabricante, incluyendo las modificaciones propuestas por Nishiguchi *et al.* (2002) para trabajar con muestras de plumas o museo.

Para todas las muestras, se amplificó un fragmento de la RC del ADN mitocondrial (540 pares de bases). Adicionalmente, para 14 de las muestras se amplificó el gen ND2 (1.041 pares de bases). Los siguientes pares de cebadores fueron usados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para amplificar las regiones específicas (Tabla 2.3): L5216/H6313 para el gen ND2 (~1.041 pb); L-Glu/H522 para el fragmento de la RC (~550 pb). Por otra parte, se diseñaron cuatro nuevos cebadores internos de la RC, con el fin de amplificar esta región en tres fragmentos adyacentes más cortos a partir de muestras de plumas viejas, cuyo ADN estaba muy degradado. Los fragmentos contiguos presentan solapamientos de al menos 40 pb para facilitar su posterior alineamiento. Las combinaciones de cebadores utilizadas en este caso fueron: L-Glu/Ra (~240 pb), F1/R3 (~450 pb), Fa/H522 (~200 pb).

Las amplificaciones de PCR fueron llevadas a cabo en un termociclador GeneAmp® PCR System 9700 (Applied Biosystems 2001) o en un PTC-100™ Programmable Thermal Controller (MJ Research Inc.). Se utilizaron reacciones de 25 o 50 µL, a concentraciones

finales de 1X Buffer PCR II GeneAmp (Applied Biosystems), 2,5 mM de $MgCl_2$ (Applied Biosystems), 200 μ M de cada dNTP (Applied Biosystems), 0,4 μ M de cada cebador y 0,2 unidades de AmpliTaq® DNA Polymerase (Applied Biosystems). La cantidad de solución de ADN utilizada en cada reacción varió entre 1,0 y 6,0 μ L, dependiendo de la calidad de la muestra. Las condiciones de PCR fueron un paso inicial de desnaturalización de 94°C por 3 min. seguido por 5 primeros ciclos de 94°C por 45 s, 50°C por 30 s y 72°C por 1 min.; a continuación 30 ciclos de 94°C por 45 s, 56°C por 30 s y 72°C por 1 min., y por último una extensión final de 72°C por 5 min (J. Eberhard com. pers.).

Se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 1% de alícuotas de 3 μ L de los productos amplificados, junto con 3 μ L de un marcador de pesos moleculares ("Low DNA Mass Ladder", Invitrogen), con el fin de confirmar la presencia de una sola banda del tamaño esperado. Los productos de PCR fueron enviados a MacroGen Inc. Korea (<http://www.macrogen.com>) para su purificación y secuenciación. En la reacción de secuenciación de la RC se utilizaron los mismos cebadores empleados en la amplificación de PCR, mientras que el gen ND2 fue secuenciado en dos fragmentos adyacentes, utilizando los siguientes pares de cebadores: L5216/H5766 para la primera mitad (~550 pb); L5758/H6313 para la segunda mitad ND2 (~555 pb).

Para cada muestra, se secuenciaron las dos hebras de cada región estudiada; en el caso del gen ND2, esto fue hecho a partir de productos de PCR de reacciones independientes. En el caso de la RC, se secuenció adicionalmente una réplica de alguna de las dos hebras. Esta precaución se tomó con el fin de asegurar una correcta caracterización de la secuencia nucleotídica y corregir por posibles errores de la polimerasa (Avisé *et al.* 1987, Moritz *et al.* 1987).

Estudios previos han reportado la existencia de copias nucleares de genes mitocondriales en aves (denominados pseudogenes) que podrían ser amplificados preferentemente en las reacciones de PCR (p. ej. Pereira y Baker 2004), y por lo tanto, confundir los análisis de divergencia genética e inferencia filogenética (Lovette *et al.* 1999). Sin embargo, varios hechos sugirieron que las secuencias amplificadas en este

estudio eran de origen mitocondrial: no se detectaron contaminantes en los productos de PCR, observándose bandas únicas del tamaño esperado en los geles de agarosa; la composición de bases encontrada era típica del ADN mitocondrial de las aves; no se encontraron codones de parada dentro de la región codificante (ND2) y todas las secuencias obtenidas alinean fácilmente con otras secuencias mitocondriales de psitácidos (Lovette *et al.* 1999, Ribas y Miyaki 2004, Sinclair *et al.* 2005).

2.2.5.- Alineamiento de las secuencias y estadísticas

Los cromatogramas fueron comparados, editados y confirmados utilizando el programa BioEdit Sequence Alignment Editor v. 5.0.9 (Hall 1999) para obtener una secuencia de consenso para cada muestra. Para ello, se corrigieron las incongruencias cuando era posible (en aquellos casos en que al menos dos cromatogramas de una muestra mostraban picos marcados claramente correspondientes a un nucleótido). Cuando esto no fue posible, se incluyó en la secuencia una "N" con el fin de denotar que se desconocía el nucleótido presente en esa posición. Sin embargo, esto sólo fue necesario para dos secuencias de la RC (Guarico1, N=2; Curazao1, N=1).

Las secuencias consenso resultantes fueron alineadas mediante el programa Clustal X v. 1.81 (Thompson *et al.* 1997). Tal como era de esperar para un gen codificante, el alineamiento del gen ND2 fue completo, ya que no presentó eventos de inserción y/o delección (indels), al contrario de lo que ocurrió en la RC, una región no-codificante, en la cual están presentes varios de estos eventos. Siguiendo el procedimiento sugerido por Hall (2004), para esa región se realizaron distintos alineamientos probando diferentes penalizaciones para la apertura y extensión de gaps, escogiéndose finalmente las penalizaciones que el programa utiliza por defecto: 15,0 para la apertura de gaps y 6,66 para su extensión, tanto en los alineamientos pareados como múltiples. Estos valores de los parámetros fueron seleccionados ya que permitían mantener los bloques conservados de las secuencias minimizando el número y tamaño de los eventos de los indels.

Con el fin de caracterizar las secuencias incluidas en los análisis, se calcularon la composición de bases, el cociente entre el número de transiciones y transversiones (T_s/T_v) y la divergencia porcentual entre secuencias (distancia p ; Nei 1987) y distancias de Kimura con un modelo de dos parámetros, entre cada par de secuencias (K2-P; Kimura 1980). Estas dos distancias son medidas de la proporción de sitios nucleotídicos en que divergen dos secuencias, la primera (distancia p) sin corregir por sesgos en las tasas de sustituciones, los cuales sí son tomados en cuenta por el modelo de dos parámetros de Kimura (Nei y Kumar 2000). Todos los cálculos se realizaron utilizando MEGA v. 3.1 (Kumar *et al.* 2001) y/o PAUP* (v. 4.0b10; Swofford 2002). Las mediciones de divergencia se obtuvieron para todas las comparaciones pareadas de secuencias (datos no mostrados) así como agrupando las muestras por subespecie, tanto para las secuencias de la RC como las del ND2. En el caso de las comparaciones entre subespecies, sólo para las muestras de *A. p. venezuelae* las secuencias correspondientes a distintas regiones geográficas fueron separadas en grupos diferentes. Esto se debió a que dada la amplia distribución geográfica de esta subespecie, la obtención de distancias promedios a partir de muestras muy distantes podría oscurecer los patrones de diferenciación geográfica existentes. Así, las muestras de *A. p. venezuelae* procedentes del norte del Orinoco fueron diferenciadas según su ubicación en: muestras de la región noroeste (NO; Falcón, Lara y Yaracuy), muestras de la región nor-central (NC; Guárico y Miranda) y muestras de la región noreste (NE; Anzoátegui y Sucre). En el caso de las muestras procedentes del sur del Orinoco, se diferenció igualmente entre las muestras del suroeste (SO; Amazonas) y las del sureste (SE; Bolívar). Adicionalmente, se calcularon las distancias génicas promedio entre las muestras de perico cara sucia y los grupos externos.

2.2.6.- Análisis Filogenético

Todos los análisis filogenéticos descritos a continuación fueron realizados en PAUP* (versión 4.0b10; Swofford 2002) excepto cuando se señala explícitamente otro programa.

Primero, con el fin de explorar si las dos regiones mitocondriales seleccionadas como marcadores (RC y ND2) reflejaban una misma historia evolutiva, se evaluó su

congruencia filogenética aplicando por triplicado una prueba de homogeneidad de las particiones (Bull *et al.* 1993) con 2.000 réplicas. Igualmente, se realizó una prueba de homogeneidad de particiones para comparar los caracteres “neutrales” (conformados por la RC y la tercera posición de los codones de ND2) *vs.* los caracteres predominantemente sujetos a selección (las primeras dos posiciones de los codones del gen ND2). En ninguno de estos casos se observaron diferencias significativas entre las particiones ($p > 0.9$), por lo que se decidió combinar los datos de ambos marcadores en una sola matriz (concatenando las secuencias de ND2 y la RC para todas las muestras). En esta matriz combinada se sustituyó la información del gen ND2 por “datos faltantes” (“missing data”) para aquellos individuos para los cuales no se secuenció esta región, obteniéndose de esta forma 34 secuencias de 1.581 pb, entre las cuales se incluían los tres grupos externos. Adicionalmente, se creó una segunda matriz de datos de la cual se excluyeron todas las muestras procedentes de mascotas, la cual estaba formada por 24 muestras de 1.581 pb, incluyendo las correspondientes a los tres grupos externos. Esto se debió a que a pesar de que sólo se utilizaron muestras procedentes de mascotas para las cuales se tenía un alto grado de confianza con respecto a su origen (es decir, que procedían de dueños que eran directamente los captores de los animales, o que podía contar detalladamente como habían sido obtenidos por una segunda persona así como el lugar y forma en que habían sido capturados), siempre existirá una incertidumbre inherente a estas muestras que podría afectar los resultados de los análisis.

Una vez construidas las matrices de datos, se utilizó el programa COLLAPSE 2.1 (Posada 2004) para obtener los haplotipos únicos presentes en cada una de ellas y así reducir el tiempo de cálculo en los análisis siguientes. En la selección de los haplotipos no se tomaron en consideración las diferencias entre secuencias basadas en datos faltantes (“missing data”). De esta forma, la matriz con todas las muestras (34 secuencias en total, 31 de *A. pertinax* y tres grupos externos) se redujo a 30 secuencias de 1.581 pb (27 haplotipos de *A. pertinax* y tres haplotipos de los grupos externos), mientras que la matriz de la cual se excluyeron las mascotas quedó conformada por 19 secuencias (16 haplotipos de *A. pertinax* y tres haplotipos de los grupos externos). Estas matrices de haplotipos únicos constituyeron los datos utilizados para la estimación de la filogenia

molecular del perico cara sucia aplicando el método de máxima verosimilitud. Los pasos seguidos se detallan a continuación, y se resumen en la Tabla 2.4.

Como primer paso para inferir las relaciones filogenéticas entre las muestras de *A. pertinax*, se buscó el modelo de evolución molecular que mejor se adaptara a los datos e incluyera el menor número de parámetros. Esta búsqueda juega un papel fundamental en la construcción de cualquier filogenia molecular mediante el método de máxima verosimilitud, y afecta casi todos las etapas de la inferencia filogenética (Posada y Buckley 2004). Iniciamos utilizando el programa MODELTEST v. 3.7 (Posada y Crandall 1998) para identificar el modelo más sencillo y de mejor ajuste entre las 56 opciones disponibles en el programa, según el criterio de información de Akaike (AIC, Akaike Information Criterion), resultando seleccionado el modelo de trasversión, con con los siguientes parámetros por estimar: proporción de sitios invariables (I) y el parámetro de la curva de la distribución gamma (α) (modelo TVM+I+G; Posada y Crandall 1998). En vista de que el número de modelos inspeccionados por este programa es limitado, se procedió a continuación a determinar si existía un modelo de evolución más adecuado (con un menor número de parámetros, sin que su verosimilitud se viera afectada de modo significativo). Para ello, se inspeccionaron los parámetros del modelo seleccionado por MODELTEST, observándose que las tasas estimadas de transversión de A a C y de C a G eran muy similares (0,48 y 0,46, respectivamente), por lo que se creó un nuevo modelo más sencillo en el que éstas tasas se igualaron. Ambos modelos fueron posteriormente comparados mediante una prueba de verosimilitud de cocientes (LRT; Page y Holmes 1998), la cual resultó no significativa, razón por la cual se seleccionó el modelo más sencillo (denominado de aquí en adelante el modelo TVM+I+G reducido).

Luego de seleccionar el modelo evolutivo más adecuado para nuestros datos, se procedió a implementar una estrategia de búsqueda iterativa con el fin de ajustar sus parámetros, antes de buscar la topología del árbol final (Sullivan 2005, Swofford com. pers.). El primer paso de esta búsqueda consistió en la generación de un árbol arbitrario inicial. En nuestro caso, se construyó un árbol de Neighbor Joining (NJ; Saitou y Nei 1987) basado en las distancias de Kimura-2 Parámetros (K2P) y 1.000 replicaciones de bootstrap, a partir del cual se obtuvieron los primeros estimados de parámetros para el

modelo de evolución. Teniendo estos estimados como base, se procedió a estimar la topología de un árbol de Mínima Evolución (ME, Page y Holmes 1998), fijando los valores de los parámetros del modelo evolutivo previamente seleccionado, y a partir de él se re-optimizaron los parámetros del modelo. A partir de los parámetros refinados se condujo una nueva búsqueda de ME y se re-optimizaron los parámetros del modelo, repitiendo este proceso hasta que iteraciones sucesivas resultaron en un mismo valor de verosimilitud. Para el caso en estudio, esto ocurrió a partir de la tercera repetición. Los parámetros así estimados fueron fijados para los siguientes pasos de la estimación de la filogenia.

Una vez ajustados los estimados de los parámetros del modelo evolutivo, se procedió a estimar la topología y largos de las ramas del árbol filogenético de *A. pertinax* aplicando el método de Máxima Verosimilitud (MV; Swofford *et al.* 1996) para cada una de las dos matrices de datos (con y sin mascotas). Este análisis fue realizado mediante búsquedas heurísticas de árboles, asignándole el mismo peso a todos los caracteres, aplicando el método de “Tree bisection-reconnection” (TBR; Swofford *et al.* 1996) para el intercambio de ramas y realizando una sola réplica de adición de secuencias aleatorias (“random addition replicates”). En cada paso se guardó un máximo de 5 árboles para evitar los efectos que una muy baja variación entre secuencias podría tener en el análisis de bootstrap, al resultar en la construcción de pseudo réplicas con poca o ninguna información filogenética (Sullivan 2005). La robustez de los árboles y el soporte relativo de los agrupamientos monofiléticos inferidos fue determinada por 100 réplicas de bootstrap (Felsenstein 1985), guardándose los distintos árboles de máxima verosimilitud de cada réplica. A partir de éstos, se creó el árbol consenso siguiendo la regla del 50%; es decir, sólo fueron retenidos en el árbol consenso aquellos grupos que estaban presentes al menos en la mitad de los árboles de máxima verosimilitud obtenidos (Swofford 2002, Lowe *et al.* 2004). Todos los árboles fueron enraizados en base a los grupos externos (Swofford *et al.* 1996).

Tabla 2.4.- Resumen de las etapas seguidas para la estimación del árbol filogenético de máxima verosimilitud de *Aratinga pertinax*

Etapas	Insumo	Pasos	Producto
Búsqueda del modelo evolutivo con un menor número de parámetros que mejor se ajuste a los datos	Matriz de datos combinados (haplotipos únicos)	MODELTEST: - Comparación de 56 modelos evolutivos diferentes - Selección del modelo de mejor ajuste más sencillo (criterio de información de Akaike)	Modelo seleccionado: TVM+I+G
Búsqueda de un modelo con mejor ajuste (no considerado por Modeltest)	Modelo TVM+I+G y estimados de sus parámetros	- Inspección de los parámetros estimados para TVM+I+G - Reducción del número de parámetros del modelo, igualando estimados muy similares	Modelo alternativo propuesto: TVM+I+G reducido y estimación de sus parámetros
Comparación del modelo completo y reducido y selección del modelo a usar	Modelo TVM+I+G y Modelo TVM+I+G reducido	- Prueba de verosimilitud de cocientes (comparación de modelos) - Selección del modelo con mayor verosimilitud y menor número de parámetros	Modelo seleccionado: TVM+I+G reducido
Ajuste final de los parámetros del modelo de evolución seleccionado (proporción de sitios variables I y curva de la distribución gamma α)	Modelo TVM+I+G reducido	- Generación de un árbol arbitrario inicial (NJ) - Estimación de parámetros del modelo evolutivo - Estimación de la topología del árbol de mínima evolución (ME), fijando los parámetros estimados previamente - Reestimación de parámetros fijando la topología de ME - Estimación de la topología del árbol de ME, fijando los parámetros estimados en el paso anterior - Repetición del paso anterior hasta obtener el mismo valor de verosimilitud en iteraciones sucesivas	Estimados finales de los parámetros del modelo evolutivo
Construcción del árbol de máxima verosimilitud (estimación de la topología)	Modelo TVM+I+G reducido y estimados de parámetros finales	- Búsqueda heurística de árboles de MV (caracteres con igual peso, intercambio de ramas por TBR y añadiendo una secuencia aleatoria) - Enraizado de árboles en base a los grupos externos - Determinación de robustez y soporte relativo de los agrupamientos monofiléticos (100 réplicas de bootstrap) - Construcción del árbol consenso (regla del 50%)	Topología de 177 árboles de máxima verosimilitud y topología del árbol consenso

Relación entre los haplotipos

Adicionalmente a la construcción del árbol de máxima verosimilitud, se utilizó el programa Network 4.2.0.0 (Fluxus Technology Ltd. 2004) con el fin de visualizar las relaciones entre los haplotipos de las 31 muestras de *Aratinga pertinax* incluidas en este estudio. Se dibujó el diagrama de haplotipos utilizando el método de “median joining” (Bandelt *et al.* 1999), el cual permite inferir los posibles caminos alternativos de evolución entre secuencias estrechamente relacionadas, representándolos en forma de ciclos. Para ello, el método combina el algoritmo de Kruskal (1956) para encontrar árboles mínimos y el algoritmo de máxima parsimonia de Farris (1970) en la construcción de redes, en las cuales los vectores medianos entre haplotipos pueden ser interpretados como secuencias existentes no muestreadas o secuencias ancestrales extintas (Bandelt *et al.* 1999). En este análisis, sólo se incluyeron las secuencias de la RC, ya que los datos faltantes del gen ND2 para algunas muestras imposibilitan la comparación de los haplotipos respectivos.

2.3.- Resultados

2.3.1.- Características de las secuencias

Se obtuvieron en total secuencias de 1.581 nucleótidos (RC y ND2) de 14 muestras de *Aratinga pertinax* y una de *A. acuticaudata*, así como secuencias de 540 pb (RC) para otras 17 muestras de *A. pertinax* (Tabla 2.1). Estas secuencias serán depositadas en el GenBank. La composición de bases del ADN mitocondrial del perico cara sucia se caracterizó por presentar una frecuencia de citosina y adenina ligera pero significativamente mayor en las secuencias del gen ND2 estudiadas que en las de la RC, las cuales mostraron una mayor frecuencia de timina (Tabla 2.5). Estas frecuencias son semejantes a las que han sido obtenidas por otros autores al estudiar regiones mitocondriales de otros psitácidos (Wright y Wilkinson 2001, Ribas y Miyaki 2004, Tavares *et al.* 2004, Ribas *et al.* 2005).

Tabla 2.5.- Sitios variables, sitios informativos, composición nucleotídica y cociente de transiciones y transversiones (T_s/T_v) de dos regiones mitocondriales (fragmento de la región de control y gen ND2) de *Aratinga pertinax*.

	RC	ND2
Número de pares de bases	540	1041
Número de muestras	31	14
Número de sitios variables (%)	57 (10,6)	38 (3,7)
Número de sitios informativos (%)	40 (7,4)	1 (0,1)
%A	24,3	32,2
%C	25,1	34,8
%G	18,0	8,4
%T	32,6	24,6
Cociente T_s/T_v (error estándar)	5,9 (3,8)	8,9 (6,9)

De los dos marcadores moleculares analizados, la RC resultó ser mucho más variable que el gen ND2, presentando el mayor contenido de información filogenética. No obstante, la variabilidad de las dos regiones fue menor a la esperada. Al considerar sólo las secuencias de *A. pertinax*, entre las 1.581 bases sólo se encontraron 95 caracteres variables, 41 de los cuales resultaron filogenéticamente informativos, todos menos uno ubicados en la RC (Tabla 2.5). Al considerar estas secuencias junto con las de los grupos externos, el número de caracteres variables aumentó a 391. De ellos, 71 sitios de la RC y 76 sitios del ND2 resultaron informativos. Basándose en estos resultados fue que se decidió no secuenciar el gen ND2 para el resto de las muestras. Dada la poca variabilidad de este marcador, no se esperaba que un incremento en el número de bases por muestra (añadiendo la secuencia del ND2 a la secuencia de la RC) mejorara significativamente la resolución del análisis filogenético. Por otra parte, en ambas regiones estudiadas el número de transiciones observadas fue mayor que el número de transversiones. Así, del total de sitios informativos, 37 corresponden a transiciones (73% de ellas representadas por cambios entre timina y citosina) y apenas cuatro corresponden a transversiones (75% de ellas debidas a cambios entre adenina y citosina). Las mutaciones presentes en las secuencias de las poblaciones insulares incluyen seis sitios informativos, correspondiendo todos ellos a transiciones.

2.3.2.- Distancias genéticas

Las distancias génicas entre las secuencias de *A. pertinax* fueron bajas en general, tanto dentro de una misma localidad como entre localidades y entre subespecies. Para la RC, las distancias K2P entre individuos de una misma localidad estuvieron entre 0,0% y 1,1%, observándose las mayores divergencias entre los dos individuos procedentes del estado Amazonas. Al comparar las secuencias correspondientes a individuos de subespecies diferentes (Tabla 2.6), sólo las secuencias de *A. p. venezuelae* del SO del país (Edo. Amazonas) presentaron una alta divergencia con respecto al resto, tanto de aquellas pertenecientes a la misma subespecie pero procedentes de localidades geográficas lejanas (6,1% - 6,4%), como de aquellas correspondientes a las otras subespecies (5,8% - 6,7%). De hecho, al excluir del análisis las muestras correspondientes al estado Amazonas, la distancia K2P promedio entre las secuencias de la RC de *A. pertinax* se reduce casi a la mitad (de 1,5% pasa a 0,8%). Igualmente, la comparación de las distancias génicas entre las secuencias del gen ND2 también sugiere una baja divergencia entre localidades y subespecies (Tabla 2.6), con la única excepción de *A. p. venezuelae* del SO, que se diferencia del resto de las subespecies en un 2,9% - 3,0%. Estas bajas distancias entre secuencias sugieren una estrecha relación entre las diferentes poblaciones incluidas en los análisis, al menos para los marcadores estudiados.

Por otra parte, *A. aurea* resultó ser el grupo externo menos divergente con respecto a *A. pertinax*, encontrándose distancias K2P entre las secuencias de la RC de estos taxa entre 10,3% y 11,7%. Los otros dos grupos externos se diferenciaban de las secuencias de perico cara sucia incluidas por un mayor número de cambios, el cual varió entre 17,2% - 18,0% (*A. acuticaduata*) y 16,4% - 18,6% (*A. weddellii*). Estas divergencias fueron ligeramente menores al comparar las secuencias del gen ND2 (Tabla 2.7).

Finalmente, no encontramos evidencia de sustituciones múltiples en nuestros datos. Las distancias K2P eran muy similares a las distancias *p*, lo cual coinciden con la baja divergencia entre las secuencias. Verificamos esto graficando el número absoluto de transiciones contra la distancia *p* para todas las comparaciones pareadas de secuencias de ambos marcadores (Page y Holmes 1998); no observamos desviaciones de la linealidad (datos no mostrados).

Tabla 2.6.- Divergencia génica de la RC (distancia K2P) entre las subespecies de *Aratinga pertinax*. Los valores de la diagonal (resaltados en negro) corresponden a las distancias entre las muestras de una misma subespecie, mientras que los valores por debajo de la diagonal corresponden a las distancias K2P entre subespecies. Los valores por encima de la diagonal corresponden al error estándar de la distancia entre muestras. Las muestras de *A. p. venezuelae* fueron agrupadas según su cercanía geográfica (ver texto para mayores detalles).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1.- <i>A. p. aeruginosa</i>	0,0	0,2	0,4	0,3	0,0	0,5	0,3	0,1	,02	0,2	1,1	0,1	0,2	2,0	1,6	1,9
2.- <i>A. p. arubensis</i>	0,4	0,8	0,4	0,3	0,2	0,5	0,4	0,2	0,3	0,3	1,1	0,2	0,3	2,0	1,6	1,9
3.- <i>A. p. chrysophrys</i>	0,8	1,2	-	0,4	0,4	0,5	0,4	0,4	0,4	0,3	1,1	0,4	0,4	2,0	1,5	1,9
4.- <i>A. p. margaritensis</i>	0,4	0,8	1,2	0,2	0,3	0,5	0,3	0,3	0,3	0,3	1,0	0,2	0,2	2,0	1,5	1,9
5.- <i>A. p. pertinax</i>	0,0	0,4	0,8	0,4	0,0	0,5	0,3	0,1	0,2	0,2	1,1	0,1	0,2	2,0	1,6	1,9
6 - <i>A. p. surinama</i>	1,4	1,8	1,8	1,4	1,4	0,2	0,4	0,5	0,4	0,5	1,0	0,5	0,5	2,0	1,5	1,9
7.- <i>A. p. tortuguensis</i>	0,6	1,0	1,0	0,6	0,6	1,3	0,0	0,3	0,3	0,3	1,1	0,3	0,4	2,0	1,5	1,9
8.- <i>A. p. venezuelae</i> (NO)	0,3	0,7	1,0	0,7	0,3	1,6	0,8	0,6	0,2	0,2	1,1	0,2	0,2	2,0	1,5	1,9
9.- <i>A. p. venezuelae</i> (NC)	0,7	1,1	1,2	1,0	0,7	1,6	1,0	0,9	1,1	0,3	1,1	0,3	0,3	2,0	1,5	1,9
10.- <i>A. p. venezuelae</i> (NE)	0,5	0,9	0,9	0,7	0,5	1,5	0,7	0,8	1,0	1,0	1,1	0,2	0,3	2,0	1,5	1,9
11.- <i>A. p. venezuelae</i> (SO)	6,2	6,7	6,2	5,8	6,2	5,9	6,0	6,1	6,2	6,3	1,1	1,1	1,1	2,0	1,6	2,0
12.- <i>A. p. venezuelae</i> (SE)	0,3	0,6	1,0	0,5	0,3	1,6	0,7	0,6	0,9	0,6	6,4	0,5	0,2	2,0	1,6	1,9
13.- <i>A. p. xanthogenia</i>	0,2	0,6	1,0	0,2	0,2	1,6	0,8	0,5	0,9	0,7	6,0	0,4	0,0	2,0	1,5	1,9
14.- <i>A. acuticaudata</i>	17,7	18,0	17,2	17,4	17,7	17,5	17,4	17,7	17,9	17,5	17,9	17,7	17,4	-	2,0	2,4
15.- <i>A. aurea</i>	11,0	11,5	10,6	10,6	11,0	10,8	10,3	11,2	11,1	10,9	11,7	11,2	10,8	17,6	-	2,4
16.- <i>A. weddellii</i>	16,6	16,6	16,6	16,6	16,6	16,7	16,4	16,5	16,7	16,7	18,6	16,8	16,8	22,5	21,5	-

Tabla 2.7.- Divergencia génica del gen ND2 (distancia K2P) entre las subespecies de *Aratinga pertinax*. Los valores de la diagonal (resaltados en negro) corresponden a las distancias entre las muestras de una misma subespecie, mientras que los valores por debajo de la diagonal corresponden a las distancias K2P entre subespecies. Los valores por encima de la diagonal corresponden al error estándar de la distancia entre muestras. Las muestras de *A. p. venezuelae* fueron agrupadas según su cercanía geográfica (ver texto para mayores detalles).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1.- <i>A. p. arubensis</i>	-	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,5	0,1	0,1	1,2	0,8	1,1
2.- <i>A. p. aeruginosa</i>	0,1	-	0,1	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,1	0,5	0,0	0,0	1,3	0,8	1,1
3.- <i>A. p. chrysophrys</i>	0,2	0,1	-	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,5	0,1	0,1	1,3	0,8	1,1
4.- <i>A. p. margaritensis</i>	0,2	0,1	0,2	-	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,5	0,1	0,1	1,3	0,8	1,1
5.- <i>A. p. pertinax</i>	0,1	0,0	0,1	0,1	-	0,1	0,0	0,0	0,1	0,5	0,0	0,0	1,3	0,8	1,1
6 - <i>A. p. surinama</i>	0,3	0,2	0,3	0,3	0,2	-	0,1	0,1	0,2	0,5	0,1	0,1	1,3	0,9	1,1
7.- <i>A. p. tortuguensis</i>	0,1	0,0	0,1	0,1	0,0	0,2	-	0,0	0,1	0,5	0,0	0,0	1,3	0,8	1,1
8.- <i>A. p. venezuelae</i> (NO))	0,1	0,0	0,1	0,1	0,0,	0,2	0,0	-	0,1	0,5	0,0	0,0	1,3	0,8	1,1
9.- <i>A. p. venezuelae</i> (NC)	0,30	0,2	0,3	0,3	0,2	0,4	0,2	0,2	0,4	0,5	0,1	0,1	1,3	0,8	1,1
10.- <i>A. p. venezuelae</i> (SO)	3,0	2,9	3,0	3,0	2,9	3,1	2,9	2,9	3,0	-	0,5	0,5	1,3	0,9	1,2
11.- <i>A. p. venezuelae</i> (SE)	0,1	0,0	0,1	0,1	0,0	0,2	0,0	0,0	0,2	2,9	0,1	0,0	1,3	0,8	1,1
12.- <i>A. p. xanthogenia</i>	0,1	0,0	0,1	0,1	0,0	0,2	0,0	0,0	0,2	2,9	0,0	-	1,3	0,8	1,1
13.- <i>A. acuticaudata</i>	14,2	14,4	14,2	14,5	14,4	14,6	14,4	14,4	14,4	14,4	14,4	14,4	-	1,3	1,3
14.- <i>A. aurea</i>	6,9	6,8	6,9	6,9	6,8	7,0	6,8	6,8	7,0	6,2	6,8	6,8	15,4	-	1,2
15.- <i>A. weddellii</i>	11,3	11,5	11,3	11,6	11,5	11,5	11,5	11,5	11,6	12,2	11,5	11,5	14,3	13,3	-

2.3.3.- Análisis filogenéticos

Encontramos tres haplotipos que se repetían en más de una muestra, ya fuera en la misma localidad y/o en otra localidad. Así, las secuencias de las muestras de la isla La Tortuga y de Bonaire fueron iguales. Igualmente, las secuencias de Aruba, Curazao, Falcon2 y Bolívar3, estas dos últimas procedentes de mascotas, fueron idénticas. Esto explica el que la matriz final de haplotipos únicos estuviera constituida por 27 secuencias de 1.581 pb (24 haplotipos de *A. pertinax* y tres haplotipos de los grupos externos).

A partir de esta matriz, y bajo el modelo evolutivo seleccionado (TVM+I+G reducido) y los parámetros estimados, el análisis de bootstrap (100 réplicas) resultó en más de un árbol de máxima verosimilitud para muchas de las réplicas, obteniéndose en total 177 árboles de topología diferente para la matriz de datos completa y 165 para la matriz de datos sin mascotas. Los dos árboles consenso construidos a partir de los resultados del bootstrap fueron congruentes con los árboles de Neighbor Joining (no mostrados), obtenidos en el primer paso de la búsqueda iterativa, excepto por pequeñas variaciones en los agrupamientos de taxa apoyados por valores de bootstrap bajos dentro del grupo interno.

En la filogenia inferida a partir de todas las secuencias, destacan cuatro resultados principales (Figura 2.4). En primer lugar, se observó que todas las muestras de *A. pertinax* incluidas en el análisis constituyen un grupo monofilético en relación a las otras especies del mismo género utilizadas como grupos externos, aunque con un soporte de bootstrap de sólo 77%. Este resultado apoya la robustez de la especie como grupo taxonómico, a pesar de la gran variabilidad morfológica (coloración del plumaje) presente entre sus integrantes. Sin embargo, será necesario estimar una filogenia en la que estén representadas todas las especies del género para confirmar la validez de este agrupamiento. En segundo lugar, *A. aurea* parece ser el grupo externo más cercano a *A. pertinax*, al menos entre los taxa aquí considerados, según lo indica la menor longitud de su rama y suponiendo un reloj molecular. Este resultado apoya la diferenciación de

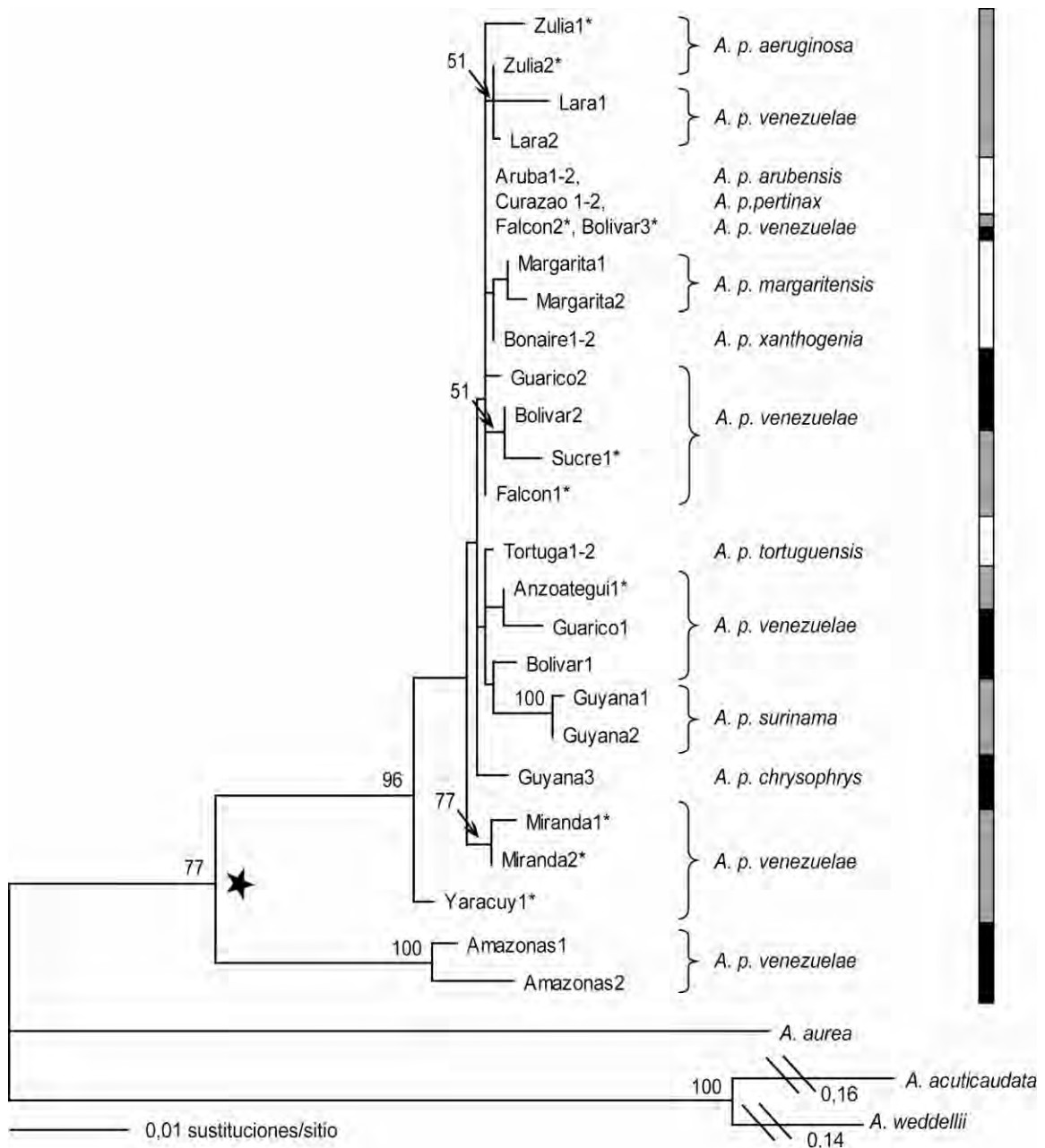


Figura 2.4.- Reconstrucción filogenética de *Aratinga pertinax* que incluye muestras de mascotas, basada en 1.581 pb de secuencias de ADN mitocondrial (ND2 y RC) utilizando el método de máxima verosimilitud (TVM+G+I reducido; I= 0,374716, $\alpha=0,615742$; A=0,29949, C=0,32173, G=0,11818, T=0,26060). Este árbol corresponde a uno de los 177 árboles resultantes del análisis de bootstrap (-ln verosimilitud = 4480,01161). Su topología coincide con el árbol consenso (sobre las ramas se presentan los valores de bootstrap ≥ 50 del mismo). La estrella señala la base del grupo interno (*A. pertinax*), mientras que la barra a la derecha indica el tipo de población a la que pertenece cada muestra: blanco = isla, gris = zona costera, negro = zona del interior continental. Las muestras de mascotas se señalan con un asterisco.

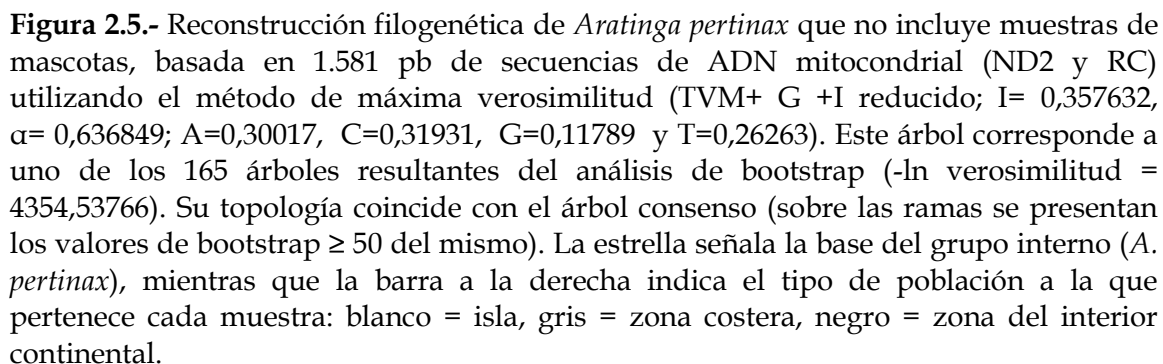
grupos putativos realizada por Silveira *et al.* (2005), quienes con base en caracteres morfológicos agruparon a estas dos especies dentro de un mismo grupo, diferente al de los otros *Aratinga* aquí considerados. En tercer lugar, se observa que existen cuatro divisiones bien apoyadas dentro de la especie (valores de bootstrap >75%; Felsenstein 2004). La primera de ellas separa las dos muestras procedentes del SO del estado Amazonas del resto de las muestras procedentes de la región norte e insular del país. La segunda, separa la muestra de mascota procedente de Yaracuy (región costera centro-occidental) del resto de los miembros del clado interno. Las otras dos divisiones con un alto valor de bootstrap agrupan un par de muestras procedentes de la misma localidad continental (Miranda1 y Miranda2) y un par de muestras cercanas a las costas de Guyana (Guyana1 y Guyana2). Este último agrupamiento (valor de bootstrap de 100%) resulta particularmente interesante ya que para muestras procedentes de localidades venezolanas, separadas por distancias geográficas similares a la que separa a las muestras de Guyana (aproximadamente 125 Km), no se encontró una relación tan estrecha. Por último, a pesar de estas tres divisiones internas, destaca el hecho de que en la filogenia de máxima verosimilitud, las relaciones entre el resto de las poblaciones de *A. pertinax* no están bien resueltas. Muestras procedentes de las poblaciones de las islas, la región costera y diversos puntos de tierra firme forman una politomía, en la que la gran mayoría de los nodos internos presentan valores de apoyo de bootstrap < 50%. Sin embargo, hay que resaltar que dentro de este clado interno, las secuencias de la isla La Tortuga no se agrupan con el resto de las muestras procedentes de las islas.

Cuando se estudia el posible efecto de las mascotas, se observa que sólo dos de estas muestras, las que procedían de Dabajuro (Falcon2) y El Frío (Bolivar3), podrían ser indicadores de un flujo genético alto de individuos entre diferentes poblaciones, ya que resultaron ser idénticos a los haplotipos de Aruba y Curazao a pesar de las distancias y separación geográfica. Estas muestras proceden de mascotas de las que sus dueños aseguraron fueron extraídas directamente de los nidos por algún familiar en las cercanías de ambos centros poblados, por lo que consideramos que el nivel de confianza de su origen es alto.

Al comparar la filogenia obtenida a partir de todas las muestras de perico cara sucia disponibles y la topología del árbol de máxima verosimilitud del que se excluyeron las secuencias correspondientes a mascotas (Figura 2.5), no se encontraron diferencias notables. Las muestras del estado Amazonas se diferencian (con un alto valor de bootstrap) del resto de las secuencias de *A. pertinax*, la mayoría de las cuales forman un clado polifilético con baja resolución entre secuencias. Sólo se diferencian de este clado las dos muestras cercanas a la costa de Guyana, correspondientes a *A. p. surinama*.

2.3.4.- Análisis de haplotipos

Al visualizar las relaciones entre los haplotipos de la RC presentes en cada una de las localidades incluidas en este análisis (Figura 2.6), se encontraron tres patrones relevantes a las relaciones entre las islas y la costa de tierra firme. En primer lugar, la red de haplotipos resultante presentó una topología en forma de estrella, donde el haplotipo más común (Aruba1) ocupa una posición central y es compartido tanto por poblaciones insulares como continentales cercanas y lejanas. En segundo lugar, dentro de cada isla se encontraron haplotipos idénticos, con excepción de Margarita, cuyas secuencias se diferenciaron en apenas una posición nucleotídica. En cambio, dentro de las localidades continentales se observó una mayor divergencia. Cuando se comparan las divergencias intralocales promedio de las localidades de tierra firme y de las insulares, las primeras resultan significativamente mayores (prueba-*t*, $P=0,0019$). Por último, al estudiar las relaciones entre las muestras de las islas se observa que la isla La Tortuga presenta el haplotipo más divergente con respecto a las demás. Todas las secuencias procedentes de las Antillas Holandesas estaban separadas entre sí por un máximo de un cambio nucleotídico, mientras que la isla de Margarita presentaba secuencias muy cercanas a ellas. Sin embargo, la isla La Tortuga presentó un haplotipo con tres o más cambios con respecto a las otras islas.



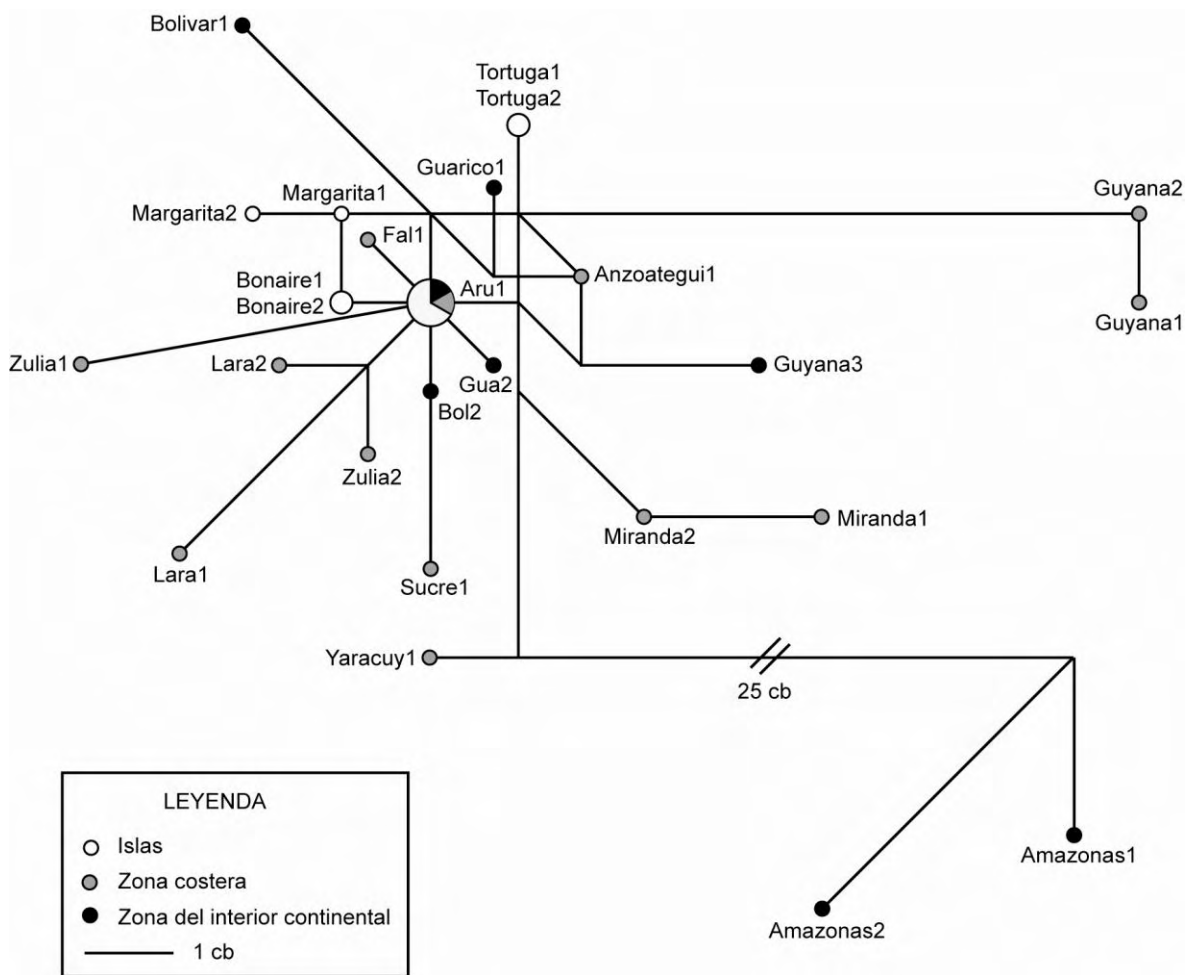


Figura 2.6.- Diagrama de haplotipos de las secuencias de la RC de *Aratinga pertinax* incluidas en este estudio. El tamaño del círculo es proporcional al número de veces que se encontró ese haplotipo dentro de las muestras. Ver Tabla 2.1 para mayor información sobre las muestras. Abreviaciones: Aru1 = Aruba1, Aruba2, Curazao1, Curazao2, Fal1 = Falcon1; Gua2 = Guarico2; cb = cambio de base.

2.4.- Discusión

2.4.1.- Relaciones entre las poblaciones insulares y de tierra firme

Nuestro análisis filogenético no permite distinguir con certeza entre la gama de posibilidades del origen histórico de las poblaciones insulares de *Aratinga pertinax*. Sin embargo, los resultados sí sugieren que estas subespecies no forman un clado recíprocamente monofilético. Tanto el análisis de máxima verosimilitud como la visualización de la red de haplotipos indican una estrecha relación entre las secuencias de todas las poblaciones de pericos cara sucia muestreadas, con excepción de Amazonas, y menos marcadamente, Guyana y Miranda. En la filogenia, el resto de las secuencias conforman un clado dentro del cual las relaciones entre las diferentes subespecies no están claras. No obstante, aunque no es posible descartar un origen monofilético para las cinco poblaciones de las islas, éstas no parecen estar más estrechamente relacionadas entre sí que con cualquiera de las poblaciones continentales. En particular, nuestros resultados sugieren una estrecha relación entre las subespecies de Margarita y las Antillas Holandesas, que no comparten con la subespecie de La Tortuga. Esto se vió evidenciado tanto por el agrupamiento de estas islas en clados diferentes en el árbol de máxima verosimilitud (aunque apoyados por un bajo soporte de bootstrap), como por la mayor divergencia de las secuencias de La Tortuga con respecto al resto de las islas en la red de haplotipos. En ambos análisis, se observa que existen muestras procedentes de localidades continentales que parecen estar más estrechamente relacionadas con las muestras de las islas, que éstas entre si.

En el caso de las subespecies de tierra firme, llama la atención la marcada diferenciación de los pericos del sur de Venezuela. En particular, las dos muestras procedentes de Caño Manaka, estado Amazonas (muestras 27 y 28 en la Figura 2.1), presentaron las mayores divergencias genéticas con respecto al resto de las muestras, y forman un clado bien diferenciado en la filogenia molecular. A pesar de que según su origen geográfico estas muestras corresponderían a la subespecie *A. p. venezuelae*, los ejemplares a partir de las cuales se obtuvieron fueron identificados por M. Lentino (COP) como representantes de *A. p. chrsyogenys* por su plumaje más oscuro, la ausencia

de una banda frontal bien definida y un anillo perioftálmico estrecho. Hasta ahora esta subespecie sólo había sido reportada para la región del Río Negro, al noroeste de Brazil (Forshaw 1989). Esta marcada diferenciación entre muestras procedentes del estado Amazonas y muestras del norte de Venezuela también ha sido observada para otras especies de aves, y podrían estar indicando historias diferentes para las biotas de estas regiones (J. Pérez, com. pers.). En el futuro, será intreressante ampliar el muestreo geográfico de las muestras para incluir en la filogenia molecular secuencias correspondientes a otras localidades del sur de Venezuela, Guyana y el norte de Brazil, con el fin de explorar los patrones de diferenciación entre las muestras del norte y el sur del Orinoco. Igualmente, será recomendable agregar muestras de otros representantes del género *Aratinga* con el fin de validar la robustez taxonómica de *A. pertinax* como especie, la cual recibió apoyo en nuestros análisis al agruparse todas sus secuencias dentro de un clado monofilético con un soporte de bootstrap respetable.

Finalmente, es interesante destacar que la baja diversidad encontrada entre las secuencias del complejo de subespecies del perico cara sucia no es muy diferente a la encontrada recientemente en otros estudios del género *Aratinga*. Efectivamente, las distancias génicas encontradas para la RC a nivel intraespecífico resultaron ser similares a las publicadas durante el desarrollo del presente estudio para otras especies del género *Aratinga*, tales como *A. jandaya* ($0,6\% \pm 0,2$) y *A. auricapilla* ($0,8 \pm 0,2$; Ribas y Miyaki 2004), aunque menores a las observadas en otros géneros de psitácidos neotropicales (e.g género *Amazona*, Eberhard *et al.* 2001, Wright y Wilkinson 2001; *Pyrrhura*, Ribas *et al.* 2006). La poca divergencia interespecífica y baja variabilidad intraespecífica sugieren que en el futuro los análisis filogenéticos a nivel intraespecífico en algunos psitácidos, al menos los pertenecientes al género *Aratinga*, deberán considerar el uso de marcadores moleculares que evolucionen más rápidamente, como los microsatélites (MacDougall-Shackleton y MacDougall-Shackleton 2001, Wright *et al.* 2005).

2.4.2.- Posibles explicaciones a la falta de diferenciación genética del perico cara sucia

La baja resolución entre las poblaciones insulares y continentales observada en la filogenia molecular de *A. pertinax* podría deberse a dos razones principales: 1) a que la estructura geográfica entre estas poblaciones existió, pero se ha perdido debido al movimiento subsiguiente de individuos entre poblaciones, o 2) a que el complejo de subespecies estudiadas sea de origen reciente o alternativamente, haya sufrido una expansión reciente en la mayor parte de su distribución, por lo que no habría tenido lugar una marcada divergencia genética que permita diferenciar poblaciones individuales con los marcadores moleculares utilizados (Avise *et al.* 1987, Ball y Avise 1992, Russell *et al.* 2007). A continuación discutiremos las implicaciones de cada una de estas posibilidades, y lo que nuestros datos sugieren al respecto.

Pérdida de patrón geográfico por flujo génico reciente entre poblaciones

La falta de una marcada diferenciación geográfica de haplotipos por localidades podría ser resultado de un flujo génico extensivo y reciente entre las distintas poblaciones (Avise *et al.* 1987). En el caso de *A. pertinax*, tal como ocurre con muchos otros de los psitácidos de las islas del Caribe, dicho flujo podría haber ocurrido tanto por el movimiento natural de individuos silvestres, o como consecuencia del comercio y tráfico de mascotas (Wiley *et al.* 2004). En ambos casos, se observarían haplotipos idénticos o muy parecidos en lugares distantes; sin embargo, en el caso de existir un alto flujo natural de individuos, se esperaría encontrar adicionalmente en cada localidad haplotipos “intermedios”, cosa que no ocurriría en el caso de un flujo por movimientos antrópicos.

Aunque nuestros análisis no aportan la resolución suficiente para distinguir entre estas dos alternativas, en general no parecen apoyar que estos procesos de flujo génico sean los responsables de la baja divergencia observada entre las poblaciones insulares y continentales del perico cara sucia. En primer lugar, la topología de la red de haplotipos no parece consistente con una gran mezcla de individuos procedentes de grupos bien definidos. Así, a pesar de que las distancias génicas dentro del grupo en general no son

muy grandes, sólo se observó un haplotipo compartido entre diferentes localidades (Aruba1). Si el flujo génico entre poblaciones fuese alto, esperaríamos encontrar un mayor número de haplotipos compartidos entre localidades. Adicionalmente, dentro de cada localidad encontramos sólo haplotipos idénticos o muy cercanamente relacionados. En ningún caso observamos la presencia dentro de una misma localidad de dos haplotipos muy divergentes, lo que podría ocurrir en caso de que existiera un marcado flujo génico entre poblaciones.

Por otra parte, la diferenciación morfológica entre subespecies cercanas geográficamente, tales como las presentes en las islas de Curazao y Bonaire (Forshaw 1989) también apoyan la ausencia de un elevado flujo génico entre poblaciones. Finalmente, las cortas distancias de viaje y aparente fidelidad a áreas por parte de los pericos (Wiley 1993, J. Eberhard com. pers.) sugieren que, al menos en la actualidad, el mar constituye una barrera efectiva para el desplazamiento natural de individuos entre las localidades de tierra firme y las islas. Efectivamente, la mayoría de las especies de psitácidos son sedentarias, a pesar de que suelen presentar movimientos locales entre los sitios de alimentación y dormitorio (Collar y Juniper 1992), tal como es el caso de *A. pertinax* (Yépez-Tamayo 1963, Albornoz y Fernández-Badillo 1994a, Harms y Eberhard 2003) y el de *A. canicularis* (de tamaño similar que *A. pertinax*), que se desplaza entre 2 y 9 Km en Costa Rica (Bradbury *et al.* 2001). Esto no significa que hoy en día algunos individuos de pericos cara sucia no puedan llegar eventualmente a las islas por dispersión sobre el agua (probablemente ayudada por el efecto de las tormentas; Hedges 2006), pero estos constituirían eventos más bien raros que no tendrían un efecto significativo en la homogeneización genética de las poblaciones.

Origen o expansión reciente del complejo de subespecies

Una explicación alternativa para los resultados obtenidos es que la especie como un todo sea de origen reciente. En este caso, no habría transcurrido el suficiente tiempo evolutivo como para que ocurra una divergencia genética significativa que permita inferir las relaciones entre las poblaciones a partir de los marcadores seleccionados. Por

otra parte, la especie podría ser de origen antiguo, pero haber experimentado una rápida expansión en ciertas áreas de su distribución más recientemente.

La evidencia morfológica y molecular disponible sugiere que el orden Psittaciformes constituye un grupo de aves antiguo; sin embargo, las relaciones evolutivas entre sus miembros no están claras, y los intentos que se han hecho por inferirlas se han visto complicados por lo escaso y controversial de su registro fósil (Stidham 1998, Tavares *et al.* 2004, de Kloet y de Kloet 2005). A pesar de esto, varios estudios recientes han empleado las tasas de sustitución calculadas para otros órdenes de aves con el fin de dilucidar, al menos en parte, las relaciones y tiempos de divergencia de los psitácidos a distintos niveles taxonómicos (p. ej. *Amazona*, Eberhard y Bermingham 2004; *Aratinga*, Ribas y Miyaki 2004; *Pionopsitta*, Eberhard y Bermingham 2005; *Pyrrhura*, Ribas *et al.* 2006). En particular, Miyaki *et al.* (1998) estimaron que la diversificación en el Neotrópico entre los psitácidos de cola larga (que incluyen a *Aratinga*) tuvo lugar hace 27-20 m. a., durante el Oligoceno tardío o Mioceno temprano. Estas conclusiones fueron respaldados por los resultados recientes de Tavares *et al.* (2004), quienes estimaron que gran parte de la divergencia de géneros dentro del grupo ocurrió durante el Mioceno (hace aproximadamente 24 m. a.), mientras que la separación de la mayoría de los linajes de las especies tuvo lugar durante el Plioceno y Pleistoceno (hace 5 - 1,8 y 1,8 - 0,11 m. a., respectivamente), al igual que ocurrió con otras especies de psitácidos suramericanos (p. ej. *Pyrrhura*, Ribas *et al.* 2006). Fue durante esta última época cuando tuvo lugar la divergencia entre algunos miembros del género *Aratinga*, según estimados recientes de Ribas y Miyaki (2004). Estas fechas de divergencia fueron estimadas asumiendo un reloj molecular que no fue calibrado específicamente para el orden Psittaciformes o para las regiones mitocondriales utilizadas como marcadores (Lovette 2004), por lo que sólo deben ser consideradas como guías en la interpretación de los eventos históricos del grupo (Ribas y Miyaki 2004).

Dada la topología y largo de las ramas estimadas en la reconstrucción filogenética de *Aratinga pertinax* spp., y asumiendo una tasa de divergencia “estándar” del 2%/m. a. del genoma mitocondrial aviar (basada en los estimados de Shields y Wilson 1987 y Randi 1996, entre otros), o considerando una corrección de dicha tasa debido al hecho de que

la región de control del género *Aratinga* parece evolucionar 1,5 veces más rápidamente que otras regiones mitocondriales codificantes (según datos de Ribas y Miyaki 2004), podemos obtener un estimado crudo del tiempo de divergencia del complejo de subespecies del perico cara sucia con respecto a los otros taxa del mismo género, el cual se ubicaría durante el Plioceno tardío o Pleistoceno temprano, hace 2,4 - 1,6 m. a. Este resultado es congruente con los estimados de divergencia para otros psitácidos neotropicales, así como con el tiempo desde el cual las islas del sur del Caribe podrían haber sido colonizadas, según los datos paleogeológicos de la región caribeña (Yépez-Tamayo 1963, Iturralde-Vinent y MacPhee 1999). De esta forma, nuestro estimado es semejante a los tiempos de divergencia propuestos para otras especies del género *Aratinga* de Brasil (Ribas y Miyaki 2004), así como para los reportados para otros psitácidos del continente suramericano (Eberhard y Bermingham 2004, Tavares *et al.* 2004, Ribas *et al.* 2006). Por lo tanto, los resultados parecen ser consistentes con una reciente diversificación del complejo de subespecies del perico cara sucia, durante el Plioceno o Pleistoceno, y que ésta sea la principal causa de la falta de resolución obtenida. Bajo este escenario, los haplotipos compartidos entre diferentes localidades corresponderían a secuencias ancestrales que no han divergido. Este sería el caso de la secuencia "Aruba1".

2.4.3.- Próximos pasos

Aunque nuestros resultados no nos permitieron reconstruir con precisión el origen histórico de las poblaciones insulares de perico cara sucia y su relación con las poblaciones de tierra firme, sí sugieren una serie de indicios que resultarán esenciales para el análisis de los resultados presentados en el siguiente capítulo. Recapitulando, en primer lugar, todas las poblaciones de *A. pertinax* estudiadas se agrupan dentro de un grupo monofilético probablemente de origen reciente o al menos, que se ha expandido recientemente en las zonas costeras de su distribución. En segundo lugar, las poblaciones insulares de perico cara sucia no parecen ser recíprocamente monofiléticas. De ser así, esto implicaría que los caracteres morfológicos o de comportamiento compartidos por todas las poblaciones de las islas pero no por las poblaciones continentales estrechamente relacionadas, deberían ser el resultado de al menos dos

transiciones evolutivas dentro de la especie, asociadas probablemente a presiones selectivas relacionadas con la vida en las islas.

Ahora que se cuenta con esta primera aproximación a las relaciones filogenéticas de *A. pertinax*, es posible planificar que los estudios que en el futuro busquen esclarecer con mayor precisión las relaciones entre las poblaciones de esta especie, deberán incluir un análisis basado en un muestreo geográfico y genético más amplio que el de este estudio, utilizando marcadores más variables (como los microsatélites nucleares; MacDougall-Shackleton y MacDougall-Shackleton 2001, Miyaki y Eberhard 2002, Wright *et al.* 2005), y complementando la información filogenética con análisis coalescentes y de genética de poblaciones (Russell *et al.* 2007). En particular, será importante esclarecer la relación entre las islas venezolanas y las Antillas Holandesas entre sí y con la isla La Tortuga. Igualmente, resultará interesante incrementar nuestra comprensión de la relación entre las islas y los puntos de tierra firme más cercanos (p. ej. La Tortuga-Anzoátegui) así como entre las poblaciones de las costas con aquellas del interior del continente (dada la gran divergencia encontrada entre las poblaciones de Amazonas y el resto de las poblaciones incluidas en este estudio). Para ello, la inclusión del mayor número posible de muestras procedentes de individuos silvestres en lugar de mascotas, será fundamental para obtener resultados confiables. A este respecto, dadas las dificultades que encontramos para capturar a los pericos con redes de neblina (excepto en aquellas áreas de alimentación donde eran muy abundantes), se recomienda considerar técnicas de muestreo alternativas, como la obtención de muestras de plumas y sangre a partir de pichones durante la época reproductiva (dada la facilidad para acceder a los nidos, especialmente aquellos contruidos en termiteros, sin afectar seriamente a los individuos).

Capítulo 3: Variación geográfica de las llamadas de contacto en las subespecies del perico cara sucia, *Aratinga pertinax*

3.1.- Introducción

Uno de los principales objetivos de los estudios de comunicación animal en la actualidad consiste en comprender la diversidad, estructura y contenido de información de las señales utilizadas en dicho proceso (Vehrencamp 2000). En especies sociales, gran parte de este interés ha estado dirigido hacia la descripción y caracterización del uso de las señales vocales que median las interacciones entre los miembros de un grupo, y entre estos y otros congéneres: las llamadas de contacto (p. ej. en delfines, Tyack 1986, Janik 2000; en primates, Mitani *et al.* 1999; en leones marinos, Fernández-Juricic *et al.* 1999; en psitácidos, Saunders 1983, Wright 1996, Vehrencamp *et al.* 2003, Cortopassi y Bradbury 2006).

En particular, en aquellas especies con una estructura social de “fisión-fusión” (p. ej. muchos psitácidos, Bradbury 2003; elefantes africanos, Archie *et al.* 2006, Couzin 2006; cachalotes, Whitehead *et al.* 1991; murciélagos, Kerth *et al.* 2006; equinos, Sundaresan *et al.* 2007; monos araña, Ramos-Fernández 2005; chimpancés, Crockford *et al.* 2004), las llamadas de contacto parecen ser esenciales para mantener la coherencia espacial de las unidades sociales (Bradbury 2003, Ramos-Fernández 2005). Estas sociedades se caracterizan por la gran fluidez en los patrones de asociación entre los individuos que la conforman: los miembros de una población forman grupos que se unen (fusión) o separan (fisión) a medida que se mueven a través del ambiente, por lo que su tamaño y composición varía de forma dinámica a lo largo del tiempo (Ramos-Fernández 2005, Couzin 2006). Dentro de esta compleja estructura social, las llamadas de contacto pueden cumplir diversas funciones, incluyendo la localización y agrupamiento de los miembros de grupos existentes (a menudo cuando los individuos están fuera de contacto visual), el reclutamiento de nuevos miembros para la formación de agregaciones temporales y la coordinación de la posición del grupo y su movimiento durante el forrajeo, descanso u otras actividades compartidas, incluyendo la agregación

de individuos en los sitios de dormitorio (Bradbury y Vehrencamp 1998, Fernández-Juricic *et al.* 1998, Mitani *et al.* 1999, Ramos-Fernández 2005, Cortopassi y Bradbury 2006).

En los psitácidos, las cuales son aves en su mayoría sociales y no territoriales, las llamadas de contacto constituyen una de las vocalizaciones más frecuentemente utilizadas de entre los 10 a 15 tipos de llamadas que usualmente conforman el repertorio de las especies, cada uno con características espectro-temporales particulares y consistentes, e incluyen vocalizaciones que abarcan desde sonidos suaves hasta sonidos excepcionalmente altos (Bradbury *et al.* 2001, Cortopassi y Bradbury 2006). Generalmente, para este grupo de aves los investigadores distinguen entre las llamadas de contacto “fuertes” (“loud contact calls”) y las “suaves” (“soft contact calls”), en base a la forma en que son percibidas por el oído humano y al contexto en que son emitidas (Bradbury 2003). Las primeras usualmente son las vocalizaciones más sonoras del repertorio de estas aves, y suelen ser emitidas durante el vuelo, por los miembros de la bandada a medida que se acercan o abandonan los sitios de forrajeo y dormitorio, o por los individuos que se encuentran perchados en respuesta a las llamadas de individuos lejanos o en vuelo (Farabaugh y Dooling 1996, Fernández-Juricic *et al.* 1998, Bradbury *et al.* 2001, Bradbury 2003, Buhrman-Deever 2005). Típicamente, esta llamada genera una respuesta vocal de los coespecíficos y las evidencias sugieren que permite establecer contacto entre individuos específicos, por lo que ha recibido la mayor atención en los estudios de comunicación vocal llevados a cabo hasta ahora. Las llamadas “suaves”, en cambio, tienden a tener muy baja amplitud y son repetidas a menudo sin que necesariamente generen una respuesta por parte de otros miembros del grupo. Esta llamada parece coordinar el movimiento entre los miembros de un grupo mientras se alimentan entre la vegetación densa, permitiéndoles permanecer cerca los unos de los otros a pesar de estar en movimiento y fuera de contacto visual (Bradbury 2003).

3.1.1.- Variación de las llamadas de contacto y reconocimiento de individuos

Estudios previos han demostrado que en diversas especies las llamadas de contacto, además de presentar los rasgos generales característicos de este tipo de vocalización,

también pueden contener información más específica que permita identificar ya sea a los individuos (p. ej. Mathevon 1997, Maurello *et al.* 2000, McComb *et al.* 2000) o a los grupos (p. ej. Mammen y Nowicki 1981, Saunders 1983, Farabaugh *et al.* 1994, Boughman 1997, Hile *et al.* 2000, Crockford *et al.* 2004). En el caso específico de los psitácidos, dada su estructuración social de bandadas, así como el hecho de que la mayoría de las especies viven por muchos años y forman parejas estables (Farabaugh y Dooling 1996, Baker 2000), la capacidad de reconocer a los miembros de un grupo o a individuos específicos puede presentar numerosos beneficios. Entre ellos, la habilidad de distinguir entre coespecíficos familiares de los “extraños” con base en los rasgos vocales podría ayudar a mantener las relaciones beneficiosas de la vida en grupo (tales como la defensa contra depredadores, localización de los recursos alimenticios en un ambiente heterogéneo y defensa del territorio), minimizar las interacciones agresivas entre los animales y permitir a los miembros de una pareja o grupo reencontrarse luego de haberse visto separados durante las actividades de forrajeo (Cannon 1984 cit. Farabaugh y Dooling 1996, Bradbury y Vehrencamp 1998, Baker 2000, Stoddard 1996 cit. Bard *et al.* 2002, Bradbury 2003).

En principio, el sistema de reconocimiento de las llamadas a nivel individual o grupal en psitácidos podría ser simplemente el resultado de la memorización de variantes de vocalizaciones específicas de los individuos o familia, sin que dicho reconocimiento resulte en una modificación de las vocalizaciones de los receptores de las llamadas (Vehrencamp *et al.* 2003). Sin embargo, aunque hay poca evidencia directa (Bradbury 2003), los resultados obtenidos hasta ahora sugieren que el fenómeno de reconocimiento está más bien asociado al proceso de aprendizaje vocal (Farabaugh *et al.* 1994, Farabaugh y Dooling 1996, Bradbury y Vehrencamp 1998, Hile *et al.* 2000, Vehrencamp *et al.* 2003, Bond y Diamond 2005), el cual implica la habilidad de modificar la estructura de una señal vocal como resultado de la experiencia acumulada a partir de las interacciones con otros individuos (Janik 2000, Janik y Slater 2000, Bradbury 2003). Debido a esto, el estudio de los patrones geográficos de variación de las llamadas de contacto, y las funciones que pueden cumplir dentro de estas sociedades de fisión-fusión, permitirán investigar los procesos subyacentes que gobiernan la transmisión de los rasgos de las señales vocales, y por ende, incrementar el conocimiento no sólo sobre

el aprendizaje y la comunicación social entre vecinos, sino también sobre los procesos de selección y especiación (Marler y Tamura 1962, Gaunt *et al.* 1994, Slater 2003, Vehrencamp *et al.* 2003).

3.1.2.- Estructura social y llamadas de contacto de *Aratinga pertinax*

Las evidencias indican que en las sociedades de fisión-fusión, las unidades sociales básicas pueden abarcar desde una pareja a un grupo de varias decenas de individuos, dependiendo de la especie (Bradbury 2003, Ramos-Fernández 2005). En el caso particular de *Aratinga pertinax*, hasta los momentos no existen investigaciones enfocadas en la dinámica estructura social o en la conformación de las unidades sociales básicas de estos pericos. Sin embargo, las observaciones en campo de esta especie y otros especies del género *Aratinga* (Bradbury 2003) sugieren que la unidad básica en estos psitácidos está conformada por parejas o pequeñas bandadas (“grupos”), generalmente de dos a ocho individuos, los cuales se alimentan juntos y que pueden unirse (fusionar) temporalmente a otros grupos en las áreas de alimentación o dormitorio (Albornoz y Fernández-Badillo 1994a, Eberhard datos no publicados, obs. pers.). No obstante, se carece de información sobre las relaciones que existen entre los miembros de un grupo, la frecuencia con que ocurren los eventos de fisión-fusión o si la estructura de los grupos originales se mantiene luego de estos eventos. En otras especies de psitácidos, la estructura de tales agrupaciones parece presentar cierta estabilidad en el tiempo (Farabaugh y Dooling 1996, Bradbury 2003). En el caso de los pericos frentinaranja (*Aratinga canicularis*), a pesar de que los eventos de fisión-fusión pueden afectar la estructura de los grupos, se observa una tendencia a la re-asociación selectiva de individuos, lo que requeriría un mecanismo de reconocimiento de individuos o grupos dentro de la población (Bradbury 2003).

En su revisión de la comunicación vocal de cuatro especies de psitácidos silvestres de Costa Rica, Bradbury (2003) propone algunas de las ventajas que esta capacidad de reconocimiento podría conllevar para estas aves, las cuales se resumen a continuación. Los grupos de psitácidos silvestres, a veces procedentes de localidades lejanas, suelen congregarse en áreas de alimentación comunes, ya sea como consecuencia de la

distribución de los recursos o como un mecanismo que permite reducir el riesgo de depredación (Farabaugh y Dooling 1996, Bradbury 2003). La capacidad de reconocer individuos o grupos específicos facilitaría la posterior fisión de estas congregaciones en los grupos originales, lo cual minimizaría el solapamiento de rutas de forrajeo y permitiría mantener las relaciones de dominancia preestablecidas, reduciendo la ocurrencia de conflictos agonísticos. Por otra parte, si el conocimiento sobre el hábitat adquirido socialmente es tan importante para los psitácidos como ha sido propuesto por los investigadores (Rowley y Chapman 1991, Snyder *et al.* 1994), sería ventajoso que cuando ocurren transferencias de individuos entre grupos en un área de congregación, estas ocurrieran entre grupos de una misma localidad. Si un perico se uniera a un grupo procedente de una localidad distante, se vería en la necesidad de aprender toda la información sobre la distribución de los recursos en el nuevo hábitat (Bradbury 2003).

En *A. pertinax*, al igual que su congénere exclusivamente continental, el perico frentinaranja (*A. canicularis*), la llamada de contacto fuerte (de ahora en adelante la “llamada de contacto”) es la vocalización utilizada con mayor frecuencia (Bradbury *et al.* 2001; Eberhard, datos sin publicar). Aunque esta señal es fácil de reconocer debido a su estructura espectro-temporal (ver abajo), como ya se ha mencionado anteriormente, en realidad constituye una amplia categoría que abarca vocalizaciones producidas en una variedad de contextos, por ejemplo, entre dos individuos durante el vuelo, o entre dos individuos que se encuentran fuera de contacto visual en un área de alimentación. Hasta ahora, no ha sido posible diferenciar subcategorías consistentes de estas llamadas (Eberhard, datos sin publicar).

Grabaciones realizadas para cuatro de las subespecies insulares de pericos cara sucia (*A. p. pertinax*, Curazao; *A. p. xanthogenia*, Bonaire; *A. p. arubensis*, Aruba y *A. p. margaritensis*, isla de Margarita, Venezuela) y una subespecie continental (*A. p. venezuelae*, Venezuela) evidenciaron un patrón geográfico particularmente interesante de variabilidad en sus llamadas de contacto (Eberhard, datos sin publicar). Las poblaciones insulares de *A. pertinax* producían llamadas de contacto con una estructura espectro temporal más variable que sus coespecíficos de una localidad de tierra firme, y que los *A. canicularis* de varias localidades continentales (Eberhard, datos sin publicar).

Esta última especie emite llamados de contacto con duraciones mucho más uniformes en cada localidad (Bradbury *et al.* 2001).

Adicionalmente, en experimentos de reproducción de sonidos (“playback”) llevados a cabo en Bonaire, los individuos de *A. pertinax* no respondían diferencialmente a grabaciones hechas en su propia isla *versus* grabaciones de otras islas, e incluso respondían a grabaciones de *A. canicularis* (Eberhard, datos sin publicar). Estos resultados contrastaron marcadamente con los experimentos que se han realizado con *A. canicularis* en Costa Rica. Esta especie responde preferencialmente a grabaciones hechas cerca del lugar de la prueba (menos de 7 km), siendo mucho menos frecuente la respuesta a grabaciones de individuos procedentes de localidades ubicadas a más de 8-9 km (Bradbury *et al.* 2001, Vehrencamp *et al.* 2003).

Por lo tanto, los *A. pertinax* que habitan en las islas y los *A. canicularis* estudiados en Costa Rica difirieron marcadamente en el grado de variabilidad de sus llamadas de contacto y en su discriminación entre llamadas de diferente origen. Al menos tres hipótesis diferentes podrían explicar este patrón. Por un lado, las observaciones podrían estar indicando simplemente una diferencia entre el comportamiento de las dos especies de *Aratinga* (“hipótesis de diferencias interespecíficas”); en este caso, el hecho de que las llamadas de *A. pertinax* de la única localidad continental estudiada sigan el mismo patrón que *A. canicularis*, en lugar del patrón observado en sus coespecíficos insulares, sería producto del azar. Alternativamente, las diferencias entre las especies podrían estar reflejando el mismo patrón isla/tierra firme observado entre las poblaciones del perico cara sucia.

En el caso de que las observaciones correspondan a una diferencia estable entre localidades insulares y continentales, las diferencias podrían haber resultado de por lo menos dos fuentes. Por un lado, podría ser simplemente resultado de los procesos históricos de colonización de las islas del Sur del Caribe, en el caso de que todas las islas hayan sido colonizadas a partir de una misma población, cuyas vocalizaciones por casualidad eran muy variables y continuaron siéndolo. Designamos esta alternativa la “hipótesis de factores históricos aleatorios”. Por otra parte, una tercera explicación para el patrón de mayor variabilidad de las llamadas en islas que en tierra firme es que ésta

represente una diferencia cultural asociada a contextos de aprendizaje vocal diferentes; es decir, que la variabilidad diferencial observada refleje alguna función de las llamadas operando en contextos diferentes (“hipótesis de factores ecológicos determinísticos”).

En el caso de originarse en una diferencia funcional, varios factores ecológicos podrían influir en la diferenciación de las llamadas entre las poblaciones de pericos, tales como la adaptación local a ambientes de transmisión diferentes, o tasas de encuentro diferencial entre los emisores y receptores de las señales. La primera posibilidad está relacionada con el hecho de que la estructura física del hábitat influye en la transmisión del sonido, por lo que las vocalizaciones utilizadas en la comunicación a largas distancias pueden verse sometidas a presiones selectivas asociadas a la atenuación y degradación del sonido (Slabbekoorn y Smith 2002). Bajo este escenario, esperaríamos que las llamadas de las poblaciones de la costa continental y de las islas presentaran una estructura espectro-temporal semejante, ya que son empleadas dentro de hábitats de estructura muy similar. Alternativamente, podría ser que en las islas, en contraste con el continente, existe una presión reducida para distinguir a los miembros de grupos locales de aquellos que provienen de áreas lejanas. Como se mencionó previamente, los grupos de pericos silvestres comúnmente experimentan eventos de fusión y fisión con otros grupos, particularmente, en las áreas de alimentación y dormideros (Bradbury 2003). A pesar de que se desconoce el tamaño de las áreas de acción de los pericos cara sucia, las evidencias señalan que su congénere de tamaño similar, *A. canicularis*, usualmente se mueve dentro de áreas de 5 km de diámetro, con un límite máximo de desplazamiento de unos 9 km (Vehrencamp *et al.* 2003). Por lo tanto, dada la relativa fidelidad a áreas que suelen mostrar los pericos (Wiley 1993, J. Eberhard com. pers.), podemos suponer que en una localidad dada existirá un número más o menos estable de grupos de pericos que interactúan frecuentemente, los cuales se verán beneficiados si son capaces de reconocer a los grupos de la misma “localidad” y diferenciarlos de grupos procedentes de localidades lejanas. No obstante, en el caso de las islas, donde el rango de movimiento a corto plazo presumiblemente abarca una porción significativa del terreno, y donde un perico probablemente se mueve por toda la extensión de la isla en el transcurso de varios días, cada isla constituiría una “localidad”, dentro de la cual todos los grupos de pericos interactúan con mayor o menor frecuencia.

Dada la barrera geográfica que el mar constituye para el desplazamiento de los individuos, la probabilidad de que estos grupos interactúen con grupos de otras localidades es casi nula. En cambio, en el continente, donde los hábitats ocupados por los pericos son continuos a lo largo de distancias mucho mayores, existe la posibilidad de encuentros periódicos entre grupos de localidades distantes. En este caso, en tierra firme podría existir una selección continua a favor de aquellos individuos capaces de reconocer, aprender y emitir fielmente la llamada de contacto de su grupo, la cual estaría ausente o sería menor en las islas. Cabe destacar que dado que se trata de una selección basada en plasticidad fenotípica, no se espera una respuesta genética como resultado, pero sí se espera observar diferencias estables entre regiones mientras se mantenga la selección diferencial.

Como un primer paso para distinguir entre estas hipótesis (si los patrones de variación de las llamadas de contacto de los pericos cara sucia observados anteriormente están asociadas a variación inter-específica, a un efecto histórico aleatorio, o si son resultado de contextos ecológicos de aprendizaje diferentes en islas que en tierra firme), es necesario primero estudiar más ampliamente estos patrones dentro de *A. pertinax*, y evaluarlos en el marco de una filogenia basada en caracteres no correlacionados a la vocalización. Aunque actualmente las relaciones filogenéticas del complejo de subespecies de *A. pertinax* no se encuentran bien resueltas, se han obtenido datos basados en el uso de marcadores mitocondriales que sugieren que las poblaciones insulares no son recíprocamente monofiléticas (Capítulo 2).

Tomando esto en consideración, nos propusimos dos objetivos fundamentales para mejorar nuestra comprensión sobre los procesos que pueden estar determinando la evolución de las llamadas de contacto en el perico cara sucia.

- 1.- Cuantificar, caracterizar y comparar la variabilidad de las llamadas de contacto de las subespecies insulares y continentales de *A. pertinax* mediante el análisis de grabaciones de campo, para confirmar la robustez del patrón observado en investigaciones previas y poder descartar la hipótesis de variación inter-específica.

2.- Evaluar los resultados del análisis de las vocalizaciones dentro del contexto de la filogenia molecular del grupo para explorar si los cambios en la variabilidad de las llamadas de contacto en esta especie brindan más apoyo a la hipótesis de factores históricos aleatorios o a la de factores determinísticos ecológicos.

Aunque distinguir entre las numerosas causas posibles de diferencias ecológicas determinísticas entre las llamadas de las islas y del continente (en caso de que esa sea la hipótesis general con mayor apoyo de los datos) está fuera del alcance del presente trabajo, buscamos clarificar los patrones a un nivel suficiente para indicar en cual dirección apuntar estudios futuros.

3.2.- Materiales y métodos

3.2.1.- Grabaciones

Entre marzo de 2003 y enero de 2005, se llevaron a cabo cuatro salidas de campo con el fin de grabar las vocalizaciones de pericos cara sucia silvestres en tres localidades de la tierra firme venezolana (Parque Nacional Cerro Saroche y Hato Dalmatela, Edo. Lara; Tumeremo y sus alrededores, Edo. Bolívar) y en una localidad insular (isla La Tortuga; Figura 3.1). En cada sitio, se emplearon entre 5-14 días ubicando pericos silvestres y grabando sus vocalizaciones. Para ello, se utilizó una grabadora de cintas Marantz PMD222, con cintas Maxell Audio Pro (MS-60) y un micrófono direccional Sennheiser ME 67. Con el fin de incrementar la calidad de las grabaciones, el micrófono fue colocado sobre una pistola antivibración (Sennheiser MZS 20-1) y cubierto con un protector de viento tipo canasta (Sennheiser MZW 70-1).

Las grabaciones fueron hechas aproximándose a las aves posadas sobre la vegetación cuanto era posible sin perturbarlas, usualmente entre 10-25 m, y grabando las vocalizaciones de todos los grupos de pericos que encontramos. Si bien se intentó hacer grabaciones de las llamadas de individuos solos, en la mayoría de los casos esto no fue posible, ya que los pericos usualmente formaban parte de pequeñas bandadas de

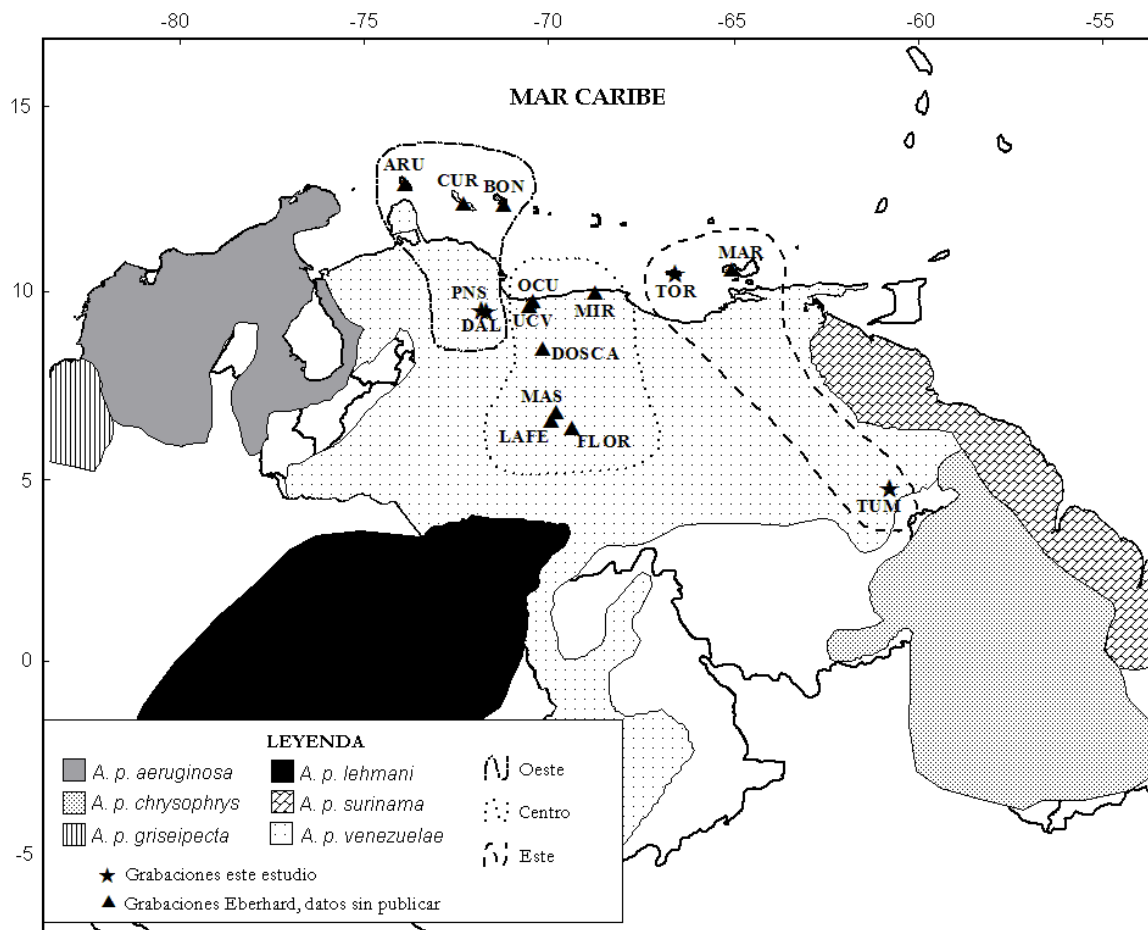


Figura 3.1.- Localidades donde se han realizado grabaciones de las llamadas de contacto de *Aratinga pertinax*. ARU: Aruba, CUR: Curazao, BON: Bonaire, TOR: isla La Tortuga; MAR: isla de Margarita; PNS: P. N. Saroche, Edo. Lara; DAL: Hato Dalmatela, Edo. Lara; OCU: Ocumare, Edo. Aragua; UCV: UCV-Maracay, Edo. Aragua; MIR: La Guairita, Edo. Miranda; DOSCA: Dos Caminos, Edo. Guárico; MAS: Hato Masaguaral, Edo. Guárico; LAFE: Hato La Fé, Edo. Guárico; FLOR: Hato Flores Moradas, Edo. Guárico; TUM: Tumeremo, Edo. Bolívar. Se incluyen las localidades de grabación de otros investigadores (Eberhard, datos sin publicar) así como las correspondientes a este estudio. Las elipses indican las divisiones geográficas que fueron utilizadas para la diferenciación de las localidades según su ubicación geográfica.

2-15 individuos distribuidos muy cerca los unos de los otros, por lo que no se podían identificar las llamadas de individuos particulares. En consecuencia, la unidad de muestreo estuvo constituida por esas bandadas, de aquí en adelante referidas como el “grupo.” Inmediatamente después de culminar una grabación, se registraron en la cinta observaciones sobre el número de individuos presentes, su comportamiento, el tipo de hábitat, las condiciones climáticas imperantes y la distancia de grabación. Sólo fueron grabados individuos que estaban vocalizando libremente; en ningún caso se utilizaron grabaciones previas para atraer o estimular las vocalizaciones. En lo posible, se evitó grabar individuos en movimiento, ya que esto podría afectar las características físicas del sonido y por ende, los resultados de los análisis.

En todos los casos, se intentó realizar grabaciones continuas de las vocalizaciones de cada perico o grupo de pericos con el fin de obtener varias llamadas de contacto de cada uno, y así poder estudiar su variabilidad. Sin embargo, en muchos casos esto no fue posible ya fuera porque los pericos no estaban vocalizando de forma continua, o porque se alejaban al aproximarnos.

En 32 días de trabajo de campo, se realizaron en total 13,5 horas de grabación de las vocalizaciones de pericos cara sucia silvestres en las cuatro localidades mencionadas, las cuales fueron analizadas utilizando el programa Raven 1.2 (Charif *et al.* 2004). Las grabaciones fueron digitalizadas a 44,1 kHz y filtradas para remover los sonidos de bajas frecuencias (<100 Hz). Los espectrogramas fueron generados utilizando una transformación rápida de Fourier de 265 puntos, 80% de solapamiento entre ventanas sucesivas en la transformación y una ventana de muestreo tipo Hanning, lo cual proveyó una resolución temporal de 6,01 ms y una resolución espectral de 239 Hz. Después de probar diferentes parámetros, se encontró que estos aportaban la mejor resolución temporal y espectral para las llamadas que fueron examinadas. De cada grabación, se extrajeron las llamadas de contacto (LLC) disponibles, y se guardaron como archivos digitales individuales (formato .AIF) para los análisis. De esta forma, se obtuvo un total de 249 LLC, representantes de 78 grupos de pericos diferentes, procedentes de cuatro localidades venezolanas (una insular y tres continentales, Figura 3.1).

En vista de que deseábamos que nuestros resultados fueran comparables con los obtenidos previamente para esta especie, decidimos evaluar la variación de nuestras grabaciones utilizando las mismas variables evaluadas anteriormente por otro investigador (Eberhard, datos sin publicar). Así, para cada llamada de contacto se determinó el patrón de sílabas que la componían, y se realizaron mediciones de la duración total y de la duración de la primera sílaba. Con el fin de abarcar la mayor representación geográfica de la especie posible, nuestros datos fueron combinados con los obtenidos previamente por Eberhard (datos sin publicar). De esta forma, para los análisis de variabilidad de la duración de las LLC, contábamos con un total de 869 LLC, procedentes de 203 grupos de pericos de 15 localidades diferentes (cinco de ellas insulares; Tabla 3.1, Figura 3.1). Para los análisis del patrón de sílabas, el número de llamadas incluidas fue menor, debido a que la información disponible de los estudios previos era más limitada. Así, para este análisis se evaluaron 465 LLC, procedentes de 102 grupos de pericos de 11 localidades diferentes (cinco de ellas islas).

3.2.2.- Patrones de sílabas

Los espectrogramas generados fueron utilizados para clasificar las LLC según su patrón de sílabas (Figura 3.2). Debido al amplio rango observado para las duraciones absolutas, tanto de las llamadas como de las sílabas, este esquema se enfoca en los patrones de duraciones relativas de las sílabas dentro de una llamada determinada. Así, una sílaba fue considerada “corta” si su duración era menor o igual al 75% de la duración de la sílaba más larga de la misma llamada, sin tomar en consideración su duración absoluta en relación a las sílabas de otras llamadas procedentes del mismo u otro individuo.

Tabla 3.1.- Número de llamadas de contacto disponibles para los análisis de variación de las vocalizaciones de *Aratinga pertinax*. Se diferencia entre aquellos grupos de pericos para los cuales se contaba con una sola llamada de contacto de aquellos para los cuales se contaba con al menos tres llamadas. No hubo ningún grupo para el cual se contara con sólo dos llamadas. Las llamadas obtenidas como parte del presente estudio se resaltan en gris.

Localidad	Nro. Grupos (1 llamada)	Nro. Grupos (>1 llamada)	Nro. total de llamadas
Aruba	8	2	28
Bonaire	6	14	141
Curazao	5	8	85
Isla de Margarita	7	4	47
Isla La Tortuga	8	11	59
Dos Caminos	0	1	10
Hato Dalmatela	17	16	83
Hato Flores Moradas	0	2	20
Hato La Fe	6	15	156
Hato Masaguaral	0	3	30
La Guarita	0	1	10
Ocumare	9	1	19
PN Cerro Saroche	8	13	62
Tumeremo	11	16	81
UCV- Maracay	8	3	38
TOTAL	93	110	869

ID Patrón	Esquema	Código
A	—	L
B	— —	LC
C	— —	LL
D	— — — —	LCLC
E	— — —	LCL
F	— — —	LLC
G	— — —	LLL
H	— — — —	LLLL
I	— — — —	LLLC
J	— —	CL
K	— — —	CCL
*L	— — —	CLC
*M	— — — — — —	LLLCLL
*N	— — — —	LCCC
*O	— — — —	LCLL
*P	— — — —	LLCL
*Q	— — — — — —	LLLCLC
*R	— — — — —	LLLLL
*S	— — — — — — —	CCCCCLC
U	— — —	LCC

Figura 3.2.- Patrones de sílabas identificados para las llamadas de contacto de *Aratinga pertinax* en esta investigación así como en investigaciones previas (Eberhard, datos sin publicar). Los asteriscos denotan aquellos patrones únicos al presente estudio. La longitud de las líneas permite diferenciar las sílabas cortas (duración $\leq 75\%$ de la sílaba más larga de la llamada) de las largas. El código de letras se corresponde a la representación esquemática (L: sílaba larga, C: sílaba corta).

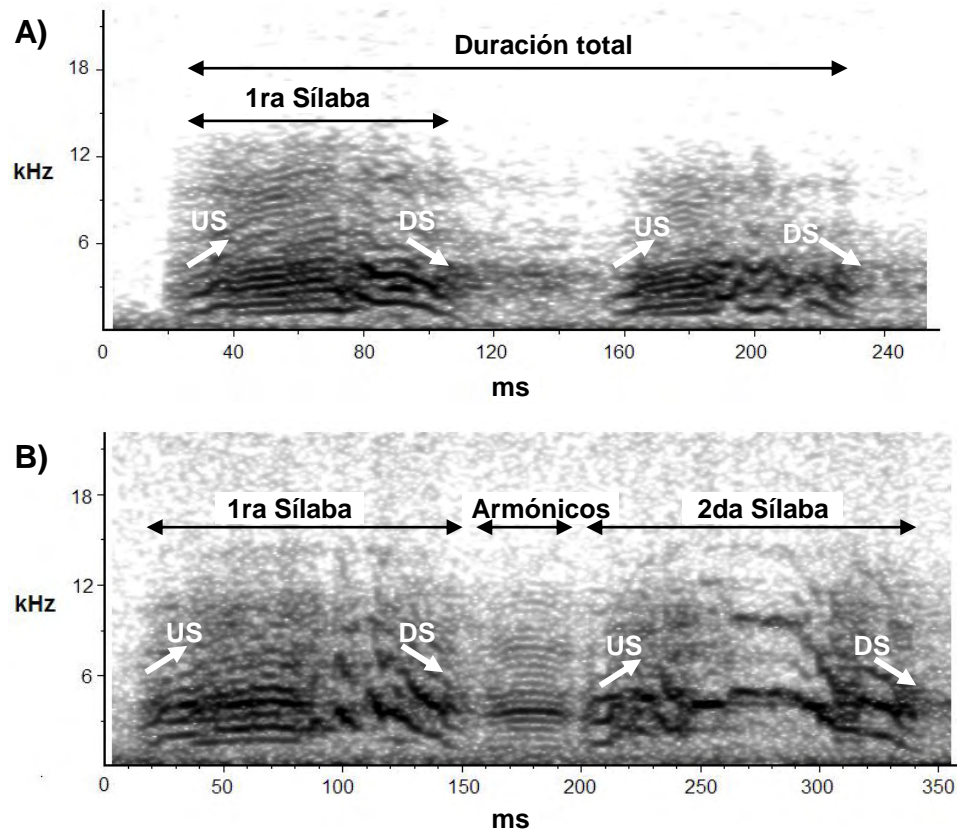


Figura 3.3.- Representación de los criterios utilizados para definir una sílaba dentro de una llamada de contacto. El comienzo de cada sílaba se caracteriza por un incremento modulado de la frecuencia (US: “upsweep”), y su fin está marcado por un decremento modulado de la frecuencia (DS: “downsweep”) seguido por un intervalo de silencio (<200 ms para que la sílaba siguiente fuera considerada como perteneciente a la misma llamada). En algunos casos se observaron series armónicas que no presentaban los US y DS que definían una sílaba (B), por lo que no fueron consideradas como sílabas en los análisis de duración.

El comienzo de cada sílaba estaba definido por un incremento modulado de la frecuencia (“upsweep”), y su final por un decremento modulado de la frecuencia (“downsweep”) seguido de un intervalo de silencio (Figura 3.3). Estos rasgos constituyen características consistentes entre llamadas que definen los límites de las sílabas (Eberhard, datos sin publicar). En muchos casos, se observaron discontinuidades del patrón de frecuencias dentro de las sílabas, pero los silencios combinados con los característicos incremento/decremento de las frecuencias probaron ser puntos de referencia (“landmarks”) consistentes del inicio y fin de cada sílaba. Igualmente, en

algunas llamadas se observaron apilamientos de armónicos entre las sílabas (Figura 3.3). No obstante, debido a que estos no presentaban los incrementos y decrementos de frecuencia con los que se definieron el inicio y final de las sílabas, no fueron considerados para las mediciones. La duración de los intervalos de silencio entre sílabas no fue considerada para definir patrones diferentes, sólo para distinguir entre llamadas individuales diferentes: todas aquellas sílabas separadas por intervalos de silencio menores a 200 ms fueron consideradas como pertenecientes a la misma LLC (según Eberhard, datos sin publicar). Sin embargo, dado que suele ocurrir que varios individuos vocalizan secuencialmente o en respuesta a la llamada de otro individuo (Farabaugh y Dooling 1996; obs. pers.), es posible que llamadas diferentes estuvieran separadas por un intervalo de tiempo menor al umbral establecido en este estudio, por lo que estas medidas tienen asociado un cierto grado de incertidumbre. Con el fin de reducir este error, no se incluyeron LLC de porciones de la grabación donde evidentemente estaban vocalizando simultáneamente dos individuos o cuando se observaban diferencias marcadas en la amplitud del sonograma entre las sílabas de lo que se sospechaba era una sola LLC.

Una vez que las distintas llamadas fueron clasificadas según sus patrones de sílabas, se evaluaron las diferencias en el promedio del número de patrones presentes por grupos y localidades mediante pruebas de análisis de varianza (ANOVA, Sokal y Rohlf 1981). Para ello, de las grabaciones correspondientes a este estudio sólo se incluyeron aquellos grupos para los cuales se contaba con al menos tres LLC (56 grupos y 235 llamadas en total). En el caso de los datos de otros investigadores, se contaba con la información de los patrones de sílabas de 46 grupos de pericos adicionales, correspondientes a siete localidades diferentes, para cada uno de los cuales se analizaron cinco LLC (230 llamadas en total; Eberhard, datos sin publicar). Estos análisis estadísticos fueron realizados con el programa JMP IN v. 5.1 (Sall *et al.* 2005). Antes de llevar a cabo los análisis de varianza, se pusieron a prueba el supuesto de la distribución normal de los residuales y la homogeneidad de varianzas, sin encontrarse desviaciones significativas.

Adicionalmente, se utilizó el índice de diversidad de Shannon-Wiener (H_s ; Begon *et al.* 1996) para cuantificar la variedad de patrones de sílabas dentro de cada localidad. Este índice toma en cuenta tanto el tipo de patrón observado como las frecuencias relativas de los diferentes patrones, según la ecuación:

$$H_s = - \sum_{i=1}^s p_i \cdot \ln p_i$$

donde p_i corresponde a la frecuencia del patrón i , y s al número total de patrones presentes en una localidad dada. Para realizar estos cálculos, 20 LLC procedentes de individuos de grupos diferentes (una llamada por grupo) fueron seleccionadas al azar para cada una de las cuatro localidades incluidas en este estudio (80 llamadas en total). Los resultados obtenidos fueron comparados con los obtenidos previamente por otros investigadores (Eberhard, datos sin publicar).

3.2.3.- Duración de la primera sílaba y de la llamada total

El objetivo principal de nuestro estudio se centraba en determinar si existían diferencias en la variabilidad de las llamadas de contacto entre las poblaciones insulares y continentales de pericos cara sucia; sin embargo, para entender mejor los factores que puedan estar influyendo sobre cualquier patrón observado, también queríamos determinar dónde residían estas diferencias potenciales. Dado el diseño anidado de nuestro muestreo (varias localidades de islas y de tierra firme, varios grupos dentro de cada localidad, y varias llamadas dentro de cada grupo), la variabilidad total de las llamadas, medida basándose en la duración de la primera sílaba y la duración de la llamada total, se pudo descomponer en cuatro niveles diferentes (Figura 3.4). En el nivel más básico, se encontraba la variación debida a las diferencias entre las LLC que se originan en un mismo grupo, la **variación intragrupal** (“error residual” en los análisis). Cabe destacar que debido a que no fue posible obtener un número suficiente de llamadas de individuos solos, este nivel de muestreo incluyó tanto la variabilidad debida a diferencias entre llamadas de un mismo individuo (variación intraindividual) como la debida a diferencias entre los individuos que conforman dicho grupo. Por

encima de esto, en el segundo nivel, se encontraba la variabilidad asociada a las diferencias entre los grupos dentro de una misma localidad, la **variación intergrupala** (GRP). En el tercer nivel se encontraba la variabilidad entre las llamadas de localidades diferentes de una misma región (“islas” o “continente”), correspondiente a la **variación interlocal** (LOC). Finalmente, en el nivel superior, se encontraba la variabilidad asociada a las diferencias entre las llamadas de los pericos insulares y los continentales, la **variación interregional** (REG). La inclusión de esta estructura anidada en los análisis permitió establecer la independencia de las varianzas en los distintos niveles, ya que la variabilidad en cada nivel es excluida de la presente en los niveles superiores (Pinheiro y Bates 2004). Por ejemplo, la variación intergrupala no corresponde a toda la variación dentro de una localidad, sino que sólo agrupa la variación que existe entre los grupos de esa localidad, pero no dentro de ellos.

Tomando en cuenta esta organización jerárquica de los datos, ajustamos una serie de modelos lineales con efectos mixtos (fijos y aleatorios anidados), primero a la duración de la primera sílaba y luego a la duración de la llamada total, para evaluar si habían diferencias significativas en la variabilidad entre la región insular y continental, y dónde recaían estas diferencias. Para ello, se siguió la formulación de Laird y Ware (1982) extendida por Pinheiro y Bates (2004). Todos los análisis fueron llevados a cabo con el paquete *nlme* en R (Pinheiro *et al.* 2006), utilizando la opción de ajustar los modelos maximizando el logaritmo de la verosimilitud restringida (REML por sus siglas en inglés, “REstricted Maximum Likelihood;” Venables y Ripley 1997). Este método computacional fue preferido en lugar de métodos de ajuste tradicionales (como el de mínimos cuadrados y de máxima verosimilitud completa) por dos razones principales. Primero, el REML logra estimados de parámetros mucho menos sesgados al trabajar con datos no balanceados, por lo que permite aprovechar todos los datos disponibles (Pinheiro y Bates 2004). Segundo, permite relajar los supuestos simplificadores estándares de los modelos lineales generales, relacionados con la normalidad y homocedasticidad (igualdad de varianzas) de los errores en el nivel basal de los factores aleatorios (Pinheiro y Bates 2004). Este último punto resultó ser fundamental para este estudio, ya que precisamente deseábamos investigar si existían diferencias en las

varianzas de las llamadas de las islas y del continente en los diferentes niveles de muestreo, incluyendo el basal (dentro de grupos).

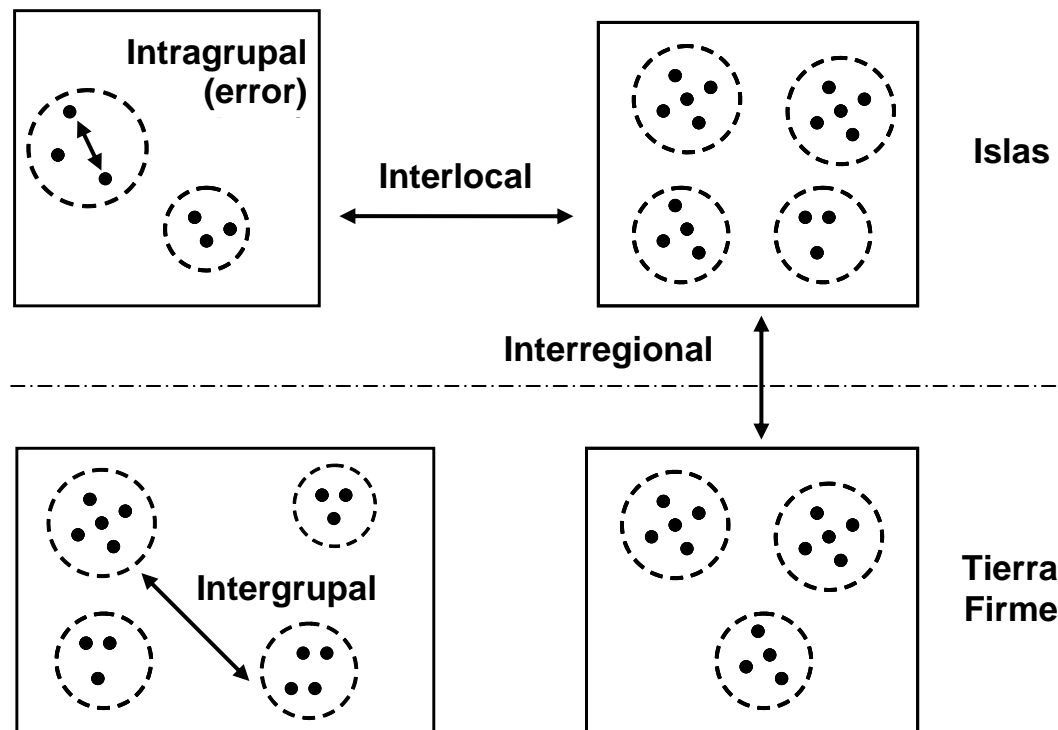


Figura 3.4.- Representación esquemática de los niveles de análisis de la variabilidad de las llamadas de contacto de *A. pertinax* incluidos en el presente estudio. Los círculos negros representan vocalizaciones individuales, los círculos punteados corresponden a grupos de pericos diferentes (uno o más pericos por grupo) y los rectángulos representan localidades aisladas. Variación intragrupal (residual) = Variación dentro de grupos, Variación intergruppal (GRP) = Variación entre grupos y dentro de localidades, Variación interlocal (LOC) = variación entre localidades y dentro de regiones, Variación interregional (REG) = variación entre el total de las poblaciones insulares y el total de poblaciones continentales.

Entre el juego de modelos considerados, el modelo más complejo (el modelo “completo”) fue uno que permitió estimar de manera simultánea la contribución de cada nivel de anidamiento a la varianza total de los datos, considerando el efecto tanto de factores fijos (aquellos seleccionados con el fin de poner a prueba una hipótesis de

diferencias promedios entre niveles particulares escogidos) como de factores aleatorios (aquellos para los cuales los niveles observados fueron muestreados aleatoriamente de una población; Sokal y Rohlf 1981, Piepho *et al.* 2003). En el componente del modelo que buscó explicar las diferencias en los promedios de la duración de las llamadas, incluimos tres efectos fijos; el primero fue el promedio global (intercepto, **INT**). El segundo fue **LONG**, correspondiente a la ubicación longitudinal en el oeste, centro o este del país de cada localidad de muestreo (Figura 3.1). La inclusión de este factor permitió determinar si existía algún patrón en el promedio de la duración de la vocalización que se correspondiera con un origen histórico de las poblaciones de pericos insulares venezolanas independiente del de las Antillas Holandesas (suponiendo que podrían haber ocurrido al menos dos eventos de colonización de las islas, uno en el oriente y otro en el occidente, a partir de la tierra firme continental; Capítulo 2). El tercer efecto fijo incluido en el modelo fue **REG**, la ubicación de las llamadas en la “región insular” (islas) o en la “región continental” (tierra firme).

Adicionalmente a los efectos fijos, incluimos en el modelo cuatro componentes de variación (“efectos aleatorios”), dos en el promedio global (intercepto) y dos en el efecto fijo REG. Tanto para el intercepto como para REG, el primer efecto aleatorio fue un componente de varianza **LOC**, el cual representaba la variación existente entre localidades de una misma región. El segundo efecto aleatorio considerado fue el componente de varianza **GRP**, asociado a las diferencias entre las llamadas de los grupos de una misma localidad. Este efecto estaba anidado dentro del primer efecto (LOC), por lo que era independiente del mismo. El incluir los cuatro efectos de esta manera era el equivalente de especificar que la “localidad” tenía un efecto importante sobre la variación de la duración de las llamadas independiente de su ubicación regional, y por encima de eso, existía un efecto aleatorio adicional que era diferente en cada región. Adicionalmente, el modelo consideró una quinta fuente de variación aleatoria, representada en el análisis por la varianza residual o error, la cual correspondió a la varianza en el nivel inferior de anidamiento (varianza intragrupal).

Dado que nuestro interés particular era poner a prueba la heterocedasticidad en estos diferentes niveles de variación anidados (con varianzas potencialmente diferentes

en islas *versus* continente), el modelo completo incluyó no solamente la especificación del promedio descrito arriba, sino también parámetros adicionales para modelar la “estructuración” de la varianza – es decir, las interrelaciones entre los componentes de varianza. Hicimos esto en los niveles superiores especificando dos aspectos adicionales del modelo. En primer lugar, especificamos una estructura de varianza-covarianza particular (en lugar de una “generalizada;” Pinheiro y Bates 2004, p. 157). Para ello, ajustamos parámetros diferentes para las cuatro varianzas (uno para cada factor aleatorio) y para sólo cuatro de las 12 covarianzas posibles entre los factores aleatorios. No ajustamos parámetros para las ocho covarianzas que involucraban interacciones de LOC y GRP, dado que eran independientes por estar anidadas. En segundo lugar, utilizamos el factor **REG** como variable de estratificación de la varianza-covarianza, permitiendo que la estructura así especificada pudiera tomar valores diferentes en las llamadas insulares en comparación con las llamadas continentales. Finalmente, en el nivel inferior del análisis (dentro de grupos), no supusimos la simplificación estándar de una distribución constante de varianzas (Sokal y Rohlf 1981). En cambio, permitimos que la varianza en ese nivel variara en función de la misma variable de estratificación, **REG**, utilizando para ello la opción *varIdent* (Pinheiro y Bates 2004).

De este modo, el modelo completo ajustado fue:

$$y = (\beta_0 + b_{0\text{LOC}} + b_{0\text{GRP} \subset \text{LOC}}) + (\beta_1 + b_{1\text{LOC}} + b_{1\text{GRP} \subset \text{LOC}})\text{REG} + \beta_2\text{LONG} + \varepsilon$$

$$b_i \sim N(0, \psi_i * \text{REG}), \quad \varepsilon \sim N(0, \sigma^2 * \text{REG})$$

$$\psi_i = \left(\begin{array}{cc|cc} \hline \overbrace{\begin{array}{cc} \sigma^2_{0\text{LOC}} & - \\ - & \sigma^2_{0\text{GRP} \subset \text{LOC}} \end{array}}^{\psi_0} & \text{cov}_{0-1\text{LOC}} & - & \\ \hline \text{cov}_{0-1\text{LOC}} & - & \underbrace{\begin{array}{cc} \sigma^2_{1\text{LOC}} & - \\ - & \sigma^2_{1\text{GRP} \subset \text{LOC}} \end{array}}_{\psi_1} & \\ \hline \end{array} \right)$$

donde y era la duración observada de la primera sílaba (o la llamada total), β_0 era el promedio global (el intercepto), β_1 era el efecto promedio debido a la ubicación regional (isla *vs.* continente), y β_2 era el efecto promedio debido a ubicación longitudinal (oeste *vs.* centro *vs.* este). b_{0LOC} y b_{1LOC} eran los efectos aleatorios de localidad (la variación entre localidades) en el promedio general (intercepto) y específicos a una región dada, respectivamente, mientras $b_{0GRP\subset LOC}$ y $b_{1GRP\subset LOC}$ eran los efectos aleatorios análogos, pero de grupo anidado en localidad (la variación entre grupos y dentro de localidades). Estos efectos aleatorios (b_i) fueron modelados como distribuciones normales con promedio de 0, pero con la estructura de varianza-covarianza ψ_i descrita arriba, diferente para cada una de las dos regiones (insular *vs.* continental). En la diagonal de ψ_i se encontraban las varianzas asociadas a cada factor aleatorio (σ^2_{0LOC} , $\sigma^2_{0GRP\subset LOC}$, etc.), mientras que el resto de las celdas de la matriz correspondía a las covarianzas entre ellos (cov_{0-1LOC} , etc.). Designamos el ψ reducido resultante como ψ_0 cuando sólo se consideraba variación aleatoria en el promedio global (indicada por la caja superior), y paralelamente como ψ_1 cuando sólo se consideraba la variación aleatoria específica a la región (caja inferior). Finalmente, ε era el error residual, que correspondía a la variación dentro de grupos; para este nivel también consideramos la varianza como una función de la región.

Con el fin de evaluar la significancia estadística de los estimados de parámetros obtenidos a partir del modelo completo, procedimos a continuación a ajustar tres juegos de modelos reducidos, descritos a continuación, para seleccionar el mejor modelo dentro de cada uno de ellos. Dentro de cada juego, se evaluó el criterio de información de Akaike (AIC, por sus siglas en inglés) para cada modelo, calculado como dos veces el número de parámetros en el modelo menos dos veces el logaritmo de verosimilitud del modelo (Sakamoto *et al.* 1986). Los modelos con un AIC más bajo representan un ajuste mejor, así que un parámetro fue considerado diferente de cero cuando el modelo que incluía ese parámetro tenía un AIC considerablemente menor al compararlo con el modelo equivalente que no incluía ese parámetro. La comparación entre modelos se basó en los criterios de Burnham y Anderson (2002, p. 70). Según estos autores, una diferencia mayor o igual a 4 unidades entre los valores de AIC de dos modelos

anidados indica que el modelo con el mayor AIC tiene un soporte empírico “considerablemente menor” al del modelo alternativo. En el caso de que la diferencia sea mayor o igual a 10 unidades, el modelo con el mayor valor de AIC esencialmente no tiene apoyo empírico, por lo que puede ser omitido de consideraciones posteriores.

Dado que sólo se puede comparar modelos alternativos con efectos aleatorios diferentes si tienen la misma estructura de efectos fijos (Pinheiro y Bates 2004, p. 18), construimos un primer juego de modelos en el cual se compararon las cuatro combinaciones posibles que sólo incluían efectos fijos. Para esto partimos del modelo más sencillo con sólo el promedio global (β_0), al cual se agregaron sucesivamente las tres combinaciones de β_1 y β_2 (sólo β_1 , sólo β_2 y $\beta_1+\beta_2$). Ajustamos estos cuatro modelos tanto para la primera sílaba como para la llamada total. En ambos casos, los resultados indicaron que tanto β_1 como β_2 tenían un efecto significativo en la duración de las llamadas (datos no mostrados), por lo que ambos fueron incluidos como efectos fijos en los pasos siguientes.

Una vez definidos los efectos fijos (REG y LONG), se plantearon dos juegos de cinco modelos adicionales diferentes a comparar, uno para la primera sílaba y otro para la duración total de la llamada (Tabla 3.2a y b). Todos los modelos incluyeron los efectos fijos que resultaron significativos en el paso anterior, pero variaron en los efectos aleatorios, con el fin de considerar las posibles diferencias de heterocedasticidad. Estos modelos eran más sencillos que el modelo completo descrito arriba, ya que sólo incluían el efecto aleatorio LOC como un efecto global (en el intercepto) o como un efecto que era específico a y diferente para las dos regiones, pero no en ambos simultáneamente. Esto se debió a que al evaluar el modelo completo observamos una fuerte correlación negativa entre los efectos aleatorios globales y los específicos a una región, lo que indicaba que el modelo completo estaba sobrep parametrizado (Pinheiro y Bates 2004).

Para el juego de modelos ajustados a la duración de la primera sílaba, con el fin de limitar el número de modelos comparados, siempre incluimos tanto un efecto aleatorio para localidad (LOC) como un efecto aleatorio para grupo (GRP) anidado dentro del anterior, dado que el porcentaje de varianza explicada por ambos factores resultó ser

siempre muy alto (datos no mostrados). Así, nuestro Modelo I (Tabla 3.2a) asumía que los efectos aleatorios eran globales (b_{0LOC} , $b_{0GRP=LOC}$), por lo que sus varianzas fueron supuestas como iguales para las regiones insulares y continentales. Logramos esto implementando la opción de *pdDiag* cuando especificamos los efectos aleatorios (Pinheiro y Bates 2004, p. 157). El segundo modelo considerado (Modelo II) era parecido al anterior, pero presumía que los efectos aleatorios sólo influían en las diferencias entre regiones y no el promedio global, lo cual tuvo el efecto de modelar varianzas diferentes entre islas y continente en los niveles superiores. El tercer modelo (Modelo III) presumía que los efectos aleatorios tenían un componente igual entre islas y tierra firme en el promedio global, y un componente adicional diferente entre islas y el continente. En todos estos tres modelos, presumimos una sola varianza para los errores, igual en las islas y el continente. Finalmente, los modelos IV, V y VI eran similares a los modelos I, II y III, respectivamente, con la excepción de que consideraban la existencia de heterocedasticidad en los errores basales. En otras palabras, estos modelos permitían una varianza dentro de grupos diferente en islas que en el continente.

Para el análisis de la duración de la llamada total se ajustaron en un principio los mismos modelos descritos para la duración de la primera sílaba. Sin embargo, los resultados indicaron que el factor aleatorio para localidad (LOC) prácticamente no contribuía a explicar la varianza de las llamadas (datos no mostrados), por lo que fue excluido de los modelos. Así, el juego de seis modelos considerados en el análisis de la duración total de las llamadas fue idéntico al descrito para la primera sílaba, con la excepción de que sólo incluía el efecto aleatorio asociado a la variación intergrupala (GRP), excluyendo el efecto de la variación entre localidades (Tabla 3.2b).

Tabla 3.2.- Resumen de los modelos lineales comparados para evaluar las diferencias de los promedios y varianzas de las duraciones de las llamadas de *Aratinga pertinax* (abreviaciones explicadas en el texto).

a.- Modelos ajustados a la duración de la primera sílaba de la llamada

Modelo	Efectos fijos	Efectos Aleatorios (LOC, GRP)	Residual (ϵ)
I	INT, REG, LONG	$b_{0LOC}, b_{0GRP \subset LOC}, \psi_0$ ($\sigma^2_{islas} = \sigma^2_{continente}$)	$\sigma^2_{islas} = \sigma^2_{continente}$
II	"	$b_{1LOC}, b_{1GRP \subset LOC}, \psi_1$ ($\sigma^2_{islas} \neq \sigma^2_{continente}$)	$\sigma^2_{islas} = \sigma^2_{continente}$
III	"	$b_{0LOC}, b_{0GRP \subset LOC},$ $b_{1LOC}, b_{1GRP \subset LOC}, \psi_i$	$\sigma^2_{islas} = \sigma^2_{continente}$
IV	"	$b_{0LOC}, b_{0GRP \subset LOC}, \psi_0$ ($\sigma^2_{islas} = \sigma^2_{continente}$)	$\sigma^2_{islas} \neq \sigma^2_{continente}$
V	"	$b_{1LOC}, b_{1GRP \subset LOC}, \psi_1$ ($\sigma^2_{islas} \neq \sigma^2_{continente}$)	$\sigma^2_{islas} \neq \sigma^2_{continente}$
VI ("modelo completo")	"	$b_{0LOC}, b_{0GRP \subset LOC},$ $b_{1LOC}, b_{1GRP \subset LOC}, \psi_i$	$\sigma^2_{islas} \neq \sigma^2_{continente}$

b. - Modelos ajustados a la duración de la llamada total

Modelo	Efectos fijos	Efecto Aleatorio (GRP)	Residual (ϵ)
I	INT, REG, LONG	$b_{0GRP}, \sigma^2_{0GRP}$ ($\sigma^2_{islas} = \sigma^2_{continente}$)	$\sigma^2_{islas} = \sigma^2_{continente}$
II	"	$b_{1GRP}, \sigma^2_{1ISL}, \sigma^2_{1CON}$ ($\sigma^2_{islas} \neq \sigma^2_{continente}$)	$\sigma^2_{islas} = \sigma^2_{continente}$
III	"	$b_{1GRP}, b_{0GRP},$ $\sigma^2_{0GRP}, \sigma^2_{1ISL}, \sigma^2_{1CON}$	$\sigma^2_{islas} = \sigma^2_{continente}$
IV	"	$b_{0GRP}, \sigma^2_{0GRP}$ ($\sigma^2_{islas} = \sigma^2_{continente}$)	$\sigma^2_{islas} \neq \sigma^2_{continente}$
V	"	$b_{1GRP}, \sigma^2_{1ISL}, \sigma^2_{1CON}$ ($\sigma^2_{islas} \neq \sigma^2_{continente}$)	$\sigma^2_{islas} \neq \sigma^2_{continente}$
VI ("modelo completo")	"	$b_{1GRP}, b_{0GRP},$ $\sigma^2_{0GRP}, \sigma^2_{1ISL}, \sigma^2_{1CON}$	$\sigma^2_{islas} \neq \sigma^2_{continente}$

3.3.- Resultados

3.3.1.- Estructura general de las llamadas

Las llamadas de contacto resultaron relativamente fáciles de distinguir de las otras vocalizaciones que conforman el repertorio vocal de *Aratinga pertinax*, tales como las llamadas de alarma, debido a su amplitud relativamente alta y su estructura espectro-temporal general (Bradbury 2003). Además de los incrementos y decrementos modulados de frecuencia que definen a las sílabas individuales ya descritos, estas llamadas se caracterizan por ser ricas en armónicos (Figura 3.3). En algunas ocasiones, se grabaron vocalizaciones que presentaban rasgos de las llamadas de contacto en combinación con rasgos de otros tipos de vocalización (tales como series de cortos pulsos ricos en armónicos, característicos de las llamadas de alarma). Estos tipos de vocalizaciones fueron consideradas variantes de la llamada de contacto típica, y fueron omitidas de los análisis.

3.3.2.- Patrones de sílabas

No se encontró un patrón geográfico significativo de variación intragrupal en el número de patrones de sílabas para las llamadas de contacto de *A. pertinax*, ni a partir de los datos del presente estudio, ni en combinación con los datos previos. En el primer caso, al evaluar sólo los grupos con tres o más llamadas de contacto presentes en cada localidad, se encontró que el número de patrones por grupo varió de uno a cinco ($X=2,38 \pm 0,98$ (s.d)). No hubo diferencias significativas entre localidades (ANOVA: $F=1,0218$; g. l.=3; $P=0,4021$; $N=26$) o entre la isla y las localidades continentales (ANOVA: $F=2,9766$; g. l.=1; $P=0,0973$; $N=26$). Resultados similares se obtuvieron al incluir las muestras procedentes de las otras cuatro islas donde se encuentra al perico cara sucia (ARU, CUR, BON, MAR; Figura 3.1) así como tres localidades adicionales del continente (UCV, OCU, LAFE) (datos no mostrados).

Por otra parte, tampoco se encontraron diferencias significativas en la diversidad de patrones de sílabas entre la región insular y la continental. La mayor diversidad se

observó en una localidad continental (DAL, $H_s=1,916$) y la segunda mayor diversidad en la isla (TOR, $H_s=1,608$). La menor diversidad correspondió a la otra localidad del estado Lara (PNS, $H_s=1,275$). Al comparar estos resultados con los obtenidos previamente por Eberhard (datos sin publicar), observamos que la diversidad de patrones de sílabas de las cuatro localidades evaluadas en este estudio resultaron en general mayores que las calculadas para las otras seis poblaciones de *A. pertinax* (ARU, $H_s=1,269$; BON, $H_s=1,277$; CUR, $H_s=1,158$; LAFE, $H_s=0,845$; UCV, $H_s=0,856$; MAR, $H_s=0,693$). Este resultado se corresponde con el hecho de que en el presente estudio se registró un mayor número de patrones en cada localidad, en comparación con los números reportados previamente para las otras localidades. Así, para 20 llamadas seleccionadas aleatoriamente de las localidades incluidas en este estudio, en cada una se encontraron de seis a nueve patrones de sílabas diferentes. En cambio, el máximo número de patrones encontrado previamente para una muestra de tamaño similar fue de siete (ARU) y el mínimo fue de tres patrones en el continente (LAFE y UCV) y dos en una isla (MAR) (Eberhard, datos sin publicar).

3.3.3.- Variabilidad de la duración de las llamadas de contacto

Al graficar las duraciones de todas las llamadas de contacto ($N= 869$), observamos que en general la duración promedio era similar para todas las localidades evaluadas, tanto para la duración de la primera sílaba (Figura 3.5) como para la llamada total (Figura 3.6). A pesar de esto, resultó evidente que existían localidades con duraciones características y diferentes al resto. Este fue el caso de la isla de Margarita, donde se observó que la primera sílaba de las llamadas de contacto tiende a ser marcadamente más larga que en el resto de las localidades (tanto insulares como continentales). Esta diferencia no se observó en el caso de la duración de la llamada total. Por otra parte, la duración promedio de las llamadas tiende a ser mayor en las islas que en tierra firme, mientras que en general su duración mínima parece ser de aproximadamente 50 ms. Finalmente, en todas las localidades se observó una gran variación en las duraciones tanto dentro como entre grupos, particularmente para la duración de la llamada total.

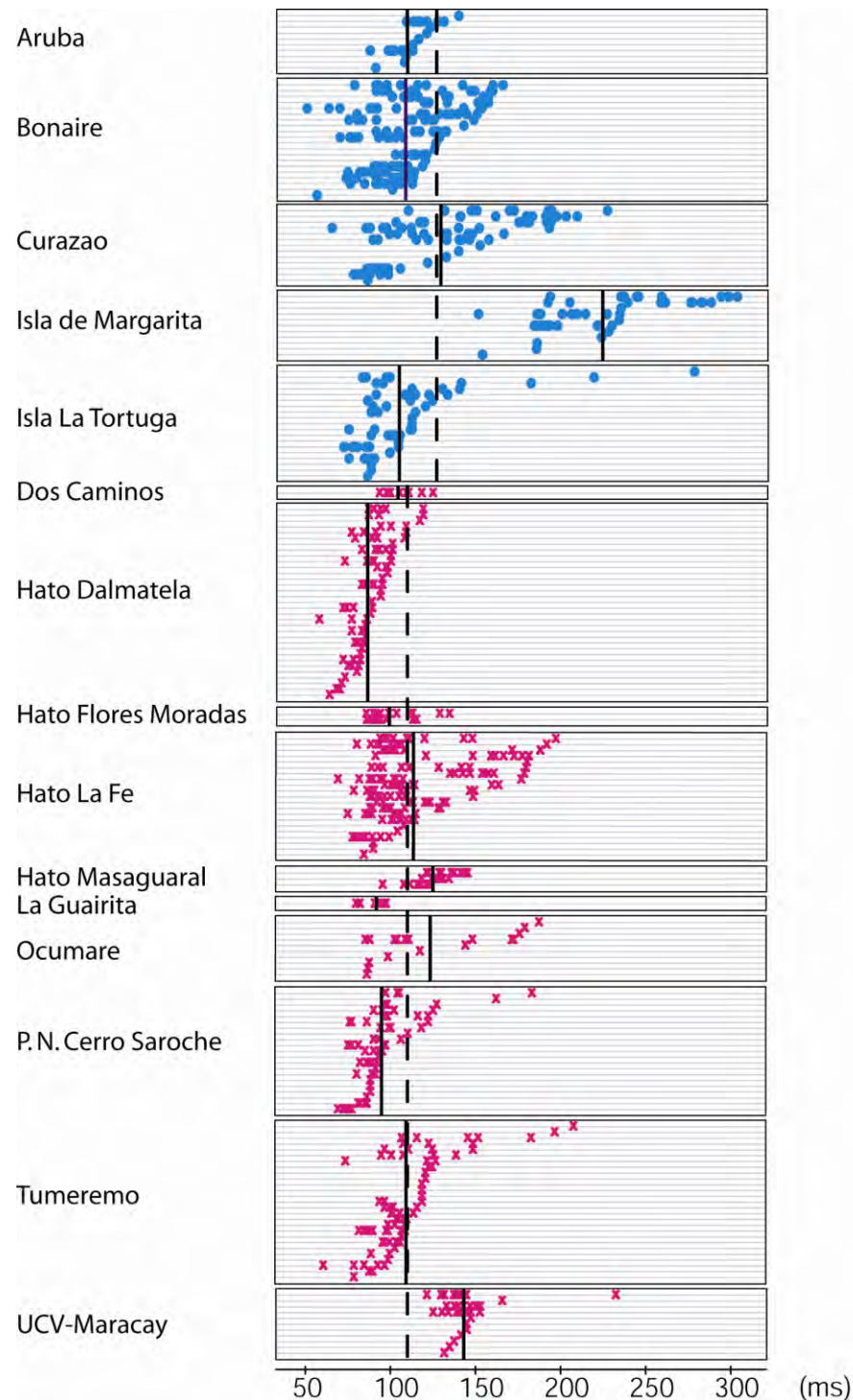


Figura 3.5.- Dispersión de la duración de la primera sílaba de las llamadas de contacto de *Aratinga pertinax*. Con un círculo se indican las llamadas de las islas y con una equis las llamadas continentales. Las llamadas de una fila proceden todas de un mismo grupo. Las líneas continuas verticales indican la duración promedio de cada localidad, mientras que las líneas discontinuas indican la duración promedio de todas las localidades insulares y continentales.

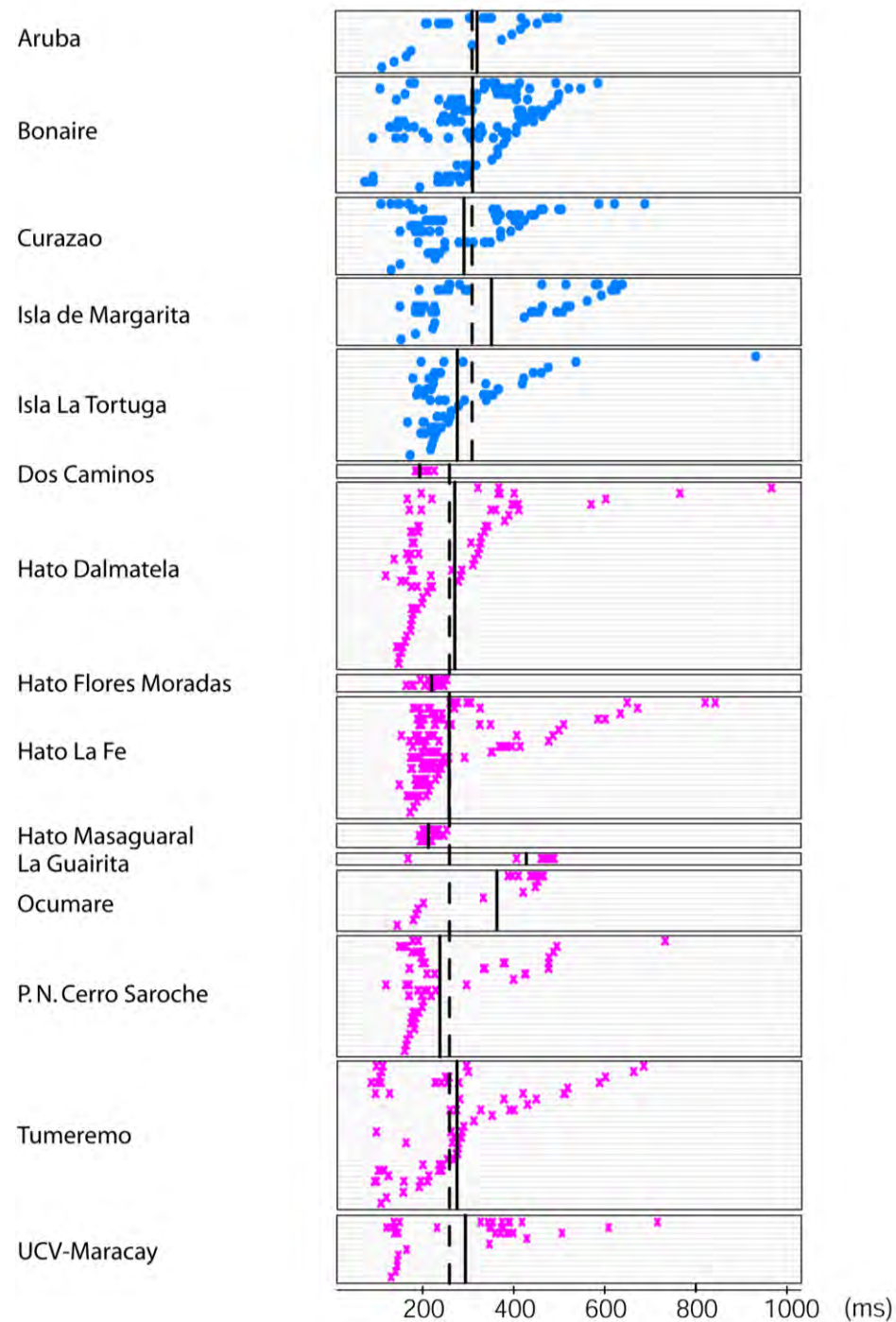


Figura 3.6.- Dispersión de la duración de la llamada de contacto total de *Aratinga pertinax*. Con un círculo se indican las llamadas de las islas y con una equis las llamadas continentales. Las llamadas de una fila proceden todas de un mismo grupo. Las líneas continuas verticales indican la duración promedio de cada localidad, mientras que las líneas discontinuas indican la duración promedio de todas las localidades insulares y continentales.

Los análisis estadísticos formales nos permitieron investigar en mayor detalle éstas diferencias en los promedios de las duraciones de las llamadas, así como las diferencias de varianza en los distintos niveles de análisis. A continuación presentamos por separado los resultados obtenidos para cada una de las dos variables evaluadas.

Variabilidad de la primera sílaba

Al comparar el juego de modelos en el cual se variaron los efectos aleatorios, el modelo seleccionado para la duración de la primera sílaba fue el segundo más complejo de los estudiados (Modelo V, Tabla 3.2a), el cual presentó un valor de AIC significativamente menor al del resto de los modelos evaluados (Tabla 3.3, criterios de Burnham y Anderson 2002). La expresión matemática completa de este modelo fue:

$$y = \beta_0 + (\beta_1 + b_{1LOC} + b_{1GRP \subset LOC})REG + \beta_2LONG + \varepsilon$$

$$b_i \sim N(0, \psi_1 * REG), \quad \varepsilon \sim N(0, \sigma^2 * REG)$$

$$\psi_1 = \begin{bmatrix} \sigma^2_{1LOC} & - \\ - & \sigma^2_{1GRP \subset LOC} \end{bmatrix}$$

La selección de este modelo por encima de los demás implica que había un efecto significativo en promedio tanto de la región como de la longitud, y más importantemente, que habían además dos efectos aleatorios (localidad y grupo) con valores diferentes según la región (insular *vs.* continental). Igualmente, la varianza basal (dentro de grupos) era diferente según la región.

Tabla 3.3.- Resultados de la comparación de modelos lineales (con efectos fijos y aleatorios anidados, y errores heterocedásticos) para la duración de la primera sílaba de la llamada de contacto de *A. pertinax*. Se resalta en negrita el modelo seleccionado según el criterio de información de Akaike.

Modelo	g. l.	logLik	AIC	Δ AIC
I	7	-3989,204	7992,408	31,593
II	9	-3980,281	7978,563	17,748
III	9	-3989,204	7996,408	35,593
IV	8	-3976,303	7968,606	7,790
V	10	-3970,408	7960,815	0,000
VI	10	-3976,303	7972,606	11,790

Al comparar los coeficientes de los efectos fijos (β_0 , β_1 , β_2), los cuales correspondieron al efecto de cada factor sobre el promedio de la duración de la primera sílaba, pudimos evaluar numéricamente lo que ya habíamos observado en los gráficos de dispersión: en general las llamadas de las islas tenían una duración mayor a las de las llamadas de tierra firme (Tabla 3.4a y b). Adicionalmente, las llamadas de las islas ubicadas en el este (islas venezolanas, Figura 3.1) tenían una duración mayor a las de las islas del oeste (Antillas Holandesas). En el gráfico de los datos crudos (Figura 3.5), podemos ver que este resultado es consecuencia de la diferencia promedio tan marcada de la isla de Margarita, cuyas llamadas tenían una primera sílaba con duración promedio casi dos veces mayor a la del resto de las poblaciones estudiadas. En contraste, la duración de las primeras sílabas de la otra isla venezolana (isla la Tortuga) resultó bastante similar a la del resto de las poblaciones, tanto insulares como continentales.

Tabla 3.4.- Estimados de los parámetros de los efectos fijos para el modelo seleccionado (modelo V) en el análisis de la duración de la primera sílaba de la llamada de contacto de *A. pertinax*. Se indican los valores de los límites del intervalo de confianza del 95%.

a.- Estimados de los parámetros de los efectos fijos

Intercepto	REG		LONG		
β_0	β_{1Isla}	$\beta_{1continente}$	$\beta_{2Centro}$	β_{2Este}	β_{2Oeste}
154,0	-	-35,5	-	-3,6	-28,2

b.- Sumatoria e intervalos de confianza de los estimados de los parámetros de los efectos fijos

Nivel	Estimado ($\Sigma\beta_i$)	Intervalo de confianza (95%)	
		Lím. Inferior	Lím. Superior
Isla-Centro	154,0	112,9	195,1
Continente - Centro	118,5	74,401	162,7
Isla - Este	150,5	119,4	181,5
Continente - Este	115,0	83,9	146,0
Isla - Oeste	125,8	101,4	150,3
Contiente - Oeste	90,3	65,9	114,8

Por otra parte, el modelo seleccionado confirmó la existencia de heterocedasticidad significativa entre las primeras sílabas de las islas y del continente tanto a nivel regional (b_{1LOC} : entre localidades de una región) como al nivel local ($b_{1GRP-LOC}$: entre grupos de una localidad) y grupal (ϵ : dentro de grupos). Por lo tanto, los estimados de los parámetros de los efectos aleatorios permitieron explorar cómo se descomponía la varianza de la duración de las llamadas tanto dentro de las regiones, como entre los niveles de las dos regiones (Tabla 3.5).

Se encontró que para todos los niveles de análisis, la varianza de la primera sílaba fue mayor en las islas que en el continente. La diferencia más marcada se observó al nivel interlocal (entre localidades), para el cual la varianza de las llamadas de las islas fue casi diez veces mayor que la varianza de las llamadas de tierra firme. Es decir, los promedios de la duración de la primera sílaba de las cinco localidades insulares fueron

significativamente ($\sim \times 10$) más heterogéneos entre ellos que los promedios de las diez localidades continentales. Como ya se ha mencionado previamente, este resultado es consecuencia directa de la mayor duración promedio de las llamadas de la isla de Margarita con respecto al resto de las localidades. Para los otros dos niveles estudiados, las diferencias de varianza entre regiones fueron menos marcadas, aunque igualmente significativas. Finalmente, se observó que la varianza de la duración de la primera sílaba fue similar dentro de grupos y entre grupos, tanto en islas como en tierra firme.

Tabla 3.5.- Descomposición de la varianza de la duración de la primera sílaba de la llamada de contacto de *A. pertinax* según el modelo seleccionado (Modelo V).

Nivel	Varianza (Lím. Inf. - Lím. Sup.)	
	Isla	Continente
Interlocal (σ^2_{ILOC})	1643,5 (381,1 - 7087,1)	168,7 (36,2 - 785,1)
Intergruppal ($\sigma^2_{IGRP \subset LOC}$)	501,7 (302,8 - 831,5)	209,9 (132,0 - 333,8)
Intragruppal (σ^2)	547,1 (464,2 - 644,7)	334,88 (269,1 - 416,6)

Variabilidad en la duración de la llamada total

El análisis de ajuste de los modelos de la duración total de la llamada de contacto, variando la inclusión de factores aleatorios, resultó en la selección del modelo más sencillo, el cual no consideraba diferencias en la homogeneidad de las varianzas entre las llamadas de las islas y las de tierra firme (Modelo I, Tabla 3.6). Por lo tanto, concluimos que no existen diferencias significativas en la varianza de la duración total de las llamadas de contacto entre estos tipos de poblaciones.

La expresión matemática completa de este modelo fue:

$$y = \beta_0 + b_{0GRP} + \varepsilon$$

$$b_0 \sim N(0, \sigma^2_{0GRP}), \quad \varepsilon \sim N(0, \sigma^2)$$

Tabla 3.6.- Resultados de la comparación de modelos lineales (con efectos fijos y aleatorios anidados, y errores heterocedásticos) para la duración de la llamada de contacto total de *A. pertinax*. Se resalta en negrita el modelo seleccionado según el criterio de información de Akaike.

Modelo	g. l.	logLik	AIC	Δ AIC
I	6	-5380,340	10772,68	0,000
II	7	-5380,304	10774,61	1,927
III	7	-5380,304	10774,61	1,927
IV	7	-5380,143	10774,29	1,606
V	8	-5380,136	10776,27	3,591
VI	8	-5380,136	10776,27	3,591

Al igual que en el caso de la duración de la primera sílaba, al comparar los coeficientes de los efectos fijos (β_0 , β_1 , β_2), observamos que la duración promedio de la llamada de contacto total es mayor en las islas que en tierra firme, así como es mayor en las islas del este que en las del oeste (Tabla 3.7). Finalmente, encontramos que la varianza de la duración total de las LLC de los pericos cara sucia es aproximadamente 2,5 veces mayor dentro de grupos, que entre grupos (Tabla 3.8).

Tabla 3.7.- Estimados de los parámetros de los efectos fijos para el modelo seleccionado (Modelo I) en el análisis de la duración de la llamada de contacto total de *A. pertinax*. Se indican los valores de los límites del intervalo de confianza del 95%.

a.- Estimados de los parámetros de los efectos fijos

Intercepto	REG		LONG		
β_0	β_{1Isla}	$\beta_{1continente}$	$\beta_{2Centro}$	β_{2Este}	β_{2Oeste}
306,1	-	-44,2	-	7,7	-11,9

Tabla 3.7.- (Continuación)

b.- Sumatoria e intervalos de confianza de los parámetros de los efectos fijos

Nivel	Estimado ($\Sigma\beta_i$)	Intervalo de confianza (95%)	
		Lím. Inferior	Lím. Superior
Isla-Centro	306,1	266,0	346,2
Continente - Centro	261,9	231,0	192,7
Isla - Este	313,8	273,8	353,7
Continente - Este	269,5	229,6	309,5
Isla - Oeste	294,2	258,5	329,9
Continente - Oeste	249,9	214,3	285,7

Tabla 3.8.- Descomposición de la varianza de la duración de la llamada de contacto total de *A. pertinax* según el modelo seleccionado (Modelo I).

Nivel	Varianza (Lím. Inf. - Lím. Sup.)
Intergrupar (σ^2_{0GRP})	4684,4 (3171,2 - 6919,9)
Intragrupar (σ^2)	11898,2 (10692,4 - 13240,0)

3.4.- Discusión

3.4.1- Resultados generales: variación de las llamadas de contacto

Los resultados de este estudio confirman las observaciones realizadas previamente por otros investigadores con respecto a la existencia de un patrón de variación geográfica en las llamadas de contacto del perico cara sucia (Eberhard, datos sin publicar). Este patrón se ve expresado principalmente en diferencias de la duración de la primera sílaba de la llamada, la cual resultó ser significativamente más variable en la región insular que en la continental a todos los niveles de estudio (dentro de grupos, entre grupos y entre localidades).

Los otros dos parámetros de las llamadas de contacto que fueron evaluados (número de patrones de sílabas y duración total de las llamadas), en cambio, no presentaron un patrón de variación geográfica consistente. Esto difiere de los resultados previos (Eberhard, datos sin publicar), para los cuales sí se encontraron diferencias significativas entre localidades y una tendencia a que las poblaciones insulares presentaran un mayor número de patrones y mayor variabilidad de la duración de la llamada total dentro de grupos que las poblaciones de tierra firme (analizando para ello diez llamadas de contacto diferentes por grupo). Estas diferencias podrían estar relacionadas a varios factores. En primer lugar, podrían derivarse de errores o discrepancias entre investigadores al momento de asignar los patrones de sílabas de cada llamada. Esto es poco probable ya que se tuvo mucho cuidado de replicar los métodos de las investigaciones previas, utilizando para ello la misma clave de identificación de patrones. Sin embargo, esta posibilidad podría descartarse si un solo investigador revisa todas las clasificaciones de las llamadas realizadas. En segundo lugar, las diferencias entre los resultados de los patrones de sílabas de este estudio y estudios previos podrían estar relacionadas con un muestreo incompleto en nuestros datos. Las observaciones de Eberhard (datos sin publicar) sugirieron que en los análisis de patrones de sílabas basados en sólo cinco llamadas por grupo, tal como fue nuestro caso, podría no estarse

representando adecuadamente la variabilidad de patrones de un grupo. Alternativamente, podría ser simplemente que realmente no existe un patrón geográfico en la variación de estos parámetros de las vocalizaciones en esta especie. Para decidir entre estas dos últimas opciones sería necesario repetir los análisis, incrementando el número de muestras por grupo incluidas a un mínimo de 10 llamadas (según resultados de Eberhard, datos sin publicar). Esto permitiría obtener estimados de la diversidad de patrones de sílabas más confiables y comprobar la existencia o no de un patrón en esta medida.

Aunque previamente se han detectado variaciones geográficas en las vocalizaciones de otros psitácidos (p. ej. Wright 1996, Bradbury *et al.* 2001, Bond y Diamond 2005), el perico cara sucia es la primera especie de este grupo de aves, hasta donde tenemos conocimiento, para la cual se han detectado diferencias entre poblaciones insulares y continentales. Este tipo de estudios ha sido más común entre los passeriformes, grupo dentro del cual sí se han encontrado variaciones significativas entre las vocalizaciones de las poblaciones de islas y las de tierra firme (p. ej. *Petroica goodenovii*, Baker *et al.* 2003a, *Gerygone fusca*, Baker *et al.* 2003b; *Poecile atricapillus*, Kroodsma *et al.* 1999). En algunos casos, al igual que en *Aratinga pertinax*, estas diferencias han evidenciado una mayor diversidad estructural de los cantos en las poblaciones insulares que en las continentales de una especie, lo cual ha sido interpretado como consecuencia de los efectos “homogeneizadores” del aprendizaje cultural unido al continuo flujo génico en tierra firme (p. ej. Kroodsma *et al.* 1999) o como consecuencia de procesos de innovación cultural luego de la colonización en las islas (p. ej. Baker *et al.* 2003b). Con mayor frecuencia, los investigadores han encontrado que los passeriformes de las islas presentan cantos menos diversos o complejos que los de sus coespecíficos continentales (p. ej. Baker 1996, Baker *et al.* 2001, Baker *et al.* 2003a), probablemente como resultado de efectos fundadores o deriva cultural. Las presiones selectivas que pueden estar determinando la variación geográfica de las vocalizaciones aprendidas en estos dos grupos de aves pueden ser muy diferentes, debido en gran parte a las diferentes funciones que estas señales cumplen en cada uno (principalmente de defensa y atracción de parejas en passeriformes, mientras que en los psitácidos son usadas en un

contexto mucho mayor) y a las características de los mecanismos de aprendizaje (principalmente limitado a los machos durante un período corto de su vida en passeriformes, mientras que en psitácidos ambos sexos muestran aprendizaje vocal a lo largo de toda su vida) (Bradbury y Vehrencamp 1998, Bradbury 2003). Sin embargo, algunas presiones serán comunes a ambos, en particular, aquellas ligadas a eventos históricos o presiones selectivas ambientales. En la siguiente sección discutiremos cuáles de éstos u otros factores creemos que podrían estar determinando el patrón de variación de las vocalizaciones en el caso particular de los pericos cara sucia.

3.4.2.- Origen de la variación de las vocalizaciones: revisión de las hipótesis

Nuestros resultados permiten, en primer lugar, descartar que las diferencias observadas previamente por otros investigadores al comparar el comportamiento vocal de *Aratinga pertinax* y su congénere continental *A. canicularis* hayan sido simplemente el resultado de una diferencia entre las especies (hipótesis de diferencias interespecíficas). Es evidente que las diferencias observadas entre las poblaciones de pericos cara sucia siguen un patrón regional (islas *vs.* continente), en lugar de corresponder a la diferenciación de una única localidad como producto del azar.

Una vez descartada la hipótesis de diferencias interespecíficas, podríamos suponer que la mayor variabilidad de las llamadas de contacto de los grupos de pericos en las islas, observada en la primera sílaba de dichas llamadas, es el resultado simplemente de un efecto fundador, o lo que es lo mismo, de factores históricos aleatorios. Este sería el caso si todas las islas fueron colonizadas a partir de una misma población original, la cual se caracterizaba por una alta variabilidad de sus vocalizaciones (Baker *et al.* 2003a, Podos *et al.* 2004). Bajo este escenario, las poblaciones insulares serían los parientes más cercanos entre sí y constituirían un grupo monofilético. A pesar de que la única filogenia molecular con la que se cuenta en la actualidad para este complejo de subespecies no tiene la suficiente resolución como para permitirnos determinar el origen histórico de las poblaciones insulares, los resultados sugieren que estas poblaciones no son recíprocamente monofiléticas entre sí (Capítulo 2). De ser este el caso, los caracteres morfológicos o de comportamiento compartidos por todas las poblaciones de las islas

pero no por las poblaciones continentales estrechamente relacionadas, serían el resultado de al menos dos transiciones evolutivas dentro de la especie, asociadas probablemente a presiones selectivas relacionadas con la vida en las islas.

Al comparar los datos comportamentales con los resultados genéticos, se encuentran puntos de apoyo adicionales para suponer que la variación de las vocalizaciones no es consecuencia de un efecto fundador. Así, las relaciones filogenéticas inferidas no parecen estar reflejando los patrones geográficos de variación de las vocalizaciones encontrados. La duración de la primera sílaba de las llamadas de contacto tiende a ser más variable en todas las poblaciones insulares, a pesar de que las divergencias genéticas estimadas entre ellas llegan a ser similares a las estimadas con respecto a poblaciones continentales (Figura 2.6, Capítulo 2), en las que la variabilidad de las llamadas es menor. Por ejemplo, la variabilidad de las LLC de Curazao y La Tortuga es similar, y significativamente mayor a la del Hato Dalmatela -- a pesar de que la divergencia génica entre las tres localidades es similar. Igualmente, las LLC de la isla de Margarita se diferenciaron marcadamente de las llamadas del resto de las localidades, tanto insulares como continentales, a pesar de la baja divergencia génica entre ellas. El caso de las llamadas de esta isla resulta de particular interés no sólo porque la duración de su primera sílaba era significativamente mayor a la del resto de las poblaciones de *A. pertinax*, sino porque fueron las únicas LLC con patrones espectrográficos particulares que podían ser reconocidos a simple vista (Eberhard, datos sin publicar), lo que sugiere que se trata de un dialecto diferenciado. No contamos con grabaciones de las llamadas de contacto de la única población que se diferenció marcadamente del resto de las subespecies en los análisis genéticos, la presente en el estado Amazonas. Su inclusión en estudios futuros sería muy deseable con el fin de poder confirmar los patrones descritos, así como poder determinar cuáles fuerzas selectivas están actuando.

En lugar de ser producto de un factor histórico aleatorio, los resultados de este estudio sugieren que el patrón de mayor variabilidad de las llamadas en islas que en tierra firme representa una diferencia cultural asociada a contextos de aprendizaje vocal diferentes. En este caso, diferentes factores ecológicos podrían estar determinando la variación vocal. Por ejemplo, en otras especies se ha encontrado que la divergencia

acústica entre poblaciones de la misma especie puede surgir como resultado de la adaptación a la divergencia ecológica, ya sea como un subproducto de que la adaptación morfológica al ambiente afecte los órganos y mecanismos de vocalización (Podos 2001), o por la adaptación directa de las señales al ambiente de señalización (Boughman 2002). Debido a que las llamadas de contacto son señales de comunicación tanto a corta como larga distancia, en principio son susceptibles a las presiones selectivas asociadas al efecto del ambiente sobre las propiedades de transmisión del sonido (p. ej. Morton 1975, Seddon 2005). Sin embargo, el hecho de que los pericos cara sucia tiendan a ocupar áreas áridas y semiáridas abiertas tanto en las islas como en tierra firme (Hilty 2003), en las que la degradación del sonido por la interferencia de la vegetación es menos probable, nos hacen pensar que las características del ambiente no son el factor determinante del patrón de variación geográfico de las vocalizaciones. A esto se suma el hecho de que grabaciones realizadas en localidades continentales semiáridas (Hato Dalmatela, Edo. Lara), cuyas características ambientales son muy parecidas a las encontradas en las islas del Sur del Caribe, presentan niveles de variabilidad en las llamadas significativamente menores a los encontrados en los grupos de pericos de dichas islas. Aunque la evaluación del efecto real que estas u otras variables ambientales (como el viento, el cuál es mucho mayor en las islas que en el continente) pueden estar teniendo en la determinación de los patrones geográficos de las vocalizaciones de los pericos requerirá de la implementación de estudios comparativos y experimentales detallados, nuestros resultados sugieren que deben existir otras fuerzas selectivas en la determinación de las diferencias de comportamiento observadas (Bradbury *et al.* 2001, Seddon 2005).

Alternativamente, la variación entre las llamadas de las poblaciones insulares y continentales de *A. pertinax* podría estar asociada a procesos culturales relacionados con la función de estas señales en la identificación de grupos particulares, tal como ocurre con otras especies de aves que forman bandadas durante todo o parte del año (Farabaugh y Dooling 1996). En este caso, se espera que los compañeros de bandada desarrollen llamadas de contacto específicas al grupo, lo cual tendería a favorecer la homogeneidad de las señales entre ellos (Farabaugh y Dooling 1996). Adicionalmente, a

una escala geográfica mayor, pueden estar actuando presiones selectivas que permitan reconocer a los miembros de grupos cercanos, pertenecientes a una misma “localidad” (determinado en la práctica por el tamaño del área de acción de los grupos), lo que estaría asociado a una homogeneidad de las llamadas entre grupos cercanos. En el caso de poblaciones insulares cerradas, donde las probabilidades de establecer relaciones sociales con individuos procedentes de otros grupos o poblaciones son escasas, estas presiones se verían reducidas, por lo que puede esperarse que exista una mayor variabilidad de las señales en estas poblaciones en comparación a las llamadas de los coespecíficos de tierra firme (Podos *et al.* 2004).

El hecho de que los experimentos de playback indican que los pericos cara sucia de las poblaciones continentales reaccionan diferencialmente a las llamadas de distintas localidades, mientras que los de las islas no (Eberhard, datos sin publicar), apoya a la hipótesis de reconocimiento de grupos “cercanos”. Igualmente, esta hipótesis se ve favorecida por la evidencia de que el patrón geográfico de variación de las llamadas de contacto descrito esté asociado no sólo a una mayor variabilidad de las llamadas dentro de los grupos (variación intragrupal) sino entre grupos (variación intergrupala) en las islas con respecto a tierra firme.

3.4.3.- Significancia ecológica de la variación de las llamadas

Resulta interesante que de los tres parámetros utilizados para medir la variación de las vocalizaciones, el patrón entre islas y tierra firme sólo fue consistente para la duración de la primera sílaba de las llamadas de contacto. Un problema común a todos los estudios de la variabilidad de las señales, y en particular de aquellas tan complejas como las vocalizaciones de las aves, es que los investigadores frecuentemente tienen que decidir de manera subjetiva cómo medir dicha variación (Mundinger 1982, Lynch 1996, Cortopassi y Bradbury 2000). Presumiblemente, los diferentes parámetros que caracterizan un canto o llamada codifican diferentes tipos de información a los receptores, por lo que al seleccionar una o varias medidas determinadas (ya sean cualitativas o cuantitativas) los investigadores suponen que los patrones encontrados serán pertinentes para las especies bajo estudio, ya que en la mayoría de los casos no

hay forma de saber *a priori* si se están incluyendo medidas críticas (Cortopassi y Bradbury 2000, McGregor *et al.* 2000, Vehrencamp 2000).

Igualmente, la dificultad de escoger las medidas correctas explica el por qué muchos de los estudios recientes de la variación de las vocalizaciones de las aves se han enfocado en la aplicación de técnicas automatizadas que permiten estudiar simultáneamente todos los rasgos espectro-temporales de las llamadas, como primera aproximación para determinar la existencia o no de patrones geográficos de las mismas. Entre ellos, la correlación espectrográfica cruzada, y más recientemente su combinación con técnicas de componentes principales (SPCC-PCO, por sus siglas en inglés) ha sido uno de los métodos más utilizados (Cortopassi y Bradbury 2000). Aunque para las localidades muestreadas en el presente estudio no se contaba con suficientes llamadas de buena calidad para llevar a cabo un análisis de SPCC-PCO, en las investigaciones previas de la variación geográfica de las llamadas de contacto de *A. pertinax* donde sí se aplicó este método los resultados fueron consistentes con los ya reportados: las poblaciones insulares de los pericos presentaban una variabilidad general de las llamadas de contacto significativamente mayor a la de poblaciones de tierra firme, tanto dentro de grupos como entre localidades (Eberhard, datos sin publicar). Lo anterior explica el por qué los análisis de variación geográfica de las vocalizaciones (y de las señales en general) deben ser seguidos o acompañados de detallados estudios experimentales (en el laboratorio y/o el campo) con el fin de poder discriminar cuáles elementos de las señales son los responsables de la respuesta diferencial de los receptores (Bradbury y Vehrencamp 1998). En el caso del complejo de subespecies del perico cara sucia, debido a que sólo se han realizados experimentos de playback preliminares (Eberhard, datos sin publicar), es poco lo que conocemos realmente sobre la importancia de cada uno de los elementos de las llamadas de contacto en el reconocimiento de individuos o grupos. Sin embargo, dados nuestros resultados, y asumiendo como ciertas las presiones de selección para el reconocimiento de grupo, podríamos suponer que de los tres parámetros de medición utilizados, sólo la duración de la primera sílaba de las llamadas de contacto constituye un elemento “importante” para el reconocimiento de los individuos de un grupo dentro de esta especie.

3.4.4.- Próximos pasos

A pesar de las evidencias discutidas, la discriminación adecuada entre el conjunto de hipótesis propuestas (efecto del linaje, efecto del hábitat o reconocimiento de grupos), así como de otras posibles hipótesis evolutivas, requerirá estudios más detallados. En primer lugar, sería recomendable realizar grabaciones en localidades costeras adicionales cercanas a las islas (p. ej. en los estados Falcón y Anzoátegui), así como en las localidades del sur del país para las cuales se encontraron marcadas divergencias genéticas con respecto al resto de las poblaciones. Igualmente, sería necesario mejorar los tamaños muestrales de las grabaciones “intraindividuales” e “intragrupales” de las distintas localidades. Dados los resultados obtenidos previamente por Eberhard (datos sin publicar), así como los resultados de este estudio, sería adecuado apuntar a buscar obtener un mínimo de 10 llamadas para cada individuo, y esto para unos 20 individuos pertenecientes a grupos diferentes de cada localidad. Esto permitiría obtener mediciones mucho más robustas de la variabilidad de las llamadas de los pericos cara sucia, y por lo tanto, de los patrones de variación geográfica de las mismas. Finalmente, será necesario el diseño de estudios comparativos, en los que se amplíen los experimentos de playback, por ejemplo, evaluando el reconocimiento de llamadas de contacto por los miembros de una pareja o grupo midiendo los niveles de respuesta diferencial de los individuos ante llamadas de su pareja o grupo *vs.* llamadas de otros grupos de la misma localidad o de grupos de otras poblaciones (Cortopassi y Bradbury 2006), tanto en localidades insulares como continentales. Igualmente, deberían realizarse experimentos de playback en los que se utilicen llamadas modificadas artificialmente (p. ej. alterando las duraciones de las sílabas, o el intervalo de frecuencias) o procedentes de poblaciones con rasgos característicos bien diferenciados con el fin de poder identificar cuáles elementos de la llamada están determinando realmente la respuesta diferencial de los pericos silvestres (p. ej. Doutrelant *et al.* 2000, Doutrelant y Lambrechts 2001). Este tipo de estudios permitiría incrementar el conocimiento sobre los mecanismos de reconocimiento de grupos e individuos dentro de esta especie (p. ej. Wright 1996, Cortopassi y Bradbury 2006). Finalmente, con el fin de discriminar entre las presiones sociales y ambientales en

la variación de las vocalizaciones, será necesario implementar experimentos de campo y estudios comparativos con el fin de evaluar si la transmisión y degradación de las llamadas de contacto en los diferentes ambientes insulares y continentales podrían explicar el patrón geográfico observado (Morton 1975, Seddon 2005).

Capítulo 4 : Saqueo de nidos en las poblaciones insulares de *Aratinga pertinax* en Venezuela

4.1.-Introducción

En Venezuela existen siete subespecies del perico cara sucia (*Aratinga pertinax*), dos de ellas, *A. p. tortuguensis* y *A. p. margaritensis*, endémicas de islas (Hilty 2003). A pesar de que siguen siendo los psitácidos más abundantes en ambas localidades, se ha postulado que las poblaciones de estas razas están disminuyendo debido a la captura de pichones para el comercio, la depredación de los nidos por otros animales y la pérdida de su hábitat (Desenne y Strahl 1994). Estas mismas amenazas, particularmente el saqueo de nidos, constituyen los principales factores que afectan el éxito reproductivo de los pericos cara sucia en una localidad continental venezolana (Albornoz y Fernández-Badillo 1994a). El saqueo y comercialización de pichones es común a muchas especies de psitácidos silvestres, y suele ser resultado de su atractivo como mascotas, la deficiente aplicación de las leyes existentes, los grandes márgenes de ganancia que obtienen los saqueadores en el mercado ilegal y la necesidad de buscar fuentes de ingreso alternativas en las comunidades rurales (Thomsen y Mulliken 1992, Rodríguez 2000, Snyder *et al.* 2000, Wright *et al.* 2001).

Estudios de Análisis de Viabilidad Poblacional (AVP) de las otras poblaciones de psitácidos insulares de Venezuela, *Amazona barbadensis* y *Aratinga acuticaudata neoxena*, encontraron que la supervivencia de estas especies estaba seriamente amenazada como consecuencia del saqueo de nidos (Rodríguez y Rojas-Suárez 1994). Esto se debe, entre otras razones, a que la extracción intensiva de pichones afecta significativamente la estructura etaria de una población, resultando en una mayor proporción de individuos adultos y muy pocos individuos juveniles o adultos jóvenes reproductivos, lo que deteriora el potencial reproductivo de la población (Rodríguez y Rojas-Suárez 1994, Rojas-Suárez 1994b). Aunque es poco lo que se conoce sobre la longevidad de los psitácidos en la vida silvestre, los registros de aves en cautiverio sugieren que éstas se

caracterizan por una prolongada esperanza de vida en relación a su tamaño corporal (Forshaw 1989). En consecuencia, a pesar de que el saqueo y depredación de pichones resulten en que sólo un pequeño número de juveniles se incorporen a la población cada año, es muy probable que la mayor parte de los adultos sobreviva, por lo que el tamaño total de la población no cambiará mucho, dando la impresión de presentar un patrón de abundancia poblacional sano y estable. Sin embargo, a pesar de que el número total de individuos puede no estar cambiando, la edad promedio de la población aumentará paulatinamente, por lo que cada vez será mayor la proporción de individuos “viejos”. Si esta situación continúa por muchos años, el tamaño poblacional podrá colapsar abruptamente una vez que la mayoría de los adultos comiencen a morir aproximadamente al mismo tiempo, sin que su lugar haya sido ocupado por juveniles.

Dado que se espera que las especies de psitácidos de menor tamaño corporal vivan menos que las especies de mayor tamaño (Munshi-South y Wilkinson 2006), es de suponer que sus poblaciones podrán sostener un saqueo intensivo por un período de tiempo menor al que resistirían las especies de mayor tamaño antes de que ocurra un colapso de la población (Rodríguez *et al.* 2004). Por lo tanto, puede presumirse que los individuos insulares de *Aratinga pertinax* resultarían tanto o más susceptibles a la amenaza impuesta por el saqueo que las otras poblaciones de psitácidos de mayor tamaño.

Dada la posible importancia de las razas endémicas de islas como unidades de conservación, y su mayor susceptibilidad de extinción, nos propusimos evaluar de forma preliminar el estatus poblacional de las subespecies insulares del perico cara sucia en Venezuela, *A. p. margaritensis* y *A. p. tortuguensis*, y el nivel de amenaza que representa el saqueo de nidos para estas poblaciones. Dicha evaluación incluyó la caracterización de los sitios de anidación y dormidero en las islas de Margarita y La Tortuga, así como la estimación preliminar del tamaño poblacional y las tasas de saqueo durante la temporada reproductiva del 2004. Este tipo de información resultará esencial para la implementación de medidas de conservación o actividades de manejo subsiguientes, al permitir identificar áreas o hábitats esenciales para la sobrevivencia de la especie en las islas, en los cuales podrían implementarse programas de monitoreo o

protección de nidadas. Igualmente, un mayor conocimiento sobre la historia de vida de la especie contribuirá a diseñar campañas educativas dirigidas a los pescadores y turistas que visitan las islas, con el fin de promover la valoración de la especie (Rodríguez y Rojas-Suárez 1994, 1999).

4.1.1.- Aspectos básicos de los sitios de anidación y de dormitorio del perico cara sucia

Los pericos cara sucia usualmente anidan en cavidades excavadas en termiteros arbóreos, aunque también pueden utilizar huecos de árboles, troncos de palmas caídas, cavernas naturales o cavidades en los bancos de tierra, donde la hembra coloca de cuatro a siete huevos (Forshaw 1989, Albornoz y Fernández-Badillo 1994a). Los termiteros utilizados como nidos a menudo se encuentran en áreas abiertas, bordeando los caminos y cauces de ríos o quebradas, y según los resultados de estudios previos existen ciertas limitaciones para que un termitero pueda ser utilizado por los pericos como nido (Albornoz y Fernández-Badillo 1994a). Por ejemplo, deben contar con colonias de termitas activas y presentar un diámetro y altura adecuados para la construcción de la cavidad de anidación, cuya entrada es excavada por la pareja reproductiva desde la base del termitero hacia arriba. Algunos de los residentes de la península de Macanao, isla de Margarita, y reportes previos (Yépez-Tamayo 1963, Rojas-Suárez 1994b) indican que los pericos cara sucia de esta localidad también anidan en los manglares del Parque Nacional Laguna de La Restinga, lo que los convertiría, junto con *A. acuticaudata neoxena* (Rojas-Suárez 1994b), en los únicos pericos conocidos que utilizan esta vegetación para anidar.

Durante el día, los pericos cara sucia generalmente se desplazan en parejas o pequeños grupos, alimentándose de frutas, flores, nueces y semillas de una variedad de plantas (Forshaw 1989, Silvius 1995). Son aves muy vocales, y al caer la tarde vocalizan continuamente mientras se desplazan hacia los sitios de dormitorio comunales (Forshaw 1989, Harms y Eberhard 2003). Estos son las áreas donde la mayoría de los pericos que no se encuentran incubando se agrupan para dormir, formando agregaciones de decenas y hasta cientos de individuos (Juniper y Parr 1998, Bradbury 2003). En algunas especies de psitácidos, estos sitios ocupan localidades permanentes (p. ej., *Amazona*

auropalliata, Wright 1996), mientras que en otras el sitio de dormitorio cambia frecuentemente, incluso cada noche (Bradbury 2003, Harms y Eberhard 2003). Estudios previos indican que en algunas poblaciones insulares de *Aratinga pertinax*, la frecuencia de cambio de los dormitorios es de una a dos semanas (Harms y Eberhard 2003). Probablemente, la agrupación nocturna de grandes números de individuos en un mismo sitio ofrezca beneficios en cuanto a reducir el riesgo de depredación, permitir el intercambio de información sobre sitios de alimentación entre individuos, establecer nexos entre posibles parejas, entre otros (Harms y Eberhard 2003, Munshi-South y Wilkinson 2006).

4.2.- Métodos

El estudio se llevó a cabo en el lado oriental de la isla La Tortuga (5-10 marzo 2004, Figura 4.1A) y en la península de Macanao de la isla de Margarita (21 de junio-01 de julio 2004, Figura 4.1B). Reportes previos indicaban que la época reproductiva de *A. pertinax* suele comenzar en las islas del Caribe entre febrero y abril, dependiendo de las lluvias (Forshaw 1989, Harms y Eberhard 2003). En la isla de Margarita, la evaluación en campo coincidió con el final de la temporada de anidación de *A. pertinax margaritensis*. En cambio, para el momento en que se realizó la salida de campo a la isla La Tortuga, los pericos cara sucia aun no habían empezado a anidar. Entrevistas informales a pescadores semi-residentes indicaron que en esta isla la temporada reproductiva usualmente comienza en abril, con el pico de actividad entre mayo y junio.

4.2.1.- Áreas de estudio

La isla de Margarita se ubica a 38 km al norte de la costa venezolana, frente a la península de Araya. Es la mayor de las islas del país, con 934 km² de superficie. Está dividida en dos secciones, conectadas por La Restinga, un estrecho banco arenoso. Investigaciones previas encontraron que en el 2001 la distribución de *A. p. margaritensis* parecía estar restringida a la península de Macanao (sección occidental), mientras que en la porción oriental de la isla, mucho más urbanizada, los pericos eran escasos o

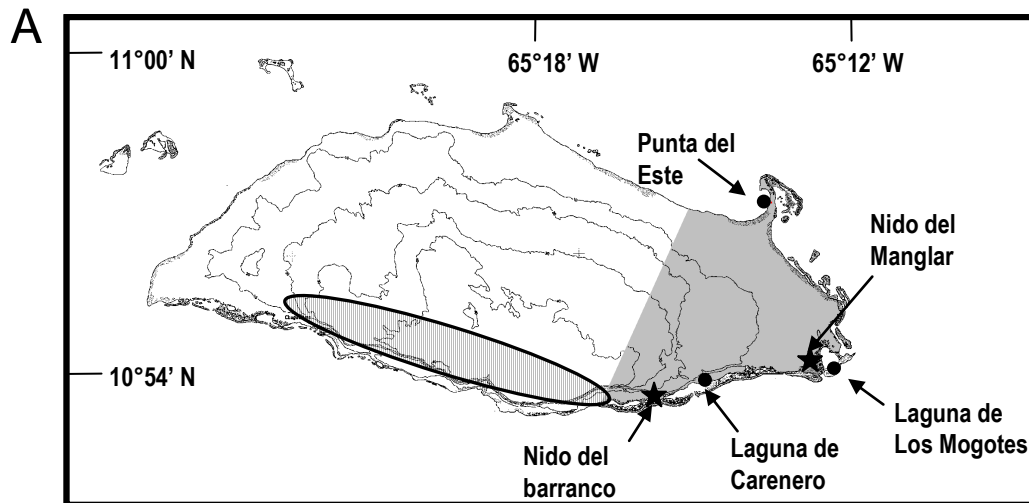
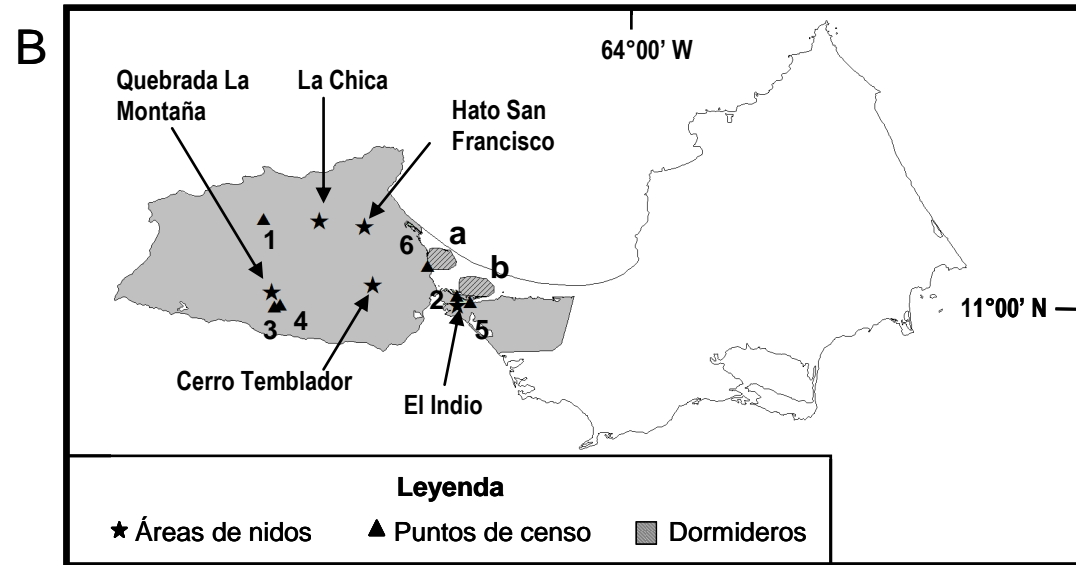
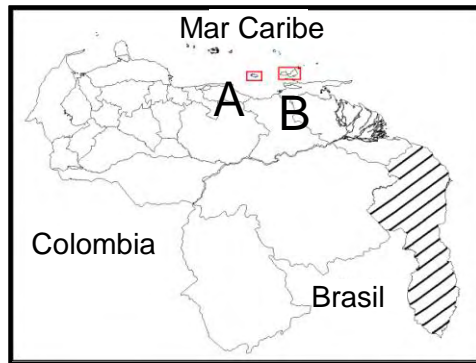


Figura 4.1.- Ubicación relativa de las zonas de estudio (área sombreada de gris) y de las localidades donde fueron encontrados nidos de pericos cara sucia (estrellas) en: A) Isla La Tortuga (las líneas verticales corresponden al área donde sospechamos existen sitios de anidación adicionales), y B) Isla de Margarita. Puntos de censo: 1) San Francisco, 2) Manglar Este 1, 3) Chacaracual 1, 4) Chacaracual 2, 5) Manglar Este 2, 6) Boca de Pasadero. Dormideros: a) Boca de Pasadero, b) Tetras de María Guevara.

estaban ausentes (Harms y Eberhard 2003). Debido a esto, para este estudio restringimos nuestras actividades a la península de Macanao, la cual es la porción más árida de la isla, donde predominan los cardonales y arbustales espinosos (Hoyos 1985). A pesar de contar con reportes previos de nidos de pericos en los manglares de la Laguna de La Restinga, las dificultades logísticas de acceder a esta zona hicieron imposible incluir su evaluación en este estudio

Por otra parte, la isla La Tortuga, está localizada 120 km al oeste de la isla de Margarita y a 85 km al norte del estado Anzoátegui. Con una extensión de 156 km², constituye la segunda isla más grande de Venezuela. Su paisaje es predominantemente plano y árido. Observaciones previas indicaban que en esta isla los pericos eran más frecuentes en la porción occidental, donde la vegetación es más abundante (Rodríguez y Rojas-Suárez 1999). Sin embargo, debido a restricciones impuestas por la autoridad competente y a las dificultades logísticas para desplazarse dentro de la isla, para esta evaluación preliminar del estatus de la población sólo exploramos la sección oriental de la isla (Figura 4.1A).

4.2.2.- Caracterización de nidos y tasas de saqueo

Con el fin de caracterizar los sitios de anidación, realizamos recorridos diarios en las zonas donde se observaron pericos, o siguiendo las recomendaciones de los residentes de la localidad. Aplicando una metodología similar a la empleada para caracterizar los nidos de *Amazona barbadensis* en la isla de Margarita (Rodríguez-Ferraro y Sanz 1996), para cada nido activo o termitero con potencial de ser usado como nido de pericos, según la apreciación cualitativa de su tamaño, ubicación y características físicas, registramos información con respecto a:

- a) **localización** (coordenadas geográficas del sitio)
- b) **tipo de nido** (termitero, hueco en árbol, cavidad en banco de tierra)
- c) **accesibilidad a saqueadores humanos** (cada termitero fue asignado a uno de tres niveles: 1) *accesible*, 2) *moderadamente accesible* o 3) *difícil acceso*. Los criterios

para asignar el nivel de accesibilidad estuvieron basados en la proximidad de los termiteros a senderos o caminos, su altura, la presencia de vegetación espinosa en los alrededores, o cualquier otro aspecto que podría limitar la habilidad de las personas de saquear una cavidad de anidación ubicada dentro del termitero)

- d) **estado del termitero** (vivo o muerto)
- e) **estado del nido** (*activo intacto*: nido en buen estado, con huevos o pichones, se vieron pericos saliendo de la cavidad o tenía una cavidad de anidación completa excavada ese año según evidenciado por la presencia de broza fresca en la base del árbol dentro de la cual se encontraron plumas o cáscaras recientes; *activo y saqueado*: nido con evidencias de actividad reproductiva ese año, que mostraba señales recientes de saqueo como huecos excavados en la parte superior del termitero cubiertos por broza fresca; *activo y depredado*: nido con evidencias de actividad reproductiva ese año, que mostraba señales de depredación por otros animales; *inactivo intacto*: termitero que no mostraba señales de actividad reproductiva ese año, pero que podría ser utilizado como nido en el futuro de acuerdo a la apreciación cualitativa de su tamaño, ubicación y ausencia de interferencias para la excavación de un nido; *inactivo dañado*: termitero que no mostraba señales de actividad reproductiva ese año y que por presentar daños severos o interferencias de ramas presumiblemente tampoco podría ser usado como nido en el futuro)
- f) **evidencias de saqueo** (rastros de bicicleta, huellas, huecos en los termiteros, presencia de botellas o latas de comida viejas. Se registraron en todos los casos que fueron observadas, incluyendo aquellos nidos que presentaban evidencia de haber sido utilizados en años anteriores pero no en el 2004)

Cuando fue posible, también registramos información sobre el uso de los termiteros como nidos de pericos en temporadas reproductivas anteriores, según las evidencias físicas (restos de cáscaras de huevos o plumas muy deterioradas, o la presencia de broza seca bajo las cavidades de anidación) u observaciones del personal de campo de PROVITA.

En la isla de Margarita se inspeccionaron cinco localidades principales donde se sabía anidaban los pericos (Figura 4.1B), dedicando un esfuerzo de muestreo total en la península de Macanao de 72,5 horas-hombre. En la isla La Tortuga se carecía de información previa sobre la posible ubicación de los nidos de pericos, por lo que se realizaron recorridos a través de la porción oriental de la isla (Figura 4.1A), dedicando un esfuerzo de muestro total de 84 horas-hombre.

4.2.3.- Ubicación de dormideros y censo poblacional

Con el fin de localizar los dormideros utilizados por los pericos en junio del 2004 en la isla de Margarita, se utilizaron un total de seis puntos de observación (Figura 4.1B). Estos estaban localizados cerca de los cuatro dormideros identificados en el 2001 (Harms y Eberhard 2003) o cerca de los demás sitios considerados como posibles dormideros según la información suplementada por los residentes de la isla así como por las observaciones de investigadores que se encontraban trabajando con las otras especies de psitácidos. Los puntos de observación fueron visitados una sola vez, dedicando en cada uno de ellos un esfuerzo de muestreo de 9 horas-hombre. Durante las visitas, se registraron las rutas de vuelo y dirección de los pericos, así como la información sobre los tamaños de todos los grupos que fueron avistados dirigiéndose hacia los dormideros durante las últimas horas de la tarde y comienzos de la noche.

Debido a que se carecía de información reciente sobre la ubicación de los dormideros en la isla y por limitaciones logísticas, las observaciones se realizaron todas en fechas diferentes, lo que hizo imposible efectuar el censo simultáneo de todos los dormideros. Este es un método establecido y usualmente utilizado para estimar las poblaciones de las otras especies de psitácidos en la isla de Margarita (Rodríguez-Ferraro y Sanz 1996) que proporciona valores más precisos del tamaño poblacional al reducir la probabilidad de conteos dobles de individuos.

Se realizaron conteos del tamaño de los grupos de pericos avistados desde todos los puntos de observación, pero para la estimación del tamaño poblacional sólo se incluyeron los datos de los tres puntos cercanos a los dormideros ubicados. Esto se debe a que desde el resto de los puntos no era posible determinar dónde se estaban posando

los pericos, y por lo tanto su inclusión en el estimado poblacional podría resultar en una sobreestimación por conteos dobles. De esta forma, los puntos de muestreo incluidos en el censo fueron: “Manglar Este 1”, “Manglar Este 2” y “Boca del Pasadero”, todos ellos localizados a lo largo del borde de los manglares de la Laguna de La Restinga (Figura 4.1B). A partir de estos datos, se obtuvo un estimado preliminar del tamaño poblacional de los pericos como la suma del número máximo de pericos observado en cada uno de estos tres sitios de observación.

En la isla La Tortuga, debido a limitaciones de transporte y a las dificultades impuestas por el terreno de la isla, no fue posible llevar a cabo el censo poblacional; sólo se ubicaron y caracterizaron los nidos.

4.3.- Resultados y discusión

4.3.1.- *Aratinga pertinax margaritensis*

Caracterización de nidos y tasa de saqueo. En la península de Macanao, todos los nidos de pericos localizados se encontraban en termiteros arbóreos. Del total de 81 termiteros evaluados, la mayor parte (80%) no mostraba señales de haber sido utilizados como nidos de pericos durante la temporada reproductiva del 2004, a pesar de que 55 de ellos presumiblemente tenían el potencial de serlo, ya que sus dimensiones parecían adecuadas y no presentaban daños severos.

Sólo 16 nidos mostraron señales de actividad reproductiva en el 2004 (primeras tres columnas, Figura 4.2). En la mayoría de estos nidos, los pichones ya habían abandonado los nidos, aunque se encontraron algunos que estaban ocupados por la pareja reproductiva. Incluso en los casos en que la actividad del nido no podía ser directamente determinada por la observación de huevos o pichones, ésta pudo ser inferida indirectamente por la presencia de plumas o cáscaras de huevos recientes. Adicionalmente, se encontraron indicios de la existencia de otros nueve nidos de pericos en termiteros, que habrían sido utilizados en temporadas anteriores pero no en el 2004

(según evidenciado por la presencia de plumas viejas o cáscaras, o de observaciones previas del personal de campo). Esto significa que de los 55 termiteros con potencial de nido que fueron inspeccionados, 25 (45%) mostraron signos de haber sido usados como nidos de *A. pertinax* en algún momento. De ellos, 15 (60% de los usados) mostraban señales de saqueo, y nueve de ellos en el 2004. Esta última observación del saqueo en nueve de los 16 nidos activos en el 2004 implica una tasa de por lo menos 56% durante esa temporada reproductiva. El único nido que logramos encontrar en el 2004 con crías en cualquier etapa de desarrollo (tres huevos), ya había sido inspeccionado por saqueadores (Figura 4.3A), quienes presumiblemente esperarían hasta que los huevos eclosionaran para llevarse los pichones.

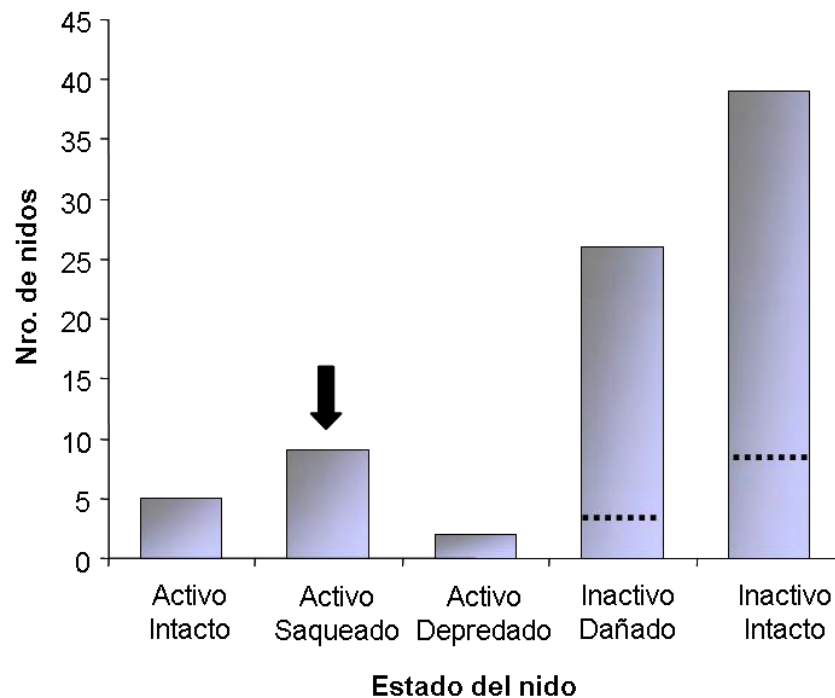


Figura 4.2.- Estado de los nidos de *Aratinga pertinax* en la península de Macanao en el mes de junio del 2004. Las líneas punteadas indican el número de nidos activos en años anteriores, pero no en el 2004, mientras que la flecha señala los nidos activos ese año para los cuales se encontraron evidencias de saqueo. Los termiteros que mostraron actividad reproductiva fueron subdivididos en categorías adicionales con el fin de caracterizar más detalladamente el estatus de cada nido. Ver texto para una descripción detallada de cada categoría.

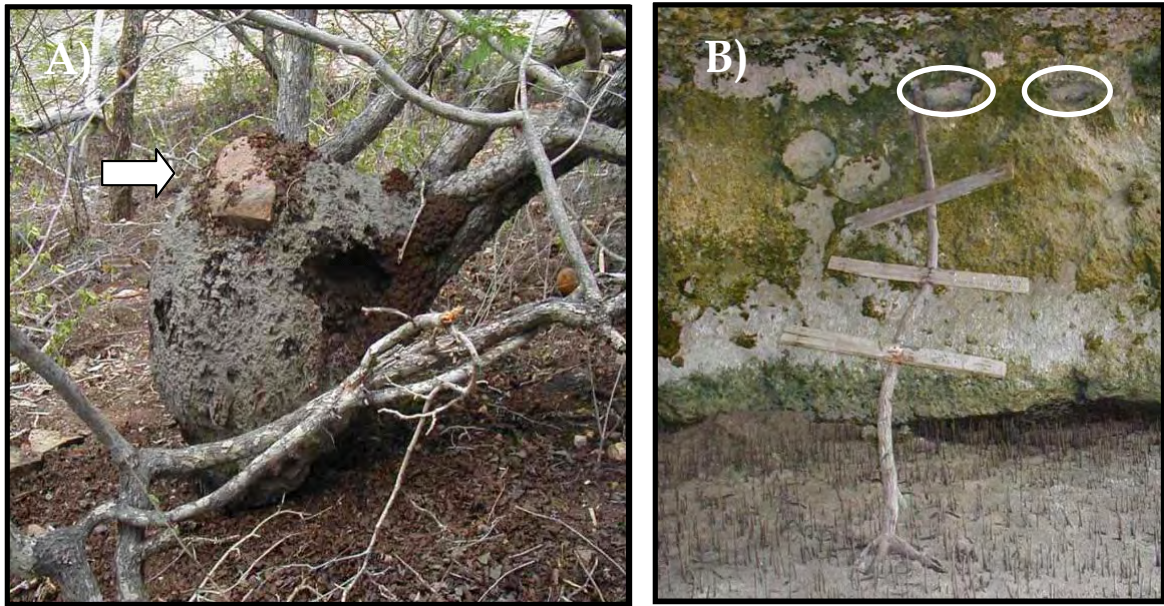


Figura 4.3.- Evidencias de saqueo de nidos de *Aratinga pertinax* en las islas de Margarita y La Tortuga. A) Nido en termitero de la isla de Margarita; se observa un hueco abierto por los saqueadores encima de la cavidad de anidación. Al taponarlo con una roca (indicada con la flecha), evitan que la pareja reproductiva abandone el nido. B) Escalera artesanal debajo de los nidos del barranco, isla La Tortuga (señalados con las elipses).

Por otra parte, a pesar de que una cavidad de anidación puede ser reutilizada en la siguiente temporada reproductiva (Albornoz y Fernández-Badillo 1994a), nuestras observaciones indican que una gran porción de los termiteros arbóreos con dimensiones adecuadas estaban dañados (32%) y no podían ser usados como nidos. Estos daños tenían tanto causas naturales, como la caída de ramas, y causas humanas, como las originadas por los saqueadores. Según los pobladores de la localidad, los saqueadores experimentados de la isla de Margarita típicamente sólo abren un pequeño hueco en el termitero, ubicado directamente sobre la cavidad de anidación excavada por los pericos, para verificar la presencia de huevos o pichones (P. Millán. com. pers.). Sin embargo, observamos que en muchos casos no fueron tomadas estas precauciones, y en su lugar fueron destruidos lados completos del termitero. Si esta destrucción ocurre en termiteros con una colonia activa, los insectos usualmente reparan el daño (obs. pers.). Sin embargo, cuando la destrucción es muy grande, o el termitero no posee una colonia

activa, el daño no puede ser reparado y el termitero no resultará utilizable como nido. En vista de que existen otras limitaciones para que los termiteros sean usados por los pericos (altura, presencia de ramas que interfieran con la construcción de la cavidad de anidación, entre otros), estos podrían llegar a convertirse en un recurso limitante en el futuro si los actuales patrones de deforestación y destrucción de termiteros continúan (Albornoz y Fernández-Badillo 1994a, obs. pers.).

Adicionalmente a la evaluación directa de los nidos, entrevistas informales sostenidas con lugareños también indicaron que el saqueo de nidos de *A. p. margaritensis* era muy común en el área, y puede ser llevado a cabo por varios miembros de una familia, incluyendo a los más jóvenes. Esto coincide con observaciones en otras especies que indican que el número de saqueadores de psitácidos en la isla ha aumentado mientras que su edad promedio ha bajado (Rodríguez *et al.* 2006). A pesar de que el perico cara sucia es en general considerado menos atractivo que los otros psitácidos de la isla (*Amazona barbadensis* y *Aratinga acuticaudata*), es buscado con frecuencia como mascota por los residentes locales y los turistas. Según algunos lugareños, en junio-julio de 2004 los pichones jóvenes se vendían en Bs. 15.000 c/u (aprox. US\$ 7, o el equivalente al pago diario promedio del salario mínimo), mientras que un adulto saludable podía alcanzar incluso más del doble de ese precio. No obstante, estos precios son inferiores a los de la mayoría de los otros psitácidos silvestres comercializados en el país (Albornoz y Fernández-Badillo 1994b; P. Millán com. pers.), probablemente debido al menor atractivo de los pericos y a su mayor abundancia y accesibilidad.

Sitios de dormitorio y censo poblacional. De los cuatro dormitorios de *Aratinga pertinax* ubicados en la península de Macanao en el 2001 (Harms y Eberhard 2003), sólo dos estaban activos para el momento del censo. Ambos estaban localizados dentro del Parque Nacional Laguna de la Restinga, uno en los manglares de Boca del Pasadero (lado oeste del parque) y el otro en los manglares al norte de las Tetas de María Guevara (lado este, Figura 4.1 B). Los otros dos dormitorios activos en el 2001 (en el valle del Río Muco y en el pueblo de San Francisco de Macanao; Harms y Eberhard 2003) no mostraron evidencias de actividad en el 2004, aun cuando los pobladores de la isla afirman que estos dormitorios son utilizados estacionalmente. Tampoco se encontraron

evidencias de la presencia de otros dormideros dentro de la península durante esa temporada, aunque es posible que algunos dormideros pequeños pudieran haber pasado desapercibidos debido a un muestreo insuficiente. De hecho, otros investigadores señalan la existencia de al menos un dormidero de pericos adicional en la península de Macanao, ubicado en la Quebrada La Vieja, el cual probablemente sea de uso estacional (V. Sanz, com. pers.).

Dados estos resultados, cabe destacar la importancia de la Laguna de la Restinga como sitio de dormidero de *A. pertinax*. Al ser el único sitio que mostró signos de actividad consistente en las investigaciones realizadas (Harms y Eberhard 2003, este estudio) y según las observaciones de otros investigadores (Yépez-Tamayo 1963) y de los residentes de la isla, es probable que los manglares de este parque nacional constituyan el único sitio de dormidero de uso permanente en la isla de Margarita.

Las observaciones de las rutas de vuelo realizadas desde diferentes puntos de la península, así como la hora tardía en que la mayoría de las aves fue avistada (probablemente por tener que recorrer largas distancias), sugiere que los pericos que se estaban alimentando en el lado oeste de la península de Macanao utilizaban el dormidero de Boca del Pasadero en junio del 2004. En cambio, los pericos que usualmente se alimentaban en el lado este del parque parecían estar usando los manglares orientales al norte de las Tetas de María Guevara como sitio de dormidero. Debido a que en ambos sitios se observó que la mayoría de los pericos permanecían en el mismo lugar después de llegar y después del atardecer, los conteos de tamaños de grupos de cada uno fueron considerados como datos independientes para el censo (Tabla 4.1), aunque siempre existe la posibilidad de que ocurran dobles conteos en casos aislados.

Tabla 4.1.- Resumen del número de pericos cara sucia que fueron observados volando desde los distintos puntos de observación de la península de Macanao, isla de Margarita, en junio del 2004. Los asteriscos indican los puntos cercanos a los dormideros, utilizados en las estimaciones de tamaño poblacional.

Fecha	Localidad	$N_{volando}$
06/22/2004	San Francisco	29
06/23/2004	Manglar Este 1*	251
06/24/2004	Chacaracual 1	96
06/25/2004	Chacaracual 2	39
06/26/2004	Manglar Este 2*	112
06/27/2004	Boca de Pasadero *	1.733

En consecuencia, podemos inferir que para junio del 2004 la población de pericos cara sucia de la isla de Margarita tenía un tamaño poblacional mínimo de 1.984 individuos. Aunque a partir de nuestros resultados no es posible obtener un estimado preciso del tamaño poblacional real de los pericos en la isla, sí podemos hacer inferencias sobre el valor máximo del mismo, haciendo extrapolaciones que consideren las principales limitaciones de las observaciones (de forma similar a las empleadas para inferir el número de especies existentes, p. ej. May 1990). Así, teniendo en consideración que los métodos de censo empleados presentan la limitación de que no consideran aquellos individuos que por alguna razón no estaban utilizando los dormideros comunales encontrados, ya sea porque estaban usando otros dormideros estacionales dentro de la península de Macanao que no pudimos ubicar (tendrían que haber sido mucho más pequeños que el dormidero de La Restinga) o porque eran miembros de parejas reproductivas que todavía estaban incubando o pichones que no habían abandonado el nido (aunque no se espera que ninguno de estos dos números hayan sido significativos, dadas nuestras observaciones de los nidos) creemos que el tamaño poblacional real de *A. p. margaritensis* debe ser como máximo dos o tres veces mayor al

número mínimo de pericos calculado (es decir, de 4.000-6.000 pericos). Sólo mediante la implementación de censos más rigurosos en el futuro podrá ponerse a prueba la validez de esta inferencia. Un hecho interesante es que a pesar de las limitaciones de nuestra evaluación, el número de pericos que contamos es mayor que el tamaño poblacional total de la cotorra Margariteña (*Amazona barbadensis*), estimado a partir de conteos simultáneos llevados a cabo por un gran número de voluntarios (Rodríguez 2003), lo cual confirma que los pericos siguen siendo los psitácidos más abundantes de esta isla.

Finalmente, cabe destacar que todas menos una de las nueve personas residentes de las islas que fueron entrevistadas declararon que han notado una reducción en el número de pericos en la isla de Margarita, en comparación con hace 10-20 años. Estas aseveraciones no pueden ser confirmadas, desafortunadamente, debido a que no existen registros históricos. Sin embargo, esperamos que los resultados presentados en este estudio provean una base para la comparación con evaluaciones futuras.

4.3.2.- *Aratinga pertinax tortuguensis*

Caracterización de nidos y tasa de saqueo. A pesar de que para el momento en que se realizó la salida de campo a la isla La Tortuga, los pericos cara sucia aun no habían empezado a anidar, en nuestros recorridos localizamos dos áreas de anidación utilizadas en años anteriores por los pericos de la isla (evidenciado por la presencia de cáscaras de huevos y plumas viejas). En la primera, ubicada en los manglares de la costa de la “Laguna de los Mogotes,” se observaron al menos tres troncos de árboles vivos con cavidades utilizada como nidos. En la segunda, ubicada debajo de la cornisa sobresaliente de un barranco coralino cerca de la “Laguna de Carenero” (Figura 4.1A), se detectaron tres nidos excavados en las paredes y cornisa del barranco (Figura 4.3B). En ambas localidades se observaron evidencias de saqueo (iniciales grabadas en los árboles con nidos, escalera artesanal ubicada bajo los nidos; Figura 4.3B). No se encontraron termiteros arbóreos en esta isla.

A pesar de los pocos nidos evaluados, las evidencias de saqueo encontradas, así como los comentarios de los pescadores entrevistados indican que el saqueo parece

estar ampliamente distribuido en la isla. Esto no es sorprendente ya que en La Blanquilla, los pescadores toman hasta el 100% de los pichones de cotorra cabeciamarilla (*Amazona barbadensis*), a pesar de ser una base naval de acceso restringido (Rojas-Suárez 1994a).

Los sitios de anidación que encontramos en La Tortuga eran de relativo fácil acceso debido a su cercanía a la costa. Dadas las características de los nidos encontrados, del hecho de que en la isla no existen termiteros, así como de los comentarios de los residentes, creemos que existe una mayor densidad de nidos en los manglares de la costa sur-oeste de la isla (Figura 4.1A). De ser este el caso, lo más probable es que estos otros nidos “manglareños” también estén sujetos a altas tasas de saqueo, debido a su ubicación costera. En consecuencia, sospechamos que la tasa de saqueo en La Tortuga es muy elevada, al igual que en Margarita.

Sitios de dormitorio y estatus de la población. Todos los pericos observados en la Tortuga estaban restringidos a la porción sur y media del área de estudio (Figura 4.1A). Esta era un área muy seca y abierta, con poca vegetación espinosa y arbustiva. Se observó que en el lado nor-este de la isla la vegetación era mucho más escasa y ningún perico fue avistado en esa zona.

En el lado sur-este de la isla, los pericos se encontraban muy dispersos, y fueron observados principalmente mientras se alimentaban. No se encontraron grupos de más de ocho individuos juntos (aunque sí se observaban varias parejas o grupos de pocos individuos comiendo cerca los unos de los otros), ni se localizaron dormitorios. Dadas las características de la vegetación de la isla, así como las observaciones realizadas en Margarita, sospechamos que en La Tortuga los dormitorios podrían estar localizados hacia el oeste de nuestra área de estudio, particularmente en el lado sur de la isla, donde los manglares abundan a lo largo de la línea de la costa (Figura 4.1A).

Durante nuestra visita los pescadores locales entrevistados todavía consideraban a los pericos como “abundantes”, a pesar de que indicaron que en el pasado se observaban grupos de mayor tamaño y con mayor frecuencia. Nuestro trabajo confirma que la porción este de la isla tiene una población de pericos insignificante, de modo que

si realmente existen grandes números de *A. p. tortuguensis*, deben estar en el lado oeste de la isla.

Aunque Desenne y Strahl (1994) sugieren considerar a *A. p. tortuguensis* bajo la categoría “En Peligro,” actualmente este taxón está incluido en el Libro Rojo de la Fauna Venezolana como probablemente amenazado bajo la categoría de “Insuficientemente conocido;” es decir, se requiere más información para clarificar su verdadero status (Rodríguez y Rojas-Suárez 1999). A pesar de que nuestra investigación constituye sólo un estudio preliminar, el bajo número de pericos observado en el área de estudio y las evidencias de saqueo de pichones encontradas en los únicos sitios de anidación localizados indican que será importante en el futuro realizar una investigación más rigurosa del estatus de conservación de esta subespecie. Particularmente, en vista de que el estudio filogenético de *Aratinga pertinax* sugiere que la subespecie de pericos de la isla La Tortuga se diferencia genéticamente de la presente en la isla de Margarita y las Antillas Holandesas (Capítulo 2), esta podría demostrar ser una unidad de conservación importante en el futuro.

4.3.3.- Implicaciones de conservación

A pesar de que no existe duda de que *Aratinga pertinax margaritensis* continua siendo el perico más abundante en la isla de Margarita, la evidencia sugiere que la tasa de saqueo en esta isla es muy alta en la actualidad (mayor al 50%), por lo que podría llegar a convertirse en una seria amenaza para la supervivencia de esta población, tal como ha ocurrido con las otras especies de psitácidos de la isla (Rodríguez y Rojas-Suárez 1994). Esto es particularmente preocupante dada la marcada diferenciación vocal de esta población con respecto al resto de las poblaciones de pericos cara sucia (Capítulo 3), lo que incrementa la importancia de preservar esta subespecie. Por lo tanto, en el futuro cercano, investigaciones adicionales sobre el tamaño poblacional de estas aves, su éxito reproductivo y tasa de supervivencia de las nidadas deberán ser implementadas de forma más rigurosa y a lo largo de varias temporadas reproductivas. Sólo así podrá distinguirse efectivamente si existe una tendencia hacia la disminución de la población como consecuencia de las actividades humanas y por lo tanto, esclarecer el estatus de

conservación de esta subespecie (Primack *et al.* 2001, Wiley *et al.* 2004). Para ello, se recomienda realizar censos simultáneos al principio, mediados y finales de la época reproductiva de los pericos en los distintos dormideros de la península de Macanao. Esta metodología permitirá no sólo obtener estimados más precisos y exactos que los obtenidos en el presente estudio, sino que también permitirá estimar el número de juveniles que se están incorporando a la población cada temporada (Rodríguez 2003), y por lo tanto inferir el futuro de la población mediante análisis de viabilidad poblacional. Por otra parte, para incrementar la precisión de los estimados poblacionales obtenidos, será importante esclarecer los patrones de uso de los diferentes dormideros de pericos que han sido identificados por distintos investigadores y por los residentes de la isla. Así, aunque el dormidero de la Laguna de La Restinga parece ser de importancia esencial para esta especie, será necesario evaluar la importancia real de los dormideros del valle del Río Muco, el pueblo de San Francisco de Macanao y la Quebrada La Vieja, así como cualquier otro dormidero potencial que pudiera estar siendo utilizado por los pericos. Sólo así podrán identificarse puntos de observación adecuados desde los cuales llevar a cabo los censos simultáneos de pericos, así como potenciales áreas a conservar.

Adicionalmente, es importante realizar un muestreo más intensivo con el fin de identificar y caracterizar áreas de anidación adicionales en la península de Macanao (como la Laguna de La Restinga) y llevar a cabo investigaciones de seguimiento del desarrollo de las nidadas a lo largo de toda la temporada reproductiva. Esto permitirá no sólo obtener estimados adicionales de las tasas de saqueo, sino de las otras causas que están afectando el éxito reproductivo en ambas islas (como la depredación de nidos o enfermedades) y del éxito reproductivo de los pericos.

Por último, dada la importancia de la Laguna de la Restinga como sitio de dormidero y como probable sitio de anidación de los pericos, así como de otras especies endémicas y amenazadas de la isla (tales como el ñángaro, *Aratinga acuticaudata neoxena*; Rodríguez y Rojas-Suárez 1999) es necesario buscar medidas alternativas para asegurar la protección de las especies dentro este importante humedal. Hasta ahora, el hecho de estar bajo protección legal al constituir un Parque Nacional no ha contribuido a la conservación de su fauna, siendo evidente en algunos casos que la presión de lancheros

y turistas en el parque ha tenido más bien un efecto negativo que ha aumentado la presión sobre las aves de psitácidos que duermen o anidan en los manglares (Rojas-Suárez 1994b).

En el caso de *A. p. tortuguensis*, en vista del peligro de conservación que podría estar enfrentando este taxón según ha sido señalado por otros investigadores (Desenne y Strahl 1994) así como la posible amenaza representada por el saqueo que sugieren nuestros datos, resulta evidente que la recopilación de información precisa sobre la distribución, el tamaño poblacional real y las tasas de supervivencia de estos pericos es prioritaria. Esto es particularmente cierto dada la aparente diferenciación genética entre esta subespecie y la otra población insular endémica venezolana (Capítulo 2), lo que destaca su posible importancia como unidad de conservación. En base a nuestros resultados, dichos esfuerzos deberían estar enfocados en el futuro en la porción oeste y central de la isla. En concreto, es necesario comprobar si realmente la densidad de pericos es mayor en la porción oeste de la isla que en la zona este, y si los manglares ubicados al sur de la isla constituyen los principales sitios de anidación y dormitorio dentro de la isla y también están sujetos a altas tasas de saqueo.

Capítulo 5: Conclusiones y recomendaciones

Aunque en este estudio no fue posible dilucidar con precisión las relaciones históricas entre las subespecies del complejo de *Aratinga pertinax*, la filogenia molecular y el diagrama de haplotipos obtenidos sugieren varios resultados importantes. En primer lugar, las poblaciones de *A. pertinax* estudiadas forman un grupo monofilético, estrechamente relacionado a *A. aurea*, apoyando la robustez de la especie así como las clasificaciones morfológicas previas (Silveira *et al.* 2005). Además, la evidencia parece indicar que la baja divergencia genética encontrada para esta especie no es resultado de un constante flujo de individuos entre las poblaciones (ya sea natural o asistido por el tráfico de mascotas), sino más bien de un origen o diversificación reciente del grupo, probablemente durante el Plioceno tardío o Pleistoceno temprano (hace 2,4 - 1,6 m. a. según nuestro estimado). De la misma forma, los resultados indican que las poblaciones insulares no son recíprocamente monofiléticas, por lo que no constituirían los parientes más cercanos entre si. Esto a su vez sugieren que las poblaciones insulares tuvieron diferentes orígenes a partir de poblaciones fuente procedentes de la tierra firme suramericana, Esto concuerda con los patrones biogeográficos inferidos para otros grupos animales que también se distribuyen en las islas del Sur del Caribe (Yépez-Tamayo 1963). Para dilucidar con mayor precisión las relaciones históricas entre las poblaciones de pericos cara sucia será necesario llevar a cabo estudios adicionales de genética de poblaciones utilizando marcadores moleculares que evolucionen más rápidamente (como los microsatélites; MacDougall-Shackleton y MacDougall-Shackleton 2001, Wright *et al.* 2005). Adicionalmente, será necesario incrementar el número de muestras incluidas en los análisis genéticos, ampliando tanto el número de individuos muestreados por cada localidad al orden de 10-20 individuos, así como el número de poblaciones representadas para incluir localidades adicionales de la costa venezolana, y localidades de Centroamérica y el interior de Suramérica (lo que permitiría incluir el resto de las subespecies del complejo).

A pesar de la poca divergencia genética encontrada entre las diferentes poblaciones de *A. pertinax* muestreadas, se encontró que existe un patrón geográfico de variabilidad

de sus vocalizaciones. La primera sílaba de las llamadas de contacto de las poblaciones insulares resultó ser significativamente más variable en las islas que en el continente, confirmando el patrón reportado previamente por otros investigadores (Eberhard, datos sin publicar). Dados los resultados filogenéticos obtenidos en este estudio, concluimos que la hipótesis más probable sigue que este patrón esté relacionado con una reducción de la presión selectiva para el reconocimiento de grupos de una misma localidad en las islas, en las cuales, por constituir poblaciones cerradas, las probabilidades de encuentro con individuos procedentes de otras localidades es muy baja. En el futuro será necesario realizar nuevos experimentos de playback en distintas localidades, tanto insulares como continentales, así como experimentos de transmisión del sonido en los distintos hábitats presentes en las mismas, con el fin de poder comprobar estas hipótesis. También sería interesante estudiar otros grupos de psitácidos que se encuentran distribuidos en islas y tierra firme, con el fin de buscar una repetición de este patrón en otros sistemas biológicos. Por ejemplo, podrían realizarse estudios con *Aratinga acuticaudata*, representado por varias subespecies en Suramérica y una población insular amenazada en Margarita, así como con *Amazona barbadensis*, representado por una subespecie en la tierra firme continental venezolana y por otra en Bonaire y Margarita, esta última población amenazada de extinción (Forshaw 1989, Rodríguez y Rojas-Suárez 1999).

De confirmarse estos patrones en otras especies de psitácidos, este conocimiento podría resultar muy importante para la implementación de futuros proyectos de conservación, dadas las serias amenazas que enfrenta esta familia de aves en la actualidad a nivel mundial (Collar y Juniper 1992, Desenne y Strahl 1994, Snyder *et al.* 2000) y particularmente en regiones insulares (Wiley 1993, Wiley *et al.* 2004). Por ejemplo, si es cierto el papel de las presiones selectivas por el reconocimiento de individuos del mismo grupo en la variación de las llamadas de contacto de psitácidos, esto podría explicar en parte el gran éxito de los programas de cría en cautiverio y reintroducción de *Amazonas barbadensis* llevados a cabo por Provita durante la década de 1990 (Sanz y Grajal 1998). Según el protocolo empleado en este programa, los pichones de cotorra eran criados en jaulas de alambre ubicadas en las localidades de su eventual liberación, en las cuales podían mantener un constante contacto visual y vocal con

individuos silvestres de la localidad. Luego de su liberación, las cotorras criadas de esta forma se adaptaron exitosamente a la vida silvestre (Sanz y Grajal 1998); este constituye un logro único entre los programas de cría en cautiverio de psitácidos llevados a cabo hasta la fecha. Programas en los que los animales en cautiverio no han mantenido este tipo de estrecho contacto con individuos silvestres han resultado en reintroducciones mucho menos exitosas (p. ej. Snyder *et al.* 1994). Presumiblemente, esto podría deberse a que al crecer en contacto con individuos de la localidad, lo cual fue observado frecuentemente por los autores (Sanz y Grajal 1998), los pichones pudieron “aprender” a reconocer a los miembros de su vecindario así como información adicional sobre las interacciones sociales entre sus miembros y los patrones de movimiento de los grupos (p. ej. entre los sitios de alimentación y anidación), y así mejorar considerablemente su probabilidad de reintroducción exitosa. De ser este el caso, este tipo de protocolos de cría en cautiverio que consideran la importancia del contacto con animales silvestres resultaría aun más importantes para las poblaciones de psitácidos de tierra firme, donde según nuestros resultados la importancia de distinguir a los miembros de los grupos locales parece ser aun mayor. Por lo tanto, este tipo de protocolos deberían ser considerados como parte de algunos de los programas de manejo y conservación de psitácidos que se están desarrollando o serán desarrollados en el futuro (p. ej. *Rhynchopsitta pachyrhyncha*, Snyder *et al.* 1994; *Probosciger aterrimus*, Association of Zoos and Aquariums 2007; otros, Christian *et al.* 1996). Finalmente, estudios similares relacionados con otros tipos de vocalizaciones utilizadas frecuentemente dentro de las sociedades de fisión-fusión de los psitácidos, tales como las llamadas de alarma, podrían probar ser esenciales para la comprensión de las interacciones entre individuos de estas especies, así como del desarrollo exitoso de los programas de manejo y conservación de sus poblaciones silvestres.

La situación poblacional actual de las razas insulares del perico cara sucia resulta de particular interés no sólo desde el punto de vista de la conservación, sino de la biología general, dadas nuestras observaciones de diferenciación comportamental y genética con respecto a sus coespecíficos de tierra firme. A pesar de ser muy abundante en la actualidad en Venezuela, entrevistas con residentes de las zonas indican que las

poblaciones insulares de perico cara sucia parecen haberse reducido en las últimas dos décadas. Esta situación se ve agravada por los crecientes patrones de pérdida de hábitats y sitios de anidación (Desenne y Strahl 1994), y las altas tasas de saqueo de sus nidos que encontramos en el presente trabajo (Capítulo 4), las cuales estimamos sean de al menos el 50% para las islas venezolanas. Dada esta situación, en el futuro las subespecies insulares de *A. pertinax* podrían enfrentar una amenaza de extinción similar a la que enfrentan en la actualidad muchas otras especies de psitácidos a nivel mundial. Aunque nuestros resultados brindan una base al conocimiento del estatus de las poblaciones de las islas, en el futuro será importante llevar a cabo investigaciones adicionales sobre los tamaños poblacionales de estas subespecies, su éxito reproductivo y tasa de supervivencia a lo largo de varias temporadas reproductivas, tal como se viene haciendo desde hace varios años para las otras poblaciones de psitácidos de Margarita (Rodríguez 2003). Sólo con este tipo de información será posible detectar a tiempo una reducción marcada de la población y poner en práctica las medidas de protección necesarias (Wiley *et al.* 2004).

Referencias bibliográficas

- Albornoz, M. y A. Fernández-Badillo. 1994a. Aspectos de la biología del perico cara sucia, *Aratinga pertinax venezuelae* (Zimmer y Phelps 1951) (Aves: Psittacidae) en el valle del río Güey, Aragua, Venezuela. Pp. 43-55. En: G. Morales, I. Novo, D. Bigio, A. Luy y F. Rojas-Suárez (eds.). *Biología y conservación de los psitácidos de Venezuela*. Gráficas Giavimar, Venezuela.
- Albornoz, M. y A. Fernández-Badillo. 1994b. Impactos de algunas actividades humanas sobre el perico cara sucia, *Aratinga pertinax venezuelae* (Zimmer y Phelps 1951) (Aves: Psittacidae) en el Valle del Río Güey, estado Aragua. Pp. 219-230. En: G. Morales, I. Novo, D. Bigio, A. Luy y F. Rojas-Suárez (eds.). *Biología y conservación de los psitácidos de Venezuela*. Gráficas Giavimar, Venezuela.
- Archie, E. A., C. J. Moss y S. C. Alberts. 2006. The ties that bind: genetic relatedness predicts the fission and fusion of social groups in wild African elephants. *Proceedings of the Royal Society B*, **273**: 513-522.
- Arndt, T. 1996. *The complete lexicon of parrots*. Arndt-Verlag, Alemania. (Disponible en línea: <http://www.arndt-verlag.com/index.html>).
- Association of Zoos and Aquariums. 2007. *Conservation Programs Database*. (Disponible en línea: <http://www.aza.org/CANDS/>).
- Awise, J. C., J. Arnold, R. M. Ball, E. Bermingham, T. Lamb, J. E. Niegel, C. A. Reeb y N. C. Saunders. 1987. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Reviews in Ecology and Systematics*, **18**: 489-522.
- Baker, A. J. 1985. Museum collections and the study of geographic variation. Pp. 55-77. En: E. H. Miller (ed.). *Museum collections: their roles and future in biological research*. British Columbia Provincial Museum, Occasional Papers Series. Nro. 25.
- Baker, M. C. 2000. Cultural diversification in the flight call of the Ringneck Parrot in Western Australia. *Condor*, **102**: 905-910.

- Baker, M. C. y D. B. Thompson. 1985. Song dialects of White-crowned Sparrows: historical processes inferred from patterns of geographic variation. *The Condor*, **87**: 127-141.
- Baker, M. C., E. M. Baker y M. S. A. Baker. 2003a. Songs of the Red-capped Robin, *Petroica goodenovii*: comparison of acoustic features in island and mainland populations. *Emu*, **103**: 329-335.
- Baker, M. C., M. S. A. Baker y E. M. Baker. 2003b. Rapid evolution of a novel song and an increase in repertoire size in an island population of an Australian songbird. *Ibis*, **145**: 465-471.
- Baker, M.C. 1996. Depauperate meme pool of vocal signals in an island population of singing Honeyeaters. *Animal Behaviour*, **51**: 853-858.
- Baker, M.C., E. M. Baker y M. S. A. Baker. 2001. Island and island-like effects on vocal repertoire of singing Honeyeaters. *Animal Behaviour*, **62**: 767-774.
- Ball, R. M. J. y J. C. Avise. 1992. Mitochondrial DNA phylogeographic differentiation among avian populations and the evolutionary significance of subspecies. *The Auk*, **109**: 626-636.
- Bandelt, H., P. Forster y A. Rohl. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, **16**: 37-48.
- Bard, S. C., M. Hau, M. Wikelski y J. C. Wingfield. 2002. Vocal distinctiveness and response to conspecific playback in the spotted antbird, a neotropical suboscine. *The Condor*, **104**: 387-394.
- Barrowclough, G. F. 1985. Museum collections and molecular systematics. Pp. 43-54. En: E. H. Miller (ed.). *Museum collections: their roles and future in biological research*. British Columbia Provincial Museum, Occasional Papers Series. Nro. 25.
- Begon, M., J. L. Harper y C. R. Townsend. 1996. *Ecology. Individuals, populations and communities*. 3ra ed. Blackwell Science, EE. UU.
- Bond, A. B. y J. Diamond. 2005. Geographic and ontogenetic variation in the contact calls of the kea (*Nestor notabilis*). *Behaviour*, **142**: 1-20.

- Boughman, J. W. 1997. Greater spear-nosed bats give group distinctive calls. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **40**: 61-70.
- Bradbury, J. W. 2003. Vocal communication in wild parrots. Pp. 293-316. En: F. B. H. Dewaal y P. L. Tyack (eds.). *Animal society complexity: intelligence, culture, and individualized societies*. Harvard University Press, EE. UU.
- Bradbury, J. W. y S. L. Vehrencamp. 1998. *Principles of Animal Communication*. Sinauer Associates Inc., EE.UU.
- Bradbury, J. W., K. A. Cortopassi y J. R. Clemmons. 2001. Geographical variation in the contact calls of Orange-fronted parakeets. *The Auk*, **118**: 958-972.
- Buhrman-Deever, S. C. 2005. Recruitment calling in foraging groups of the parakeet *Aratinga pertinax*. *Animal Behavior Society 42nd Annual Meeting*, 6-10 de agosto, Snowbird, Utah, EE. UU.
- Bull, J. J., J. P. Huelsenbeck, C. W. Cunningham, D. L. Swofford y P. J. Waddell. 1993. Partitioning and combining data in phylogenetics analysis. *Systematic Biology*, **42**: 384-397.
- Burnham, K. P. y D. R. Anderson. 2002. Model selection and multimodel inference: A practical information-theoretic approach. Springer, EE. UU.
- Charif, R. A., C. W. Clark y K. M. Fristrup. 2004. *Raven 1.2 User's Manual*. Cornell Laboratory of Ornithology, EE. UU.
- Christian, C. S., T. E. J. Lacher, M. P. Zamore, T. D. Potts y W. Burnett. 1996. Parrot conservation in the Lesser Antilles with some comparison to the Puerto Rican efforts. *Biological Conservation*, **77**: 159-167.
- Collar, N. J. y A. T. Juniper. 1992. Dimensions and causes of the parrot conservation crisis. Pp. 1-24. En: S. R. Beissinger y N. F. R. Snyder (eds.). *New world parrots in crisis*. Smithsonian Institution Press, EE. UU.
- Cortopassi, K. A. y J. W. Bradbury. 2000. The comparison of harmonically rich sounds using spectrographic cross-correlation and principal coordinates analysis. *Bioacoustics*, **11**: 89-127.

- Cortopassi, K. A. y J. W. Bradbury. 2006. Contact call diversity in wild orange-fronted parakeet pairs, *Aratinga canicularis*. *Animal Behaviour*, **71**: 1141-1154.
- Couzin, I. D. 2006. Behavioral ecology: social organization in fission-fusion societies. *Current Biology*, **16**: R169-R171.
- Crockford, C., I. Herbinger, L. Vigilant y C. Boesch. 2004. Wild chimpanzees produce group-specific calls: a case for vocal learning?. *Ethology*, **110**: 221-243.
- Dávalos, L. M. 2004. Phylogeny and biogeography of Caribbean mammals. *Biological Journal of the Linnean Society*, **81**: 373-394.
- Dávalos, L. M. 2006. Short-faced bats (Phyllostomidae: Stenodermatinae): a Caribbean radiation of strict frugivores. *Journal of Biogeography*, **0**: 0-0.
- Davies, N. y E. Bermingham. 2002. The historical biogeography of two Caribbean butterflies (Lepidoptera: Heliconiidae) as inferred from genetic variation at multiple loci. *Evolution*, **56**: 573-589.
- de Kloet, R. S. y S. R. de Kloet. 2005. The evolution of the spindlin gene in birds: sequence analysis of an intron of the spindlin W and Z gene reveals four major divisions of the Psittaciformes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **36**: 706-721.
- Delport, W., J. W. H. Ferguson y P. Bloomer. 2002. Characterization and evolution of the mitochondrial DNA control region in Hornbills (Bucerotiformes). *Journal of Molecular Evolution*, **54**: 794-806.
- Desenne, P. y P. Strahl. 1994. Situación poblacional y jerarquización de especies para la conservación de la familia Psittacidae en Venezuela. Pp. 231-272. En: G. Morales, I. Novo, D. Bigio, A. Luy y F. Rojas-Suárez (eds.). *Biología y conservación de los psitácidos de Venezuela*. Gráficas Giavimar, Venezuela.
- Donnelly, T. W. 1988. Geologic constraints on Caribbean biogeography. Pp. 15-37. En: J. K. Liebherr (ed.). *Zoogeography of Caribbean insects*. Comstock Publishing Associates, EE. UU.
- Doutrelant, C. y M. M. Lambrechts. 2001. Macrogeographic variation in song - a test of competition and habitat effects in Blue Tits. *Ethology*, **107**: 533-544.

- Doutrelant, C.; A. Leitaó y K. Otter. 2000. Effect of Blue Tit song syntax on Great Tit territorial responsiveness - an experimental test of the character shift hypothesis. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **48**: 119-124.
- Eberhard, J. R. y E. Bermingham. 2004. Phylogeny and biogeography of the *Amazona ochrocephala* (Aves: Psittacidae) complex. *The Auk*, **121**: 318-332.
- Eberhard, J. R. y E. Bermingham. 2005. Phylogeny and comparative biogeography of *Pionopsitta* parrots and *Pteroglossus* toucans. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **36**: 288-304.
- Eberhard, J. R., T. F. Wright y E. Bermingham. 2001. Duplication and concerted evolution of the mitochondrial Control Region in the parrot genus *Amazona*. *Molecular Biology and Evolution*, **18**: 1330-1342.
- Farabaugh, S. M. y R. J. Dooling. 1996. Acoustic communication in parrots: laboratory and field studies of budgerigars, *Melopsittacus undulatus*. Pp. 97-117. En: D. E. Kroodsma y E. H. Miller (eds.). *Ecology and evolution of acoustic communication in birds*. Cornell University Press, EE. UU.
- Farabaugh, S. M., A. Linzenbold, A. y R. J. Dooling. 1994. Vocal plasticity in budgerigars (*Melopsittacus undulatus*): evidence for social factors in the learning of contact calls. *Journal of Comparative Psychology*, **108**: 81-92.
- Farris, J. S. 1970. Methods for computing Wagner trees. *Systematic Zoology*, **19**: 83-92.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, **39**: 783-791.
- Felsenstein, J. 2004. *Inferring phylogenies*. Sinauer Associates Inc, EE. UU.
- Fernández-Juricic, E., C. Campagna, V. Enriquez y C. L. Ortiz. 1999. Vocal communication and individual variation in breeding South American sea lions. *Behaviour*, **136**: 495-517.
- Fernández-Juricic, E., E. V. Álvarez y M. B. Martella. 1998. Vocalizations of Blue-crowned conures (*Aratinga acuticaudata*) in the Chancani Reserve, Córdoba, Argentina. *Ornitología Neotropical*, **9**: 31-40.

- Fluxus Technology Ltd. 2004. NETWORK 4.2.0.0. (Disponible en línea: <http://www.fluxus-engineering.com>).
- Forshaw, J. 1989. *Parrots of the world*. 3ra. ed. Landsdowne Editions, EE. UU.
- Gaunt, S. L. L., L. F. Baptista, J. E. Sánchez y D. Hernández. 1994. Song learning as evidenced from song sharing in two hummingbirds species (*Colibri coruscans* y *C. thalassinus*). *The Auk*, **111**: 87-103.
- Greene, E., B. E. Lyon, V. R. Muehter, L. Ratcliffe, S. J. Oliver y P. T. Boag. 2000. Disruptive sexual selection for plumage coloration in a passerine bird. *Nature*, **407**: 1000-1003.
- Hall, B. A. 2004. *Phylogenetic trees made easy. A how-to manual*. 2da. ed. Sinauer Associates, Inc, EE.UU.
- Hall, T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, **41**: 95-98.
- Harms, K. E. y J. R. Eberhard. 2003. Roosting behavior of the brown-throated parakeet (*Aratinga pertinax*) and roost locations on four southern Caribbean islands. *Ornitología Neotropical*, **14**: 79-89.
- Hedges, S. B. 1996. Historical biogeography of West Indian vertebrates. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **27**: 163-196.
- Hedges, S. B. 2006. Paleogeography of the Antilles and origin of West Indian terrestrial vertebrates. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **93**: 231-244.
- Hile, A. G., T. K. Plummer y G. F. Striedter. 2000. Male vocal imitation produces call convergence during pair bonding in budgerigars, *Melopsittacus undulatus*. *Animal Behaviour*, **59**: 1209-1218.
- Hilty, S. L. 2003. *Birds of Venezuela*. 2da. ed. Princeton University Press, EE. UU.
- Hoyos, J. 1985. Flora de la isla de Margarita, Venezuela. Sociedad y Fundación La Salle de Ciencias Naturales. Editorial Texto, Venezuela.

- InfoNatura: Birds, mammals, and amphibians of Latin America (web application). Versión 4.1. 2004. NatureServe, EE. UU. (Disponible en línea: <http://www.natureserve.org/infonatura>).
- Isler, M. I., P. R. Isler y B. M. Whitney. 1998. Use of vocalizations to establish species limits in antbirds (Passeriformes: Thamnophilidae). *The Auk*, **115**: 577-590.
- Iturralde-Vinent, M. A. y R. D. E. MacPhee. 1999. Paleogeography of the Caribbean region: implications for Cenozoic biogeography. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, **238**: 1-95.
- Janik, V. M. 2000. Whistle matching in wild bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *Science*, **289**: 1355-1357.
- Janik, V. M. y P. J. B. Slater. 2000. The different roles of social learning in vocal communication. *Animal Behaviour*, **60**: 1-11.
- Jarvis, E. D., S. Ribeiro, M. L. da Silva, D. Ventura, J. Vieillard, y C. V. Mello. 2000. Behaviorally driven gene expression reveals song nuclei in hummingbird brain. *Nature*, **406**: 628-632.
- Johnson, N. 1995. *Biodiversity in the balance: Approaches to setting geographic conservation priorities*. Corporate Press Inc., EE. UU.
- Juniper, T. y M. Parr. 1998. *Parrots: a guide to parrots of the world*. Yale University Press, EE.UU.
- Kerth, G., C. Ebert y C. Schmidtke. 2006. Group decision making in fission-fusion societies: evidence from two-field experiments in Bechstein's bats. *Proceedings of the Royal Society B*, **273**: 2785-2790.
- Kilpatrick, C. W. 2002. Noncryogenic preservation of mammalian tissues for DNA extraction: an assessment of storage methods. *Biochemical Genetics*, **40**: 53-62.
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, **16**: 111-120.

- Klein, N. K. y W. M. Brown. 1994. Intraspecific molecular phylogeny in the Yellow Warbler (*Dendroica petechia*), and implications for avian biogeography in the West Indies. *Evolution*, **48**: 1914-1932.
- Koopman, K. F. 1958. Land bridges and ecology in bat distribution on islands off the northern coast of South America. *Evolution*, **12**: 429-439.
- Kroodsma, D. E., B. E. Byers, S. L. Halkin, C. Hill, D. Minis, J. R. Bolsinger, J. A. Dawson, E. Donelin, J. Farrington, F. Gill, P. Houlihan, D. Innes, G. Keller, L. Macaulay, C. A. Marantz, J. Ortiz, P. K. Stoddard, y K. Wilda. 1999. Geographic variation in Black-capped Chickadee songs and singing behavior. *Auk*, **116**: 387-402.
- Kruskal, J. B. 1956. On the shortest spanning subtree of the graph and the travelling salesman problem. *Proceedings of the American Mathematical Society*, **7**: 48-57.
- Kumar, S., K. Tamura y M. Nei. 2001. MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics*, **5**: 150-163.
- Laird, N. M. y Ware, J. H. 1982. Random-effects models for longitudinal data. *Biometrics*, **38**: 963-974.
- Latruffe, C., P. K. McGregor, J. P. Tavares y P. G. Mota. 2000. Microgeographic variation in Corn Bunting (*Miliaria calandra*) song: quantitative and discrimination aspects. *Behaviour*, **137**: 1241-1255.
- Lovette, I. J. 2004. Mitochondrial dating and mixed support for the "2% rule" in birds. *The Auk*, **121**: 1-6.
- Lovette, I. J., E. Bermingham y R. E. Ricklefs. 1999. Mitochondrial DNA phylogeography and the conservation of endangered Lesser Antillean *Icterus* orioles. *Conservation Biology*, **13**: 1088-1096.
- Lowe, A., S. Harris y P. Ashton. 2004. *Ecological genetics: design, analysis and application*. Blackwell Publishing, Reino Unido.

- Lynch, A. 1996. The population memetics of birdsong. Pp. 181-197. En: D. E. Kroodsma y E. H. Miller (eds.), *Ecology and Evolution of Acoustic Communication in Birds*. Cornell University Press, EE.UU.
- MacDougall-Shackleton, E. A. y S. A. MacDougall-Shackleton. 2001. Cultural and genetic evolution in mountain White-crowned Sparrows: song dialects are associated with population structure. *Evolution*, **55**: 2568-2575.
- Mammen, D. L. y S. Nowicki. 1981. Individual differences and within-flock convergence in chickadee calls. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **9**: 179-186.
- Marien, D. y K. F. Koopman. 1955. The relationships of the West Indian species of *Aratinga* (Aves, Psittacidae). *American Museum of Natural History Novitates*, **1712**: 1-20.
- Marler, P. y M. Tamura. 1962. Song "dialects" in three populations of white-crowned sparrows. *The Condor*, **64**: 368-377.
- Mathevon, N. 1997. Individuality of contact calls in the greater flamingo *Phoenicopterus ruber* and the problem of background noise in a colony. *Ibis*, **139**: 513-517.
- Maurello, M. A., J. A. Clarke y R. S. Ackley. 2000. Signature characteristics in contact calls of the white-nosed coati. *Journal of Mammalogy*, **81**: 415-421.
- May, R.M. 1990. How many species? *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, **330**: 293-304.
- McComb, K., C. Moss, S. Sayialel y L. Baker. 2000. Unusually extensive networks of vocal recognition in African elephants. *Animal Behaviour*, **59**: 1103-1109.
- McDonald, D. B., R. P. Clay, R. T. Brumfield y M. J. Braun. 2001. Sexual selection on plumage and behavior in an avian hybrid zone: experimental tests of male-male interactions. *Evolution*, **55**: 1443-1451.
- McGregor, P. K., T. M. Peake y G. Gilbert. 2000. Communication behavior and conservation. Pp. 261-280. En: L. M. Gosling y W. J. Sutherland (eds.), *Behavior and Conservation*. Cambridge University Press, EE.UU.

- Meffe, G. K. y C. R. Carroll. 1994. *Principles of conservation biology*. Sianauer Associates Inc., EE.UU.
- Mitani, J. C., K. L. Hunley y M. E. Murdoch. 1999. Geographic variation in the calls of wild chimpanzees: a reassessment. *American Journal of Primatology*, **47**: 133-151.
- Miyaki, C. Y. y J. R. Eberhard. 2002. Conservation genetics of parrots. Pp. 27-47. En: M. Galetti y M. A. Pizo (eds.). *Ecologia e conservação de psitacídeos no Brazil*. Melopsittacus Publicações Científicas, Brasil.
- Miyaki, C. Y., S. R. Mantioli, T. Burke y A. Wajntal. 1998. Parrot evolution and paleogeographical events: Mitochondrial DNA evidence. *Molecular Biology and Evolution*, **15**: 544-551.
- Moritz, C., T. E. Dowling y W. M. Brown. 1987. Evolution of animal mitochondrial DNA: relevance for population biology and systematics. *Annual Reviews in Ecology and Systematics*, **18**: 269-292.
- Morton, E. S. 1975. Ecological sources of selection on avian sounds. *The American Naturalist*, **109**: 17-34.
- Mundinger, P. C. 1982. Microgeographic and macrogeographic variation in the acquired vocalizations of birds. Pp. 147-208. En: D. E. Kroodsma, E. H. Miller y D. Ouellet (eds.), *Acoustic Communication in Birds. Vol. 2. Song learning and its consequences*. Academic Press, EE.UU.
- Munshi-South, J. y G. S. Wilkinson. 2006. Diet influences life span in parrots (Psittaciformes). *The Auk*, **123**:108-118-
- Nei, M. 1987. *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press, EE.UU.
- Nei, M. y S. Kumar. 2000. *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, EE. UU.
- Nishiguchi, M. K., P. Doukakis, M. Egan, D. Kizirian, A. Phillips, L. Prendini, H. C. Rosenbaum, E. Torres, Y. Wyner, R. DeSalle y G. Giribet. 2002. DNA isolation procedures. Pp. 249-287. En: R. DeSalle, G. Giribet y W. C. Wheeler (eds.). *Methods*

- and Tools in Biosciences and Medicine. Techniques in molecular evolution and systematics.* Birkhäuser Verlag Basel, Suiza.
- Ottens-Wainright, P, K. M. Halanynch, J. R. Eberhard, R. I. Burke, J. W. Wiley, R. S. Gnam y X. Gálvez Aquilera. 2004. Independent geographic origins of the genus *Amazona* in the West Indies. *Journal of Caribbean Ornithology*, **17** (Special Issue Honoring Nedra Klein): 23-49.
- Page, R. D. M. y E. C. Holmes. 1998. *Molecular evolution. A phylogenetic approach.* Blackwell Science, Reino Unido.
- Pereira, S. L. y A. J. Baker. 2004. Low number of mitochondrial pseudogenes in the chicken (*Gallus gallus*) nuclear genome: implications for molecular inference of population history and phylogenetics. *BMC Evolutionary Biology*, **4**: 17.
- Piepho, H. P., A. Buchse y K. Emrich. 2003. A hitchhiker's guide to mixed models for randomized experiments. *Journal of Agronomy and Crop Science*, **189**: 310-322.
- Pinheiro, J. C. y D. M. Bates. 2004. *Mixed-effects models in S and S-PLUS.* Springer-Verlag, EE.UU.
- Pinheiro, J., D. Bates, S. DebRoy y D. Sarkar. 2006. *nlme: Linear and nonlinear mixed effects models. R package version 3.1-74.*
- Podos, J. 2001. Correlated evolution of morphology and vocal signal structure in Darwin's finches. *Nature*, **409**: 185-188.
- Podos, J., S. K. Huber y B. Taft. 2004. Bird song: the interface of evolution and mechanism. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, **35**: 55-87.
- Posada, D. 2004. Collapse 2.1. A tool for collapsing sequences to haplotypes. (Disponible en línea: <http://darwi.ivigo.es>).
- Posada, D. y K. A. Crandall. 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*, **14**: 817-818.
- Posada, D. y T. Buckley. 2004. Model selection and model averaging in phylogenetics: advantages of Akaike Information Criterion and Bayesian approaches over Likelihood Ratio Tests. *Systematic Biology*, **53**: 793-808.

- Primack, R., R. Rozzi, P. Feinsinger, R. Dirzo y F. Massardo. 2001. *Fundamentos de conservación biológica. Perspectivas latinoamericanas*. Fondo de Cultura Económica, México.
- Ralph, J. C., G. R. Geupel, P. Pyle, T. E. Martin, D. F. DeSante y B. Milá. 1996. *Manual de métodos de campo para el monitoreo de aves terrestres*. Gen. Tech. Rep. PSW-GTR-159. Pacific Southwest Research Station, Forest Service, U. S. Department of Agriculture, EE. UU.
- Ramos-Fernández, G. 2005. Vocal communication in a fission-fusion society: do Spider Monkeys stay in touch with close associates?. *International Journal of Primatology*, **26**: 1077-1092.
- Randi, E. 1996. A mitochondrial cytochrome *b* phylogeny of the *Alectoris* partridges. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **6**: 214-227.
- Ribas, C. C. y C. Y. Miyaki. 2004. Molecular systematics in *Aratinga* parakeets: species limits and historical biogeography in the 'solstitialis' group, and the systematic position of *Nandayus nenday*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **30**: 663-675.
- Ribas, C. C., L. Joseph y C. Y. Miyaki. 2006. Molecular systematics and patterns of diversification in *Pyrrhura* (Psittacidae), with special reference to the *Picta-Leucotis* complex. *The Auk*, **123**: 660-680.
- Ribas, C. C., R. Gaban-Lima, C. Y. Miyaki y J. Cracraft. 2005. Historical biogeography and diversification within the Neotropical parrot genus *Pionopsitta* (Aves: Psittacidae). *Journal of Biogeography*, **32**: 1409-1427.
- Rodríguez, J. P. 2000. Impact of the Venezuelan economic crisis on wild populations of animals and plants. *Biological Conservation*, **96**: 151-159.
- Rodríguez, J. P. 2003. *BioInsula Program 2003 Annual Report*. PROVITA, Caracas, Venezuela.
- Rodríguez, J. P. y F. Rojas-Suárez. 1994. Análisis de viabilidad poblacional de tres poblaciones de psitácidos insulares de Venezuela. Pp. 97-113. En: G. Morales, I.

- Novo, D. Bigio, A. Luy y F. Rojas-Suárez (eds.). *Biología y conservación de los psitácidos de Venezuela*. Gráficas Giavimar, Venezuela.
- Rodríguez, J. P. y F. Rojas-Suárez. 1999. Libro rojo de la fauna venezolana. 2da ed. PROVITA, Venezuela.
- Rodríguez, J. P., K. M. Rodríguez-Clark, M. A. Faría-Romero, J. M. Briceño-Linares, S. Dashiell, R. Neugarten y P. A. Millán. 2006. Education and the threatened parrots of Margarita Island. Pp. 159-173. En: Loro Parque Fundación (ed.). *Proceedings of the VI International Parrot Convention*, Puerto de La Cruz, Tenerife, España.
- Rodríguez, J. P., L. Fajardo, I. Herrera, A. Sánchez y A. Reyes. 2004. Conservation and management of the yellow-shouldered parrot (*Amazona barbadensis*) on the islands of Margarita and La Blanquilla, Venezuela. Pp. 361-370. En: H. R. Akçakaya, M. Burgman, O. Kindvall, C. Wood, P. Sjoren-Gulve, J. Hattfield y M. McCarthy (eds.). *Species Conservation and Management: Case Studies*. Oxford University Press, Reino Unido.
- Rodríguez-Ferraro, A. y V. Sanz. 1996. *Protocolos de Trabajo: Investigación y Manejo de la Cotorra Cabeciamarilla (Amazona barbadensis) en las Islas de Margarita y La Blanquilla*. PROVITA, Caracas, Venezuela.
- Rojas-Suárez, F. 1994a. Evaluación preliminar de la población de cotorra (*Amazona barbadensis*) en la Isla La Blanquilla, Venezuela. Pp. 89-96. En: G. Morales, I. Novo, D. Bigio, A. Luy y F. Rojas-Suárez (eds.). *Biología y conservación de los psitácidos de Venezuela*. Gráficas Giavimar, Venezuela.
- Rojas-Suárez, F. 1994b. Situación actual y aspectos de la biología del ñángaro (*Aratinga acuticaudata neoxena*) en la Isla de Margarita. Pp. 57-63. En: G. Morales, I. Novo, D. Bigio, A. Luy y F. Rojas-Suárez (eds.). *Biología y conservación de los psitácidos de Venezuela*. Gráficas Giavimar, Venezuela.
- Rosen, D. E. 1975. A vicariance model of Caribbean biogeography. *Systematic Zoology*, **24**: 431-464.
- Rowley, I. y G. Chapman. 1991. The breeding biology, food, social organization, demography and conservation of the Major Mitchell or pink cockatoo, *Cacatua*

- leadbeateri*, on the margin of the western Australian wheatbelt. *Australian Journal of Zoology*, **39**: 211-261.
- Russell, A. L., J. Ranivo, E. P. Palkovacs, S. M. Goodman y A. D. Yoder. 2007. Working at the interface of phylogenetics and population genetics: a biogeographical analysis of *Triadenops* spp. (Chiroptera: Hipposideridae). *Molecular Ecology*, **16**: 839-851.
- Russello, M. A. y G. Amato. 2004. A molecular phylogeny of *Amazona*: implications for Neotropical parrot biogeography, taxonomy, and conservation. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **30**: 421-437.
- Saitou, N. y Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, **4**: 406-425.
- Sakamoto, Y., M. Ishiguro y G. Kitagawa. 1986. *Akaike Information Statistics*. D. Reidel Publishing Company. Dordrecht.
- Sall, J., L. Creighton y A. Lehman. 2005. *JMP start statistics. A guide to statistics and data analysis using JMP® and JMP IN ® software*. 3ra ed. Thomson Learning, Canadá.
- Sanz, V. y A. Grajal. 1998. Successful reintroduction of captive-raised Yellow-shouldered Amazon parrots on Margarita Island, Venezuela. *Conservation Biology*, **12**: 430-441.
- Saunders, D. A. 1983. Vocal repertoire and individual vocal recognition in the Short-Billed White-Tailed Black Cockatoo, *Calyptorhynchus funereus latirostris* Carnaby. *Australian Wildlife Research*, **10**: 527-536.
- Seddon, N. 2005. Ecological adaptation and species recognition drives vocal evolution in neotropical suboscine birds. *Evolution*, **59**: 200-215.
- Seutin, G., B. N. White y P. T. Boag. 1991. Preservation of avian blood and tissue samples for DNA analyses. *Canadian Journal of Zoology*, **69**: 82-90.
- Shieh, B. 2004. Song structure and microgeographic variation in a population of the Grey-cheeked Fulvetta (*Alcippe morrisonia*) at Shoushan Nature Park, Southern Taiwan. *Zoological Studies*, **43**: 132-141.
- Shields, G. F. y A. C. Wilson. 1987. Calibration of mitochondrial DNA evolution in geese. *Journal of Molecular Evolution*, **24**: 212-217.

- Silveira, L. F., F. C. T. de Lima y E. Hofling. 2005. A new species of *Aratinga* parakeet (Psittaciformes: Psittacidae) from Brazil, with taxonomic remarks on the *Aratinga solstitialis* complex. *The Auk*, **122**: 292-305.
- Silvius, K. M. 1995. Avian Consumers of Cardon Fruits (*Stenocereus griseus*, Cactaceae) on Margarita Island, Venezuela. *Biotropica*, **27**: 96-105.
- Sinclair, E. A., M. Pérez-Losada y K. A. Crandall. 2005. Molecular phylogenetics for conservation biology. Pp. 22-56. En: A. Purvis, J. L. Gittleman y T. Brooks (eds.). *Phylogeny and Conservation*. Cambridge University Press, EE. UU.
- Slabbekoorn, H. Y T. B. Smith. 2002. Habitat-dependent song divergence in the Little Greenbul: an analysis of environmental selection pressures on acoustic signals. *Evolution*, **569**: 1848-1858.
- Slater, P. J. B. 2003. Fifty years of bird song research: a case study in animal behaviour. *Animal Behaviour*, **63**: 633-639.
- Smith, G. A. 1975. Systematics of parrots. *Ibis*, **117**: 18-68.
- Snyder, N. F. R. 1994. The role of captive breeding in parrot conservation. Pp. 173- 189. En: G. Morales, I. Novo, D. Bigio, A. Luy y F. Rojas-Suárez (eds.). *Biología y conservación de los psitácidos de Venezuela*. Gráficas Giavimar, Venezuela.
- Snyder, N. F. R., S. E. Koenig, J. Koschmann, H. A. Snyder y T.B. Johnson. 1994. Thick-billed parrot releases in Arizona. *Condor*, **96**: 845-862.
- Snyder, N., P. McGowan, J. Gilardi y A. Grajal (eds.). 2000. *Parrots. Status Survey and Conservation Action Plan 2000 - 2004*. IUCN, Gland, Switzerland y Cambridge, Reino Unido.
- Sokal, R. R. y F. J. Rohlf. 1981. *Biometry, The principles and practice of statistics in biological research*. 2da. ed. W. H. Freeman and Company, EE. UU.
- Sorenson, M. D. 2003. Avian mitDNA primers. (Disponible en línea: <http://people.bu.edu/msoren/primers.html>).

- Sorenson, M. D., J. C. Ast, D. E. Dimcheff, T. Yuri y D. P. Mindell. 1999. Primers for a PCR-Based Approach to Mitochondrial Genome Sequencing in Birds and Other Vertebrates. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **12**: 105-114.
- Stidham, T. A. 1998. A lower jaw from a Cretaceous parrot. *Nature*, **396**: 29-30.
- Sullivan, J. 2005. Maximum-Likelihood methods for phylogeny estimation. *Methods in enzymology*, **395**: 757-779.
- Sundaresan, S. R., I. R. Fischhoff, J. Dushoff y D. Rubenstein. 2007. Network metrics reveal differences in social organization between two fission-fusion species, Grevy's zebra and onager. *Oecologia*, **151**:140-149.
- Swofford, D. L. 2002. PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parimony (*and Other Methods). Sinauer Associates, EE.UU.
- Swofford, D. L., G. J. Olsen, P. J. Waddell y D. M. Hillis. 1996. Phylogenetic inference. Pp. 407-514. En: D. M. Hillis, C. Moritz y B. K. Mable (eds). *Molecular systematics*. 2da. ed. Sinauer Associates Inc., EE.UU.
- Tavares, E. S., C. Yamashita y C. Y. Miyaki. 2004. Phylogenetic relationships among some neotropical parrot genera (Psittacidae) based on mitochondrial sequences. *The Auk*; **121**: 230-242.
- Terborgh, J., J. Faaborg y H. J. Brockmann. 1978. Island colonization by Lesser Antillean birds. *The Auk*, **95**: 59-72.
- Thompson, J. D., T. J. Gibson, F. Plewniak, F. Jeanmougin y D. G. Higgins. 1997. The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, **24**: 4876-4882.
- Thomsen, J. B. y T. A. Mulliken. 1992. Trade in neotropical psittacines and its conservation implications. Pp. 221-239. En: S. R. Beissinger y N. F. R. Snyder (eds.). *New world parrots in crisis*. Smithsonian Institution Press, EE.UU.
- Trejo-Torres, J. C. y J. D. Ackerman. 2001. Biogeography of the Antilles based on a parsimony analysis of orchid distributions. *Journal of Biogeography*, **28**: 775-794.

- Tyack, P. L. 1986. Whistle repertoires of two bottlenosed dolphins, *Tursiops truncatus*: mimicry of signature whistles?. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **18**: 251-257.
- Vehrencamp, S. L. 2000. Handicap, index, and conventional signal elements of bird song. Pp. 277-300. En: Y. Espmark, T. Amundsen y G. Rosenqvist. Trondheim (eds.). *Animal Signals: Signaling and signal design in animal communication*. Tapir Academic Press, Noruega.
- Vehrencamp, S. L., A. F. Ritter, M. Keever y J. W. Bradbury. 2003. Responses to playback of local vs. distant contact calls in the Orange-fronted conure, *Aratinga canicularis*. *Ethology*, **109**: 37-54.
- Venables, W. N. y B. D. Ripley. 1997. *Modern applied statistics with S-plus*. 2da. Ed. Springer-Verlag, EE. UU.
- Weir, B. S. 1996. Intraspecific differentiation. Pp. 385-405. En: D. M. Hillis, C. Moritz y B. K. Mable (eds). *Molecular systematics*. 2da. ed. Sinauer Associates Inc., EE.UU.
- Whitehead, H., S. Waters y T. Lyrholm. 1991. Social organization of female sperm whales and their offspring: constant companions and casual acquaintances. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **29**: 385-389.
- Wiley, J. W. 1993. Natural range expansion and local extirpation of an exotic psittacine – an unsuccessful colonization attempt. *Ornitología Neotropical*, **4**: 43-54.
- Wiley, J. W., R. S. Gnam, S. E. Koenig, A. Dornelly, X. Gálvez, P. E. Bradley, T. White, M. Zamore, P. R. Reillo y D. Anthony. 2004. Status and conservation of the family Psittacidae in the West Indies. *The Journal of Caribbean Ornithology*, **17** (Special Issue Honoring Nedra Klein): 94-154.
- Wright, T. F. 1996. Regional dialects in the contact call of a parrot. *Proceedings of the Royal Society of London B*, **263**: 867-872.
- Wright, T. F. y G. S. Wilkinson. 2001. Population genetic structure and vocal dialects in an amazon parrot. *Proceedings of the Royal Society London B*, **268**: 609-616.

-
- Wright, T. F., A. M. Rodríguez y R. C. Fleischer. 2005. Vocal dialects, sex-biased dispersal, and microsatellite population structure in the parrot *Amazona auropalliata*. *Molecular Ecology*, **14**: 1197-1205.
- Wright, T. F., C. A. Toft, E. Enkerlin-Hoeflich, J. Gonzalez-Elizondo, M. Albornoz, A. Rodríguez-Ferraro, F. Rojas-Suárez, V. Sanz, A. Trujillo, S. R. Beissinger, A. V. Berovides, X. Gálvez, A. T. Brice, K. Joyner, J. Eberhard, J. Gilardi, S. E. Koenig, S. Stoleson, P. Martuscelli, J. M. Meyers, K. Renton, A. M. Rodríguez, A. C. Sosa-Asanza, F. J. Vilella y J. W. Wiley. 2001. Nest Poaching in neotropical parrots. *Conservation Biology*, **15**: 710-720.
- Yépez-Tamayo, G. 1963. Ornitología de las islas Margarita, Coche y Cubagua (Venezuela). Primera parte. *Memorias de la Sociedad de Ciencias Naturales La Salle*, **23**: 75-112.