



Universidad Nacional de Córdoba
Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

Tesina de grado para optar por el título de Biólogo

¡Hasta la coronilla!
**¿Control hormonal de la coloración en la corona
de la torcaza común?**

Tesinista: Leila Mariel López

Director: Dr. Diego Javier Valdez

Lugar de trabajo:

Centro de Zoología Aplicada (CZA - FCEFYN, UNC)

Laboratorio de Cronobiología y Fisiología Aviar

Instituto de Diversidad y Ecología Animal (IDEA - CONICET - UNC)

2023

¡HASTA LA CORONILLA!
¿CONTROL HORMONAL DE LA COLORACIÓN EN LA CORONA DE LA TORCAZA COMÚN?

Tesinista: Leila Mariel López

Director: Dr. Diego Javier Valdez

Tribunal Examinador

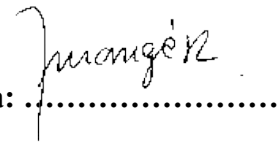
- **Biól. Fernando Carrezano**

Firma:


Biól. Fernando Carrezano

- **Dra. María Angélica Rivarola**

Firma:



- **Biól. Guillermo Sferco**

Firma:



Calificación:10 (Diez).....

Fecha: 23 de noviembre de 2023

ÍNDICE

Resumen	4
Abstract.....	5
AGRADECIMIENTOS.....	6
INTRODUCCIÓN.....	8
OBJETIVOS.....	11
Objetivo general	11
Objetivos específicos.....	11
MATERIALES Y MÉTODOS.....	12
Animales de estudio y alojamiento.....	12
Tratamientos con hormonas sexuales	12
Comienzo y finalización del crecimiento de las nuevas plumas	13
Análisis espectrofotométrico de plumas.....	14
Análisis estadístico	15
Extracción de sangre y cuantificación hormonal.....	15
Estradiol y testosterona.....	16
Corticosterona.....	16
Sacrificio de animales.....	17
RESULTADOS	17
Muestreo	17
Comienzo y finalización del crecimiento de las nuevas plumas	17
Análisis espectrofotométrico	18
Espectros de reflectancia	18
Variables espectrofotométricas clásicas	18
Modelo de visión aviar	18
Evaluación del correcto funcionamiento de los implantes	20
Cuantificación hormonal	20
Valoración comportamental	21
DISCUSIÓN.....	23
Estradiol.....	24
Efecto sobre coloración	24
Efecto sobre velocidad de muda.....	25
Testosterona.....	25
Efecto sobre coloración	25
Efecto sobre velocidad de muda.....	28
CONCLUSIÓN	29
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29

Resumen

Los mecanismos de regulación de la coloración se conservan ampliamente en la filogenia aviar: aquellos dependientes del estrógeno se encuentran en las ramas basales, y en grupos más derivados, testosterona, hormona luteinizante y otros instrumentos no hormonales cumplen esta función. El descubrimiento del dicromatismo sexual en la torcaza común (*Zenaida auriculata*) es relativamente reciente, por lo que se carece de información sobre los procesos que lo controlan. Teniendo en cuenta que el orden Columbiformes se encuentra cercano a ramas basales, se hipotetiza que las hormonas sexuales ejercen un papel central en la regulación de la coloración del plumaje en la corona de la torcaza común. Para ponerlo a prueba, se sometió a machos adultos a una muda forzada junto al aumento exógeno de estradiol y testosterona. Esto se realizó con el fin de determinar si la presencia de estas hormonas durante la muda modifica las características espectrofotométricas del plumaje. Las variables colorimétricas clásicas, tono, saturación ultravioleta y brillo no mostraron diferencias significativas entre tratamientos y controles. Así mismo, el modelo de visión aviar indica que no se generaron cambios perceptibles para los individuos, tanto en señales cromáticas como acromáticas. Sin embargo, los grupos tratados con hormonas sexuales mostraron un incremento en la velocidad del proceso de muda respecto al grupo control. Estos resultados sugieren que la torcaza común es una excepción a modelos de las ramas basales, donde las hormonas sexuales no son un elemento regulatorio para la coloración, pero sí para la velocidad del crecimiento de sus plumas nuevas.

Palabras clave: Zenaida auriculata, plumaje, corona, muda, coloración, modelo de visión aviar.

Abstract

The mechanisms of coloration regulation are widely conserved in avian phylogeny: those dependent on estrogen are found in the basal branches, and in more derived groups, testosterone, luteinizing hormone and other non-hormonal tools fulfill this function. The discovery of sexual dichromatism in the Eared Dove (*Zenaida auriculata*) is relatively recent, so information on the processes that control it is lacking. Considering that the order Columbiformes is found close to basal branches, it is hypothesized that sex hormones exert a central role in the regulation of crown plumage coloration of the Eared Dove. To test this, we subjected adult males to a forced molt along with exogenous increase of estradiol and testosterone. This was done to determine whether the presence of these hormones during molt modifies the spectrophotometric characteristics of the plumage. The colorimetric variables, hue, ultraviolet saturation and brightness showed no significant differences between treatments and controls. Likewise, the avian vision model indicates that no perceptible changes were generated for individuals, both in chromatic and achromatic signals. However, the hormone-treated groups showed an increase in the speed of the molting process compared to the control group. These results suggest that the Eared Dove is an exception to basal branch models, where sex hormones are not a regulatory element for coloration but are for the speed of the growth of their new feathers.

Keywords: Zenaida auriculata, plumage, crown, molt, coloration, avian visual model.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quisiera agradecer a mi director, el Dr. Diego Valdez, quien me acompañó a descubrir y descubrirme en la ciencia. Por siempre brindarme su apoyo y enseñanzas con paciencia y alegría, por mostrarme que no se necesita perfección para aprender: solo se necesita curiosidad. No pude encontrar mejor persona para sumarme a jugar con el conocimiento.

Al Dr. Quaglia, Agus, por haberme acompañado semana tras semana y haberme extendido su ayuda y consejo para manipular a las palomitas de la mejor manera. Gracias por compartir tus experiencias y serenidad en el caos que es la parte granjera de hacer ciencia.

A los miembros del Centro de Zoología Aplicada, quienes siempre me recibieron con los brazos abiertos y nos brindaron el espacio que permitió crear este trabajo.

A la Dra. Gabriela Sobrero y todo su equipo, así como a la Dra. Marina Ponzio y la Biól. Verónica Cantarelli, por su disposición y colaboración para realizar los análisis hormonales.

A la Dra. Alicia Sersic y al Dr. Andrea Cocucci, por facilitarnos el uso del espectrofotómetro para poder recolectar los datos.

Al Dr. Santiago Benitez-Vieyra, por su valiosa ayuda y colaboración para poder realizar los análisis espectrofotométricos y estadísticos.

Por otro lado, agradecer a todas aquellas personas que me ayudaron a convertirme en lo que soy:

A mi familia, quienes tuvieron la difícil tarea de pasar muchísimo tiempo alejados de mí, viendo a la distancia los logros de su sacrificio. A mis papás, quienes desde siempre alimentaron mi curiosidad y me dieron herramientas para continuar aprendiendo en cualquier lugar. A mis hermanos, Carlos y Gabi, por ayudarme a sobrevivir una pandemia, una carrera universitaria y toda una vida a su lado. No sé qué haría sin ustedes y su apoyo silencioso.

A mis amigxs, quienes no tengo palabra para describirles que no sean “lo mejor que me pasó en la vida”. A mi regalo favorito de la vida facultativa, mi legión de fans incondicionales y mi familia cordobesa: Male, Bel, Pali, Giuli, Joaquín, Agus, Luz y Clari. A mis tesoritos extranjeros: Dani, Iker, Luna, Jun y Hannie, quienes fueron mi inspiración,

apoyo y fortaleza. A mis compañeras de aventuras: China, Cami y Flor, que me acompañaron en esto llamado crecer y me ayudaron a conseguir todas esas cosas que en algún momento fueron solo delirios. A todos los que no puedo nombrar porque sería eterno, pero que siempre llevo conmigo.

A la Universidad Pública y Gratuita y a la sociedad argentina, que me permitió a mí, y muchísimos compañeros, estudiar la carrera de nuestros sueños juntos a los mejores profesionales. Espero poder retribuir de la mejor manera todos sus esfuerzos.

Finalmente, no quiero olvidarme de agradecer a mis compañeros peludos: Rolfi, Slyfer, Puchi, Puflito y Trufa, quienes acompañaron eternas horas de estudio, alegrando mi vida con su existencia.

INTRODUCCIÓN

El plumaje es una de las principales características que distingue a las aves. Este, además de ser fundamental para el vuelo, cumple diferentes funciones tales como el aislamiento térmico y la protección contra la radiación solar y parásitos. Así también, tiene un rol protagónico en la comunicación intra e interespecífica, destacándose su participación en la atracción de posibles parejas (mediante la exhibición o la generación de sonidos), la mantención o adquisición de estatus sociales, la defensa del territorio y el camuflaje (Hill y McGraw, 2006; Terril y Shultz, 2022).

Sin embargo, a medida que pasa el tiempo, el plumaje y su coloración se ven afectados por factores bióticos (actividad bacteriana y ectoparásitos) y abióticos (abrasión mecánica, acumulación de grasa y polvo, radiación solar, entre otras) (Delhey *et al.* 2007; Tökölyi *et al.* 2008; Shawkey *et al.* 2009; Griggio *et al.* 2011; Surmacki *et al.* 2011; Valdez y Benitez-Vieyra, 2023). Cuando una pluma se encuentra deteriorada, su función puede estar comprometida, por lo que su reemplazo resulta una estrategia fundamental para restaurar su función (Jenni y Winkler, 2020). En este sentido, la muda es un proceso fisiológico clave en la historia de vida de las aves, pues permite la renovación de plumas viejas por nuevas (Lindström *et al.*, 1993).

La importancia del periodo de muda radica en que, durante el mismo, se definirá el color general del ave. En este sentido, la coloración de la pluma es determinada por dos factores principales: la deposición de pigmentos (carotenos, melaninas y psittacofulvinas - estos últimos en psittaciformes-) y su ultraestructura, que establecerá la manera en la que los haces de luz se absorben y reflejan en las láminas de queratina, dando lugar a colores estructurales (Hill y McGraw, 2006). En este contexto, la torcaza común (*Zenaida auriculata*), una especie de paloma nativa de América del Sur, posee una coloración melánica, levemente rosada y con tonos grisáceos. Su cuello presenta un brillo dorado iridiscente, con manchas negras en cara y alas y su cola es plumiza, con faja subapical negra y ápice externo blanco (Narosky *et al.*, 2010).

Las especies de este género son consideradas, en su mayoría, sexualmente monocromáticas. Sin embargo, Valdez y Benitez-Vieyra (2016), establecen la existencia de dicromatismo sexual en *Z. auriculata*, indicando diferencias significativas entre machos y hembras en siete regiones corporales, siendo la corona la más evidente. En los machos, esta región corporal es expuesta durante el cortejo y presenta un color celeste grisáceo,

mientras que en juveniles y hembras tiende a ser marrón grisáceo. Ante este descubrimiento, y frente a la inexistente información acerca de los mecanismos que regulan el dicromatismo sexual en esta especie, es que el presente estudio se torna relevante.

En este sentido, las hormonas se proponen como el principal elemento regulatorio de la coloración del plumaje debido a que pueden variar sexual, estacional y ontogenéticamente (Ralph, 1969; Kimball, 2006). Además, en numerosas especies de aves se ha observado la influencia de las hormonas sexuales estradiol y testosterona sobre la coloración y velocidad de crecimiento de plumas nuevas (Haase y Schmedemann, 1992; Hahn *et al.*, 1992; Hall *et al.*, 1993; Haase *et al.*, 1995; Evans *et al.*, 2000; Stoehr y Hill, 2001; Fargallo *et al.*, 2007; Kurvers *et al.*, 2008). Estas hormonas esteroideas pueden actuar directamente sobre los receptores esteroideos ubicados en la papila de las plumas o indirectamente a través de sus propiedades pro-oxidantes, condicionando así el tiempo de crecimiento, el color y la estructura de la nueva pluma (Peczely, 1992; Peters *et al.*, 2006; Alonso-Alvarez *et al.*, 2007; Roberts *et al.*, 2009).

Teniendo en cuenta la información disponible acerca de los mecanismos de regulación hormonal de la coloración, la regulación estrógeno-dependiente se presenta como una característica basal en la filogenia aviar, presente en grupos como paleognatos, galliformes y anseriformes (Kimball, 2006). Dentro de las neoaves, el grupo de columbiformes se ubica cercano a las ramas basales de la filogenia aviar (Braun y Kimball, 2002; Kimball, 2006; Prum, 2015), por lo que se podría pensar que en este orden también existiría una regulación estrógeno-dependiente (Fig. 1). Además de esta regulación hormonal, en grupos aviares más derivados, se adquieren otros mecanismos de control que involucran, por ejemplo, la regulación por testosterona, hormona luteinizante o inclusive la pérdida del control hormonal (Kimball, 2006).

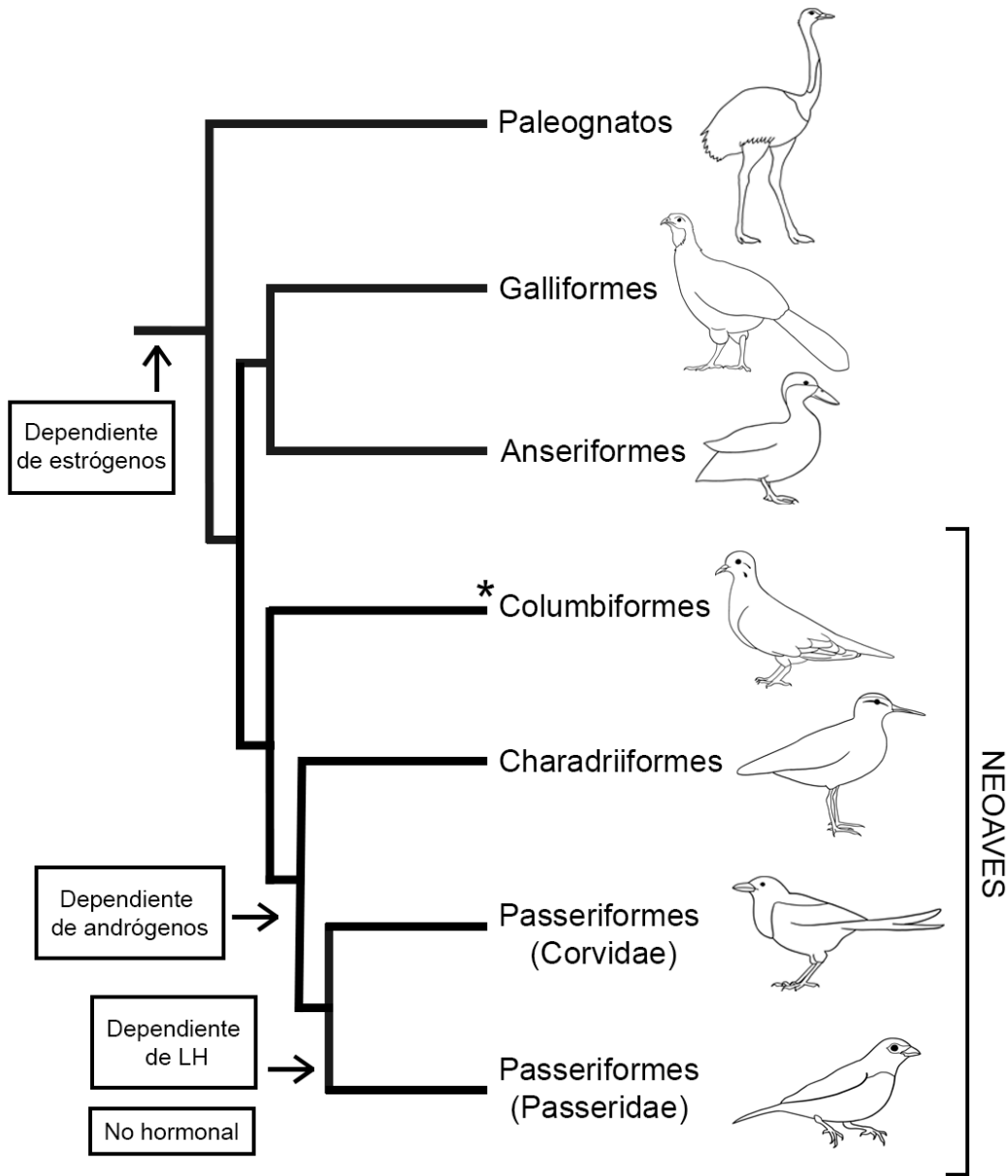


Figura 1: Filogenia de aves y su relación con los mecanismos de regulación hormonal de coloración. Se indican las transiciones entre diferentes mecanismos hormonales. * denota únicamente posición filogenética, sin registros sobre mecanismos de regulación. Tomado y modificado de Kimball (2006).

Un estudio reciente determinó que el periodo de muda de las plumas de la corona en la torcaza común ocurre entre los meses de enero y junio (Valdez y Benitez-Vieyra, 2023). Sumado a esto, durante el mismo tiempo los machos de torcaza común presentan niveles de testosterona plasmática que van de los 250 pg/ml en enero hasta los 100 pg/ml durante el resto del periodo (Maldonado *et al.*, 2020). Lo llamativo de esto, es que aún a

bajos niveles de testosterona plasmática los machos permanecen sexualmente activos (Maldonado *et al.*, 2020).

En base a estos antecedentes, es que se plantea la hipótesis de la existencia de un control hormonal de la coloración del plumaje de la corona de la torcaza común mediado por hormonas sexuales. Es así, que se propone evaluar el efecto de las hormonas sexuales estradiol y testosterona sobre la coloración y velocidad de crecimiento de las nuevas plumas de la corona en machos durante el periodo de muda. En base a los antecedentes filogenéticos antes expuestos, se espera observar una regulación estrógeno-dependiente de dicha coloración. En su conjunto, este trabajo sentaría las primeras bases para el estudio de mecanismos de regulación hormonal de la coloración en especies del orden columbiformes.

OBJETIVOS

Objetivo general

Estudiar el efecto de las hormonas sexuales estradiol y testosterona sobre la coloración del plumaje nuevo de la corona en machos adultos de la torcaza común (*Z. auriculata*).

Objetivos específicos

1. Determinar si el tratamiento con implantes de hormonas sexuales (estradiol y/o testosterona) afecta las características espectrofotométricas del nuevo plumaje de la corona de machos adultos de la torcaza común.
2. Evaluar si el tratamiento con implantes de hormonas sexuales (estradiol y/o testosterona) influye sobre la velocidad del crecimiento de plumaje nuevo en la torcaza común.
3. Registrar la variación de la concentración de hormonas sexuales estradiol y testosterona a los fines de corroborar el correcto funcionamiento de los implantes a lo largo del experimento.
4. Analizar la variación individual de corticosterona en sangre a lo largo del experimento a los fines de registrar los niveles de estrés que pudiera causar el implante.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio contó con la aprobación del Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) del IDEA (CONICET- UNC), acta de aprobación N°33/2023, fecha: 10/04/23.

Animales de estudio y alojamiento

El muestreo se llevó a cabo en los alrededores del Parque de la Biodiversidad de Córdoba, Argentina (Ex-zoológico de Córdoba; 31°25'31.79" S, 64°10'29.92" O) entre los meses de abril y mayo de 2023, durante el periodo de muda de las plumas de la corona. Para la captura de machos adultos, se utilizaron trampas pasivas cebadas con una mezcla de semillas y alimento balanceado para aves según lo estipulado por Navarro (1986). Se seleccionaron sólo aquellos individuos que poseían un plumaje celeste grisáceo fuerte en su corona, característica de los machos de esta especie (Valdez y Benitez-Vieyra, 2023).

Los ejemplares tuvieron un periodo de aclimatación de al menos 7 días en el recinto que se encuentra en las inmediaciones del Centro de Zoología Aplicada, apto para aves silvestres de pequeño a mediano tamaño, autorizado por CONICET (código ST6043). En él, se ubicaron jaulas individuales de 50x40x40cm, que estuvieron expuestas a condiciones seminaturales de temperatura (cerca de 22°C) y luz (aproximadamente 600 lux de luz blanca fría). Los individuos dispusieron de alpiste y agua *ad-libitum*. No se utilizó comida comercial para aves (mezcla de semillas y aditivos), a fin de evitar cualquier tipo de influencia de la dieta sobre la coloración de las nuevas plumas.

Las tareas de saneamiento del recinto fueron realizadas tres días a la semana, entre las 10:00 y las 13:00 hs. El personal a cargo utilizó uniforme en todas las ocasiones, así como barbijo y guantes de látex, a fin de generar acostumbamiento en los individuos. La rutina fue realizada en silencio y de manera calmada a fin de evitar exaltar a los animales.

Tratamientos con hormonas sexuales

Los machos capturados fueron separados en tres grupos experimentales: control (implante sin hormonas), grupo tratado con estradiol y el grupo tratado con testosterona. Se utilizaron implantes realizados con cera de abeja (volumen= 63 mm³) según lo especificado por Quispe *et al.* (2015), en una concentración de 5 mg hormonal cada uno. Los estándares de estradiol y testosterona con los cuales se construyeron los implantes fueron de Sigma Aldrich, Inc. USA.

Cada individuo fue inmovilizado con un tubo de tela elástica para extraer plumas en su espalda (parte media) y aplicar sobre la piel descubierta el anestésico tópico (clorhidrato de lidocaína en gel al 5%). Pasado el tiempo de acción del fármaco, alrededor de 5 minutos, se realizó, con bisturí quirúrgico, una incisión en la piel a modo de bolsillo, donde se introdujo el implante subcutáneo. Se suturó con adhesivo quirúrgico (2-etilcianoacrilato al 90%) (Fig. 2B).

Con los individuos todavía inmovilizados, se sustrajeron las plumas de la corona en una sección de $\frac{1}{2}$ cm² a fin de realizar la muda forzada (Fig. 2C).

Una vez que se constató el cierre óptimo de la sutura y que los individuos se encontraban en correctas condiciones, se quitaron las restricciones y el ave se trasladó nuevamente a su recinto. Allí se le realizó un seguimiento post-operatorio de su comportamiento durante las siguientes 24 horas.

Comienzo y finalización del crecimiento de las nuevas plumas

Luego de la realización de la muda forzada, se realizó un seguimiento del crecimiento de plumas nuevas en el parche realizado en los tres grupos experimentales. Esto se realizó a fin de determinar la fecha exacta en la que se comenzaron a observar los primeros canutos y el momento en el cual el parche se cubrió en un 100% por plumas nuevas.

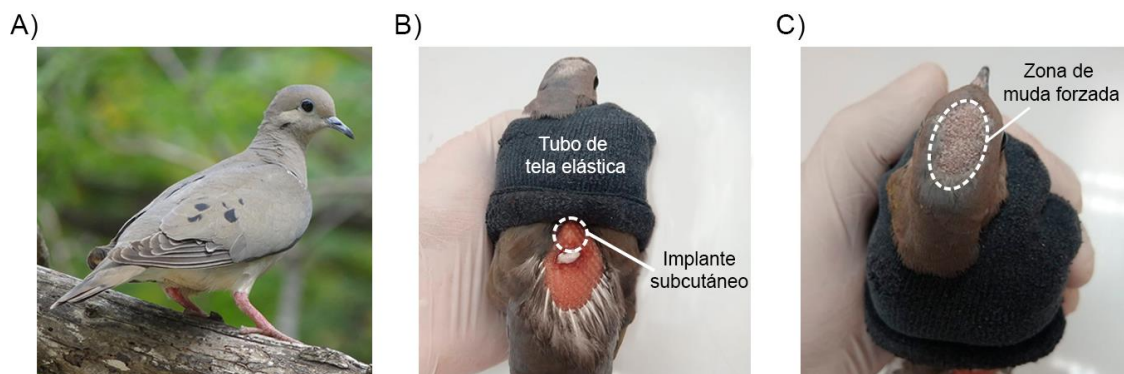


Figura 2: Procedimiento de colocación de implante y muda forzada. A) Torcaza común en la naturaleza, donde se puede observar el plumaje celeste grisáceo en la zona de la corona. B) Individuo inmovilizado luego de la operación, donde se puede apreciar el implante subcutáneo. C) Visualización de la zona donde se retiraron las plumas de la corona (muda forzada) a fin de que suceda la nueva muda.

Análisis espectrofotométrico de plumas

Las nuevas plumas, resultado de la muda forzada, fueron analizadas mediante espectrofotometría según lo establecido por Valdez y Benitez-Vieyra (2016; 2023). La reflectancia se midió en el rango de visión aviar, que contempla desde los 300 a los 700 nm. Se utilizó el espectrofotómetro OceanOptics USB40000 equipado con una fuente de luz halógena y deuterio (839 Douglas Ave., Dunedin, FL, USA 34698), ambos conectados al sensor por una fibra óptica bifurcada.

La superficie de la muestra del plumaje se iluminó a 45°, a una distancia de 4 mm entre la misma y el equipo. Se recogió la reflectancia a la misma inclinación, con una resolución de 0,19 nm, tiempo de integración de 300 msec y cada espectro fue el promedio de tres lecturas. Para recalibrar el equipo entre determinaciones, se utilizó el blanco estándar (100% de reflectancia) (Ocean Optics, WS-1-SS White Standard), a fin de corregir posibles desvíos. Los datos de reflectancia obtenidos, fueron recogidos por el software SpectraSuite (Ocean Optics, Inc.).

Los datos espectrofotométricos fueron tratados con el paquete PAVO (Maia *et al.*, 2013) en el programa R Studio, que permite el análisis de variables colorimétricas clásicas: tono, brillo y saturación, así como también posibilita la utilización de un modelo de visión aviar. Debido a la diferencia existente entre los modelos visuales de aves y mamíferos, tetracromático y tricromático respectivamente (Odeen y Håstad, 2003), el modelo de visión aviar es una herramienta que permite la interpretación de cómo las aves se perciben entre ellas (Endler y Mielke, 2005).

Las variables del modelo de visión aviar se ajustaron a lo utilizado en Valdez y Benitez-Vieyra (2016; 2023), donde se estableció el quantum catch (Q) para cada cono, y la iluminación diurna estandarizada (D65) representativa de la luz ambiental al mediodía en un espacio abierto. Se utilizó la sensibilidad espectral generalizada de los conos de aves tipo violeta (VS), que caracteriza a los Columbiformes.

Los valores de la excitación de los conos fueron utilizados para calcular las coordenadas del plumaje de los grupos experimentales en el espacio energético tetracromático. Finalmente, para estimar las distancias cromáticas y acromáticas, se aplicó el modelo de visión aviar que establece que el ruido del receptor limita la discriminación

en cada cono. Las distancias se caracterizaron en unidades de JNDs (diferencias apenas perceptibles, por sus siglas en inglés “just noticeable differences”), de modo que un JND representa el umbral de discriminación.

Para llevar a cabo estas tareas se contó con el asesoramiento del Dr. Santiago Benitez-Vieyra, perteneciente al Laboratorio de Ecología Evolutiva y Biología Floral, del Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBIV - CONICET).

Análisis estadístico

Los espectros de reflectancia obtenidos de los diferentes grupos experimentales (implante control, estradiol y testosterona) fueron examinados y comparados para determinar la existencia de superposiciones a lo largo del espectro.

Las variables colorimétricas clásicas: tono, saturación y brillo fueron analizadas con un análisis de varianza ANOVA unidireccional para probar diferencias significativas. Las diferencias entre las coordenadas en el espacio tetraédrico dadas por el modelo de visión aviar se examinaron utilizando un PERMANOVA.

Los datos obtenidos sobre la velocidad de crecimiento fueron analizados mediante un *t* de Student para distinguir diferencias significativas entre los tratamientos.

Para todos los análisis estadísticos realizados, el nivel de significancia (α) utilizado fue de 0,05. En esta instancia, también se contó con el asesoramiento del Dr. Santiago Benitez-Vieyra.

Extracción de sangre y cuantificación hormonal

A los fines de evaluar el correcto funcionamiento de los implantes, se extrajeron muestras de sangre desde la vena yugular de los individuos utilizando jeringas heparinizadas de 1 ml (Tuberculin syringe, TERUMO, Terumo Corporation) entre las 10:00 y las 13:00 h a los fines de evitar variaciones circadianas (Turek y Gwinner, 1982). Las extracciones se realizaron luego de 4 días de aclimatación de los individuos al recinto y antes del implante, 2 días después de la colocación de implantes y una vez a la semana, durante las tres semanas posteriores. Para este proceso se contó con el acompañamiento del médico veterinario Dr. Agustín Quaglia, integrante del Laboratorio de Arbovirus, Instituto de Virología "Dr. J. M. Vanella" de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Córdoba; quién posee una amplia experiencia en el estudio de esta especie.

Todas las muestras de sangre fueron centrifugadas a 5000 G durante 25 minutos en centrífuga refrigerada (Presvac EPF-12R), el plasma resultante se almacenó a -20°C hasta la determinación hormonal correspondiente. La cantidad de plasma obtenido fue insuficiente para realizar análisis de todos los parámetros y, por lo tanto, los números muestrales no son iguales para todas las determinaciones.

Estradiol y testosterona

La concentración de estradiol y testosterona en sangre se determinó mediante inmunoensayo, siguiendo el procedimiento descrito en los kits comerciales de inmunoensayo de electroquimioluminiscencia, Elecsys Testosterone II y Elecsys Estradiol II de ROCHE (Valdez *et al.*, 2014). Ambas hormonas fueron analizadas en un equipo Cobas 6000 con un módulo de inmunoensayo e 601 (HITACHI High Technology Corporation-ROCHE Diagnostic GmbH).

Esta determinación se realizó en colaboración con la Dra. Gabriela Sobrero del Laboratorio de Endocrinología del Hospital de Niños de la Santísima Trinidad en la ciudad de Córdoba.

Corticosterona

Una señal clara de estrés en aves, es la liberación de la hormona corticosterona (Sapolsky *et al.*, 2000; Romero y Romero, 2002; Bilková, 2020), donde las concentraciones basales se denotan si la muestra es tomada dentro de 3 minutos pasada la captura y manipulación del animal (Schoech *et al.*, 1999; Romero y Romero, 2002). En esta experimentación, las muestras fueron tomadas dentro de este periodo de tiempo desde su traslado desde el recinto hacia el laboratorio donde se extrajeron las muestras.

La concentración de corticosterona plasmática se determinó mediante la técnica de inmunoensayo enzimático (EIA), según lo descrito en Rojas *et al.* (2019). Se utilizó el anticuerpo policlonal anti-CORT, que posee reacción cruzada del 100% con corticosterona. La absorbancia se midió a 405 nm, utilizando un lector de microplacas (Thermo Electron Corporation, EEUU). Para estas determinaciones se utilizaron coeficientes de variación medidos intraensayo e interensayo para las muestras de control alto y bajo y fueron <12% y <3,4%, respectivamente. La sensibilidad del ensayo fue de 0,078 ng/ml.

Este procedimiento estuvo a cargo de la Dra. Marina Ponzio y la Biol. Verónica Cantarelli, del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (INICSA - CONICET), de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Córdoba.

Sacrificio de animales

Una vez que todos los grupos experimentales cubrieron el 100% del parche realizado con plumas nuevas, se mantuvo a los ejemplares en el recinto por una semana más. Pasado ese tiempo, los individuos fueron sacrificados por decapitación con guillotina. Además, se recolectó plasma de cada ejemplar en tubos tipo eppendorf de 1,5 ml previamente heparinizados. Estas muestras fueron tratadas según lo especificado en la sección *Cuantificación hormonal*. Inmediatamente después se procedió a la corroboración del sexo por inspección gonadal.

RESULTADOS

Muestreo

Se capturaron 23 machos adultos, que fueron distribuidos al azar en los tres grupos experimentales. Así, el grupo control (C, con implantes sin hormonas) contó con 7 especímenes y los grupos tratados con estradiol (E) y testosterona (T), reunieron 8 ejemplares cada uno.

Comienzo y finalización del crecimiento de las nuevas plumas

Luego de realizar la muda forzada (día 0), las nuevas plumas comenzaron a crecer en todos los grupos alrededor de los 3 días.

Se tomó como día de finalización de crecimiento de plumas nuevas, cuando el parche realizado previamente se cubrió en un 100% por plumas nuevas (Fig. 3A). De esta manera, los individuos del grupo Control tardaron $33,000 \pm 5,860$ días en mudar, mientras que el grupo Estradiol lo hizo en $25,870 \pm 6,490$ días y el grupo Testosterona, necesitó de $22,370 \pm 3,330$ días para cubrir el 100% del parche (Fig. 3B). Las diferencias entre medias fueron evaluadas mediante un análisis de t de Student, que mostró diferencias significativas entre el grupo Control y los grupos Estradiol ($t=2,22$; IC 95% [0,180; 14,070]; $p = 0,045$) y Testosterona ($t= 4,390$; IC 95% [5,400;11,130] $p=0,0007$). Estos

dos últimos (E y T) no mostraron diferencias significativas entre sí ($t=1,360$; IC 95% [-2,030; 9,030]; $p = 0,196$).

Análisis espectrofotométrico

Espectros de reflectancia

En un análisis descriptivo, los espectros de reflectancia para el plumaje de la corona (Fig. 3C) muestran un pico de reflectancia cercano a los 340 nm en los tres tratamientos, que corresponde a la región ultravioleta (UV) del espectro electromagnético. Así también, se puede observar que los errores se solapan a lo largo de todo el espectro, por lo que no se muestran diferencias entre los grupos experimentales. Sin embargo, es importante denotar la amplia variabilidad que existe en la región ultravioleta (desde los 300 a 400 nm), ya que en el resto del espectro la variabilidad es acotada y se comporta de igual manera en todos los grupos experimentales.

Variables espectrofotométricas clásicas

En la Tabla 1 se muestran las variables colorimétricas clásicas estudiadas: tono, saturación ultravioleta (S UV) y brillo. No se observaron diferencias significativas de ninguna de las variables entre los tratamientos.

Tabla 1: Variables colorimétricas clásicas: tono, saturación en la región UV y brillo. Las diferencias entre grupos fueron testeadas con ANOVAs. Los datos se muestran como media \pm error estándar.

	Control	Estradiol	Testosterona	F ; p
Tono	400,714 \pm 7,004	394,875 \pm 11,910	445,875 \pm 87,520	$F_{(2, 64)}=1,902$; $p=0,158$
S UV	0,349 \pm 0,020	0,331 \pm 0,010	0,330 \pm 0,022	$F_{(2, 64)}=0,177$; $p=0,838$
Brillo	21,692 \pm 2,715	19,771 \pm 3,630	23,341 \pm 5,760	$F_{(2, 64)}=1,370$; $p=0,261$

Modelo de visión aviar

El promedio de las distancias cromáticas y acromáticas medidas en JND entre machos de los diferentes tratamientos se muestran en la Fig. 3D-E, respectivamente.

Se observa que las distancias cromáticas presentaron diferencias significativas ($F_{(2, 19)}=5,034$; $p=0,013$) entre tratamientos, pero todos los valores obtenidos se encuentran por debajo del umbral de discriminación.

En el caso de las distancias acromáticas, a pesar de que dos de sus valores superan el umbral, no presentan diferencias significativas entre tratamientos ($F_{(2, 19)}=1,192$; $p=0,324$).

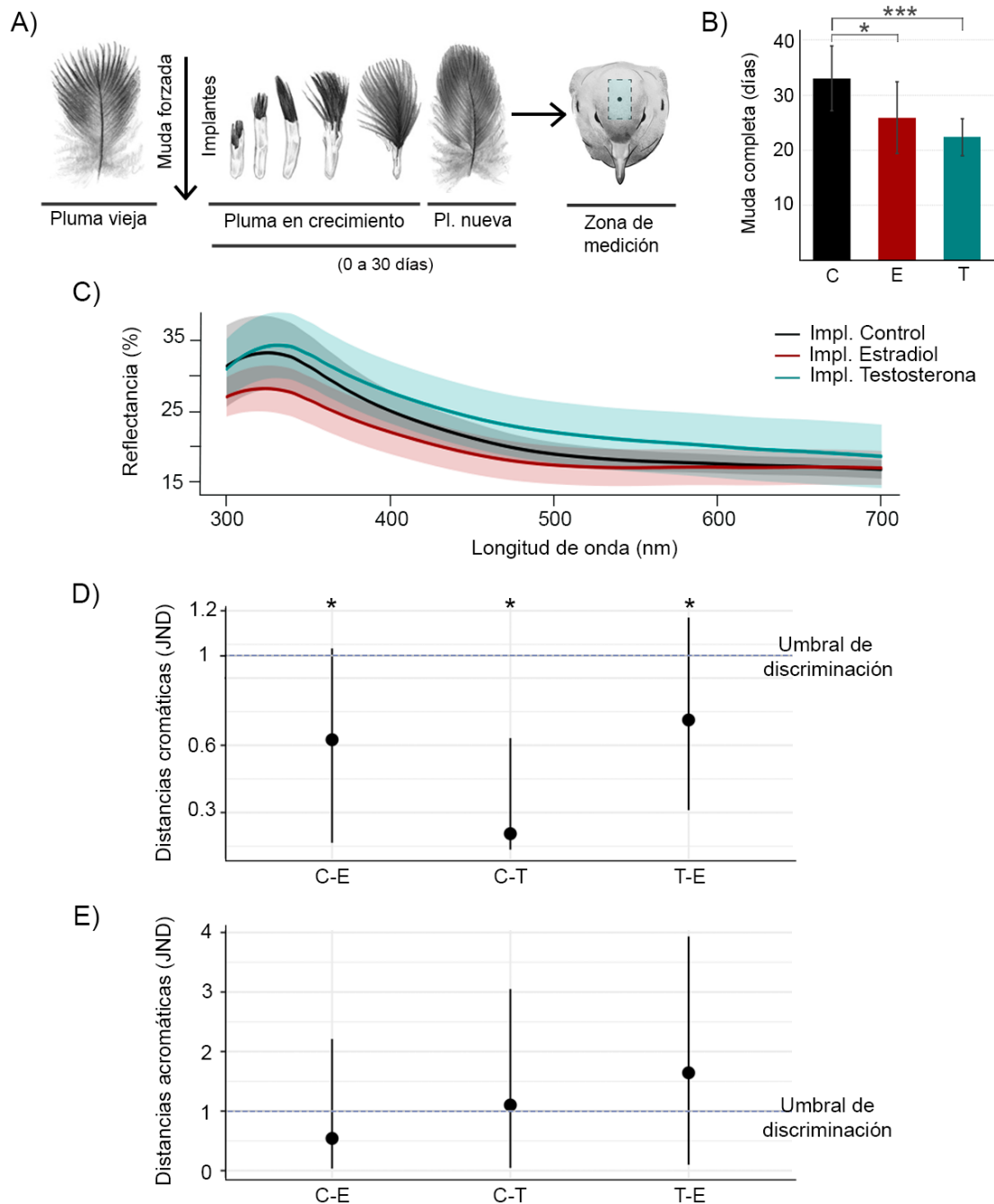


Figura 3: Caracterización del proceso de muda y características espectrofotométricas del plumaje de la corona de la torcaza común. **A)** Proceso de crecimiento individual de una pluma y delimitación del área de medición para la espectrofotometría. **B)** Tiempo de finalización del 100% de muda en los grupos experimentales. Los resultados se grafican como media \pm error estándar. Se indican diferencias significativas con $\alpha=0,05$; * $p<0,05$; *** $p<0$. **C)** Espectros de reflectancia para los tres grupos experimentales. Los resultados se grafican como media \pm 2 error estándar. **D)** Distancias cromáticas expresadas en JNDs. Los resultados se grafican como media \pm error estándar. Se indican diferencias significativas con $\alpha=0,05$; * $p<0,05$. **E)** Distancias acromáticas expresadas en JNDs. Los resultados se grafican como media \pm error estándar. Abreviaturas= C: Grupo Control; E: Grupo tratado con estradiol; T: Grupo tratado con testosterona.

Evaluación del correcto funcionamiento de los implantes

Cuantificación hormonal

El plasma recolectado por individuo fue insuficiente para realizar el perfil hormonal completo, por lo que se seleccionaron las muestras de 16 ejemplares al azar (6 pertenecientes al grupo control y 5 de cada tratamiento hormonal) para la medición de las hormonas sexuales, estradiol y testosterona. Para la cuantificación de corticosterona se utilizaron las muestras de 7 especímenes, también elegidos al azar (1 del grupo control y 3 de cada tratamiento con hormonas).

En el grupo control, con implantes que carecen de hormonas (Fig. 4A), se observan concentraciones basales de ambas hormonas correspondientes al periodo de aclimatación o día -3 (**13,455 \pm 2,056** pg/ml, en el caso de estradiol; **0,082 \pm 0,058** ng/ml de testosterona). Luego de la colocación del implante (día 0), se puede denotar un leve aumento en la concentración del estradiol que alcanza los **27,510 \pm 13,448** pg/ml y que disminuye rápidamente a **11,570 \pm 2,214** pg/ml, luego a **9,756 \pm 1,846** pg/ml. En la última cuantificación, la hormona aumenta levemente hasta indicar una concentración de **16,858 \pm 8,486** pg/ml. La testosterona en cambio, se mantiene en **0,023 \pm 0,002** ng/ml en las dos semanas siguientes al día 0, exceptuando la última medición en la que se registra una concentración de **0,144 \pm 0,111** ng/ml. Es así que las concentraciones tanto de estradiol como de testosterona se mantienen en valores mínimos, sin cambios notables a lo largo de todo el experimento.

En un inicio, el grupo tratado con estradiol (Fig 4B) muestra concentraciones similares a los registrados para el grupo control en el periodo de aclimatación (**15,804 \pm 4,462** pg/ml). Luego de la inserción del implante en el día 0, se puede observar un

aumento en su concentración, registrándose $220,400 \pm 34,054$ pg/ml y luego un decrecimiento lento a lo largo del tiempo. Es así que el estradiol alcanza valores de $44,420 \pm 10,776$; $26,544 \pm 6,354$ y $22,218 \pm 7,481$ pg/ml en las semanas subsiguientes. En contraste, la concentración de testosterona se mantuvo constante en todos los tiempos registrados (desde el día -3, hasta la última medición en el día 50), siendo similares a los basales indicados para el grupo control, aún después de la intervención quirúrgica.

Una respuesta similar se observa en el grupo tratado con testosterona (Fig 4C). Antes del implante, en el día -3, se observó una concentración de $0,022 \pm 0,002$, similar a lo observado en el grupo control. Dos días luego de la colocación del implante, se registraron valores de $225,340 \pm 39,780$ ng/ml de testosterona, que disminuye rápidamente. En el día 9, se alcanzan los $0,1313 \pm 0,057$ ng/ml, mientras que en el día 16 se observan $0,089 \pm 0,044$ ng/ml. En el último registro, aumenta levemente hasta conseguir $0,213 \pm 0,165$ ng/ml de concentración de testosterona. A pesar de la diferente cinética de esta hormona en sangre, los valores se mantienen por encima de los reportados para el grupo control. Respecto a la concentración de estradiol en sangre, los niveles se mantuvieron dentro de los valores de concentración basales y fueron constantes a lo largo de todo el experimento.

El seguimiento de corticosterona plasmática (Fig. 4D), muestra una amplia variabilidad entre individuos en el periodo de aclimatación (día -3). Luego de la intervención quirúrgica y la realización de la muda forzada, hay una reducción general en la concentración de la hormona, mostrando una clara tendencia a la disminución de corticosterona (y, por ende, del estrés) en sangre a lo largo del experimento.

Valoración comportamental

A pesar de no haberse hecho un análisis etológico, es de importancia notar los distintos comportamientos que exhibieron los grupos a lo largo del experimento.

Respecto a los individuos pertenecientes al grupo control, no se notaron cambios en el comportamiento luego de la inserción de los implantes. En general, se mostraron tranquilos en las diferentes etapas del experimento. Similarmente, en el grupo estradiol, tampoco se notaron grandes cambios en el comportamiento de los animales. En este caso los ejemplares se podían agrupar en aquellos tranquilos y más bien tímidos, y aquellos que se notaron enérgicos y reactivos a lo largo de todo el experimento.

Contrariamente, los miembros del grupo tratado con testosterona, luego de la colocación del implante, se mostraron más activos y tenaces, así como también movilizaron más los objetos presentes en sus jaulas (el cuenco con comida y el bebedero). Además, se mostraron más enérgicos a la hora de realizar las extracciones de sangre y al momento de volver a sus jaulas.

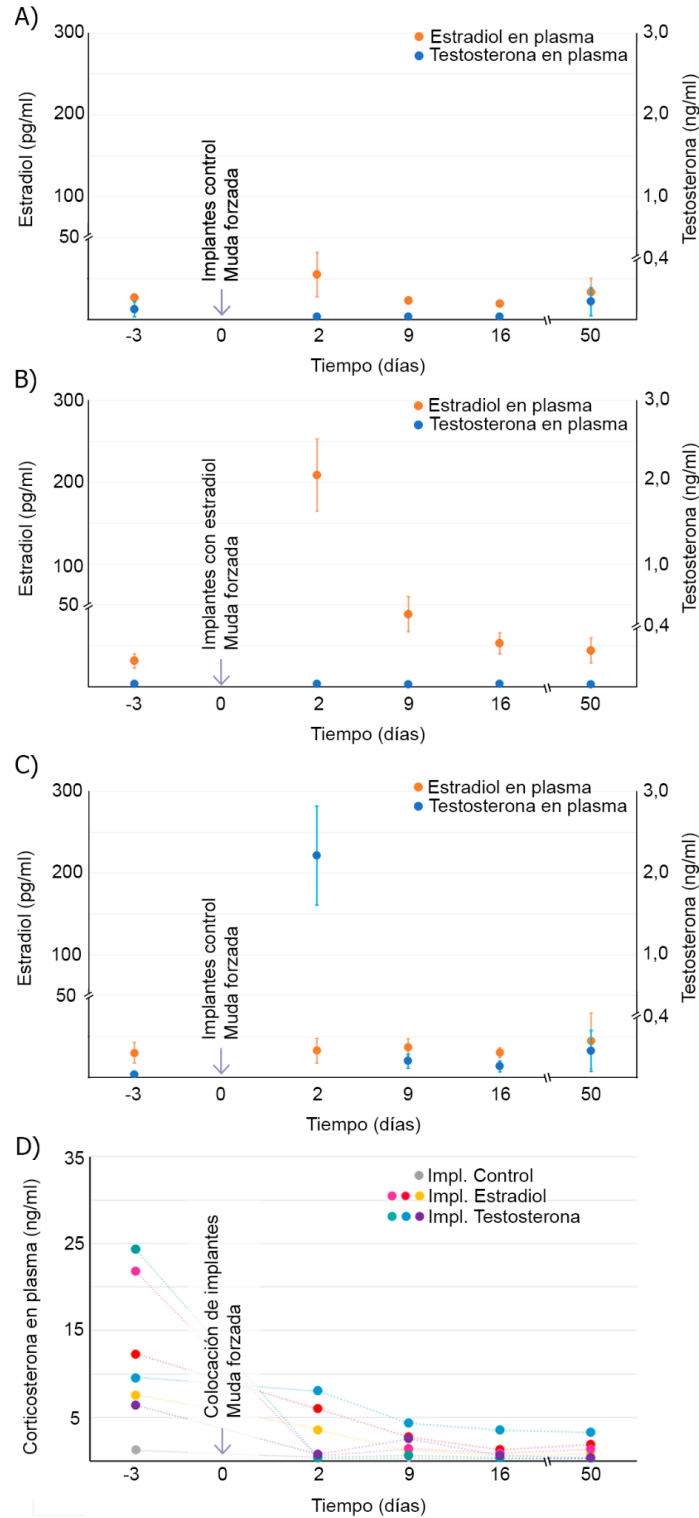


Figura 4: Determinación hormonal en plasma para cada grupo experimental.

A) Niveles plasmáticos de estradiol y testosterona en el grupo control (implante sin hormona). **B)** Niveles plasmáticos de estradiol y testosterona en el grupo tratado con estradiol. **C)** Niveles plasmáticos de estradiol y testosterona en el grupo tratado con testosterona. **D)** Niveles plasmáticos de corticosterona a lo largo del experimento de los tres grupos experimentales.

Nótese que los días se cuentan tomando como 0 al día de la intervención quirúrgica para colocar los implantes y la realización de la muda forzada. Los resultados se muestran como media \pm error estándar.

DISCUSIÓN

En este trabajo se abordó el primer estudio sobre el papel de las hormonas sexuales estradiol y testosterona en los mecanismos de regulación de la coloración de la torcaza común, el miembro más abundante del género *Zenaida* en Sudamérica.

El tratamiento con hormonas sexuales no modifica las características espectrofotométricas del plumaje de la corona respecto a las variables colorimétricas clásicas (Tabla 1). Sin embargo, al momento de analizar los datos obtenidos con el modelo de visión aviar, se pueden observar dos escenarios. En primer lugar, los grupos tratados hormonalmente, muestran diferencias entre sí y con el grupo control, respecto a sus distancias cromáticas (Fig. 2D). Aun así, ninguno de los valores obtenidos sobrepasa el umbral de discriminación ($JND = 1$), lo que indica que, a nivel biológico, los individuos no pueden apreciar ningún cambio entre ellos y perciben a los tres grupos como si se tratara de uno solo. En cuanto a las distancias acromáticas, se puede observar que, a pesar de no mostrar diferencias significativas en el análisis estadístico, dos de los valores superan el umbral de discriminación (Fig. 2E). Sin embargo, las distancias obtenidas no se alejan del umbral de 1 JND y, por lo tanto, estas variaciones mínimas no logran distinguirse por los individuos como señales disímiles. Entonces, los tratamientos con hormonas sexuales (estradiol y testosterona), no produjeron cambios apreciables en la coloración de las plumas de la corona de la torcaza común aun después de aplicar un modelo de visión acorde a los columbiformes.

Además, se distingue que estos resultados no fueron afectados por el estrés debido a la experimentación o inserción de implantes. Como se mencionó previamente, la corticosterona plasmática es un indicador del nivel de estrés en aves (Sapolsky *et al.*, 2000; Romero y Romero, 2002; Bilková, 2020) y los controles realizados muestran una disminución sostenida a medida que ocurrió la experimentación. Sumado a esto, según lo

descrito por Romero *et al.* (2005), niveles elevados de corticosterona en sangre causaron un retraso en el crecimiento de plumas en el estornino europeo (*Sturnus vulgaris*) y en el gorrión blanco coronado (*Zonotrichia leucophrys*) luego de una muda forzada. Por el contrario, los resultados del presente estudio muestran que los grupos tratados con hormonas sexuales completaron la muda en un periodo de tiempo menor respecto al grupo Control, lo que indica que los niveles de estrés mediados por corticosterona durante el desarrollo del experimento no participaron de los procesos estudiados.

Estradiol

Efecto sobre coloración

La hormona estradiol no modificó las variables colorimétricas clásicas ni produjo cambios perceptibles tanto en señales cromáticas como acromáticas.

En los grupos taxonómicos donde la coloración es estrógeno dependiente, es la presencia o ausencia de esta hormona la que determina el color del plumaje y el patrón en especies dicromáticas (Kimball, 2006). En hembras y machos, independientemente de si se realiza gonadectomía previamente, el plumaje resulta en uno más pálido y femenino si el estrógeno estuvo presente al momento de la muda. En cambio, en su ausencia, los individuos consiguen un plumaje brillante y masculino. Lo más interesante, es que el tratamiento con andrógenos tales como testosterona no afectan de ninguna manera la coloración del plumaje en la regulación estrógeno-dependiente. Es importante notar que la torcaza común no se ajusta a ninguno de los escenarios planteados: el tratamiento con testosterona no afectó al plumaje, pero el aumento exógeno de estradiol tampoco.

En ramas basales de la filogenia aviar (Prum *et al.*, 2015), los estrógenos juegan un papel importante en la determinación de la coloración del plumaje. Sus efectos son claros y se muestran de manera consistente en los distintos órdenes y en diferentes tipos de coloración; ya sea melánica, como en el caso de struthioniformes o estructural, como en el caso de los galliformes y anseriformes (Kimball y Ligon, 1999; Kimball, 2006). Es así, y teniendo en cuenta los resultados obtenidos en este experimento, que se puede asegurar que la torcaza común no posee una regulación dependiente de estrógenos.

Por lo tanto, el comportamiento de la coloración en esta especie se ajusta más a controles que aparecen en ramas derivadas en la filogenia, como passeriformes. En este orden, existen controles por andrógenos, hormonas luteinizantes y mecanismos

hereditarios (genéticos) (Kimball y Ligon, 1999; Kimball, 2006; Price-Waldman y Stoddard, 2021).

Efecto sobre velocidad de muda

Respecto a la duración de la muda, el aumento de estradiol produjo un aumento en la velocidad del crecimiento del plumaje (Fig. 3B): el grupo tratado con esta hormona cubrió el parche aproximadamente una semana antes que el grupo Control. En contraste, en hembras del chingolo cantor (*Melospiza melodia*) y en ambos sexos de la codorniz japonesa (*Coturnix japonica*), la muda se retrasó frente a un aumento exógeno de estradiol; pero una vez retirado los implantes, alcanzaron los puntajes de muda obtenidos por el grupo control (Runfeldt y Wingfield, 1985; Hahn *et al.*, 1992; Hall *et al.*, 1993). Del mismo modo, las hembras de cernícalo americano (*Falco sparverius*) en periodo de incubación, empezaron a mudar una vez que los niveles de estradiol disminuyeron a niveles basales en la especie (cerca de 10 pg/ml) (Rehder *et al.*, 1986), indicando un efecto inhibitorio de la hormona femenina sobre este proceso fisiológico. Por el contrario, los resultados obtenidos indican un efecto estimulador de estradiol sobre la velocidad de muda.

Testosterona

Efecto sobre coloración

Durante el cortejo, los machos de torcaza común presentan una conducta de reverencia hacia las hembras típica en el grupo de las palomas (Goodwin, 1966), en la cual persiguen a la hembra con el cuello inflado mostrando su corona y realizando vocalizaciones. Esta región corporal presenta un marcado dicromatismo sexual (Valdez y Benitez-Vieyra, 2016; 2023). Según lo reportado por Maldonado *et al.* (2020) los machos presentan un aumento de testosterona que alcanza los 200 pg/ml durante febrero, momento en el que se produce el periodo de muda. Es entonces que se podría suponer que los niveles de esta hormona regularían la señalización de rasgos sexuales masculinos, actuando como una señal honesta de calidad para las hembras. Sin embargo, el aumento de testosterona no mostró cambios significativos ni perceptibles en el plumaje de la corona. Esto concuerda con lo reportado por Sieferrman *et al.* (2013), donde un aumento de testosterona en el azulejo garganta canela (*Sialia sialis*) no afectó la coloración del plumaje estructural de la corona, pero sí al plumaje melánico del pecho. Sin embargo, en este caso los individuos

tratados con testosterona mostraron también un aumento en los niveles de corticosterona, por lo que no se puede distinguir el efecto de cada hormona sobre la coloración en esta especie. Por el contrario, en el presente estudio los niveles de corticosterona disminuyeron a lo largo del periodo de experimentación evidenciando que no posee efectos sobre la variable analizada. Este fenómeno puede deberse a que las torcazas comunes poseen una respuesta al estrés atenuada dado su comportamiento oportunista, en el que aprovechan su interacción con humanos para obtener comida y refugio (Murton *et al.*, 1974; Bucher y Ranvaud, 2006; Bucher, 2016).

Además, se ha reportado que la corticosterona afecta de manera diferencial según el tipo de coloración. En especies con plumajes caroténicos, como el del pinzón mexicano (*Haemorhous mexicanus*), se demostró que, en individuos con concentraciones de corticosterona elevados al momento de realizarse la muda, presentaban plumas más rojas que en aquellos individuos con niveles más bajos de la hormona (McGraw *et al.*, 2011; Lendvai *et al.*, 2013). Contrario a esto, en plumajes melánicos como el de las lechuzas de campanario (*Tyto alba*), este glucocorticoide afecta negativamente al plumaje, dando como resultado una coloración más opaca y monótona (Roulin *et al.*, 2007). Hasta el momento, no hay estudios en los que se analicen los efectos de la corticosterona sobre la coloración estructural.

Por otro lado, el plumaje de la corona del herrerillo común (*Cyanistes caeruleus*), que se encuentra sometido a una presión de selección sexual, aumentó su saturación en el UV tras un tratamiento con testosterona exógena (Roberts *et al.*, 2009). Sin embargo, esta diferencia se mostró en juveniles y en el periodo reproductivo posterior a la colocación de implantes y no inmediatamente después de la muda. Los individuos tratados mostraron además de un aumento en su saturación, un aumento en acicalamiento y testosterona circundantes en meses posteriores a la colocación del implante. En nuestro caso, los ejemplares se trataban en su totalidad de adultos y las muestras fueron tomadas inmediatamente después de la muda, por lo que no hay registros de lo que pudiera suceder en una temporada posterior.

Teniendo en cuenta estos antecedentes es que se cree que el aumento estacional de testosterona observado por Maldonado *et al.* (2020) en el momento de la muda de la corona que muestra la torcaza común, se trata de una coincidencia y no debido a que sea un elemento regulatorio para su coloración.

Sin embargo, más estudios podrían realizarse para conocer si el aumento de testosterona cambia la coloración en otras regiones corporales como el pico y las patas, tal es el caso del gorrión (*Passer domesticus*) y la ratona australiana de lomo rojo (*Malarus melanocephalus*). En ambas especies el oscurecimiento de su pico funciona como una señal honesta de su calidad como pareja (Laucht *et al.*, 2010; Karubian *et al.*, 2011). En la torcaza común no se evaluó dicho efecto sobre la coloración de picos y patas, pero se supone que la relación sería laxa ya que la proporción de los sexos a lo largo de todo el año se mantiene cercano al 1:1 (Bucher y Orueta, 1977; Valdez y Benitez-Vieyra, 2023), permitiendo así, reducir los comportamientos de agresión y competencia por pareja o sitios de anidamiento entre individuos.

Lo que se sabe de la interacción entre la testosterona y rasgos sexuales secundarios, como la coloración del plumaje, da cuenta de una interacción compleja y que varía tanto con la filogenia, como con los diferentes tipos de coloración (Owens y Short, 1995; Kimball, 2006). En el grupo de Charadriiformes, es necesaria la presencia de testosterona para obtener el plumaje colorido y, en su ausencia, se obtiene una muda opaca y más similar a la femenina (Wingfield *et al.*, 1980; Groothuis y Meeuwissen, 1992; Bókony *et al.* 2008). En Passeriformes, la correlación entre coloración estructural y presencia de testosterona al momento de la muda, no muestran una tendencia general (Evans *et al.* 2000; Peters *et al.*, 2006; Roberts *et al.*, 2009; Sieferrman *et al.*, 2013).

La información que se obtuvo en este experimento indicaría que los mecanismos de regulación de la coloración de la corona de la torcaza común, son similares a los de grupos más derivados en la filogenia. De esta manera, el grupo de columbiformes se mostraría como una excepción de las ramas filogenéticas basales, en donde las hormonas sexuales actúan como elementos regulatorios (Fig. 5). De ser así, sería interesante para futuros estudios, analizar el papel de otras hormonas (como la hormona luteinizante), y estudiar los mecanismos hereditarios (genéticos) de la coloración (Kimball, 2006; Price-Waldman y Stoddard, 2021).

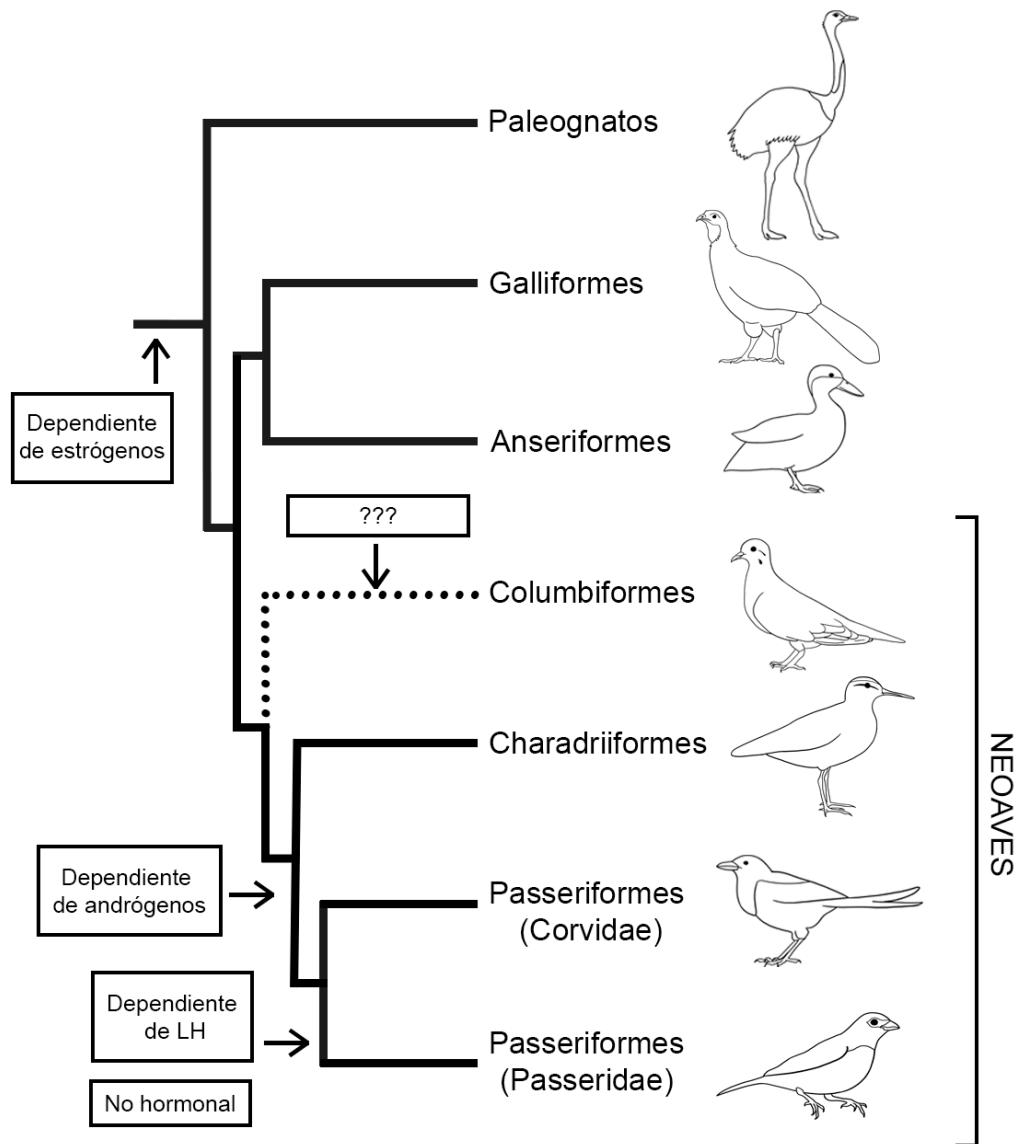


Figura 5: Filogenia de aves y su relación con los mecanismos de regulación hormonal de coloración, con incorporación hipotética de la torcaza común (*Z. auriculata*). Se indican las transiciones entre diferentes mecanismos hormonales. La línea de puntos denota únicamente posición filogenética, sin conclusiones acerca de sus métodos de regulación. Tomado y modificado de Kimball (2006).

Efecto sobre velocidad de muda

Ahora bien, los efectos de testosterona sobre la cinética del crecimiento de plumas son claros en la torcaza común: el grupo tratado con esta hormona fue capaz de cubrir el 100% del parche casi diez días antes que el grupo control (ver Fig. 3B). Esto es llamativo, debido a que hay una gran cantidad de evidencia que indica que este andrógeno retrasa el inicio de la muda en diferentes especies, como el estornino pinto (*Sturnus vulgaris*), el

chingolo cantor, el pinzón mexicano y el herrerillo común (Runfeldt y Wingfield, 1985; Schleussner *et al.*, 1985; Hahn *et al.*, 1992; Stoehr y Hill, 2001; Kurvers *et al.*, 2008); y hasta impidiendo que se realice la misma, como es el caso del junco ojos negros (*Junco hyemalis*; Nolan *et al.*, 1992).

Sin embargo, los resultados de este estudio indican que la testosterona se comporta de manera similar a la tiroxina, que aumenta la velocidad del crecimiento en plumas nuevas en cernícalo americano (Hahn *et al.*, 1992; Quinn *et al.*, 2012). Más estudios serán necesarios para determinar si la tiroxina tiene los mismos efectos sobre la velocidad de muda en la torcaza común.

CONCLUSIÓN

De este estudio, se puede concluir que las hormonas sexuales estradiol y testosterona, no se encuentran involucradas en los mecanismos de regulación de la coloración del plumaje de la corona de la torcaza común. Sin embargo, éstas sí actúan regulando la velocidad del crecimiento del plumaje nuevo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alonso-Alvarez, C., S. Bertrand, B. Faivre, O. Chastel y G. Sorci. 2007. Testosterone and oxidative stress: the oxidation handicap hypothesis. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 274(1611): 819–25.
- Bilková Z. 2020. Analyses of steroids in the feather and plasma of birds. Tesis de doctorado en Ciencias de Salud Ambiental. Facultad de Ciencias, Masaryk University.
- Bókony, V., L. Z. Garamszegi, K. Hirschenhauser y A. Liker. 2008. Testosterone and melanin-based black plumage coloration: a comparative study. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 62(8): 1229–38.
- Braun, E. L. y R. T. Kimball. 2002. Examining Basal Avian Divergences with Mitochondrial Sequences: Model Complexity, Taxon Sampling, and Sequence Length. *Systematic Biology* 51(4): 614–25.

- Bucher, E. 2016. La paloma torcaza. *Ciencia Hoy Argentina* 16-20.
- Bucher E. y A. Orueta. 1977. Ecología de la reproducción de la paloma *Zenaida auriculata*. II. Época de cría, suceso y productividad en las colonias de nidificación de Córdoba. *Ecosur*. 4(8): 57–185
- Bucher, E. y R. Ranvaud. 2006. Eared dove outbreaks in South America: pattern and characteristics. *Dong wu xue bao*. [Acta zoológica Sinica] 52: 564-567.
- Delhey, K., A. Peters y B. Kempenaers. 2007. Cosmetic Coloration in Birds: Occurrence, Function, and Evolution. *The American Naturalist* 169(S1): 145–58.
- Endler, J. A. y P. W. Mielke. 2005. Comparing entire colour patterns as birds see them. *Biological Journal of the Linnean Society* 86(4), 405–31.
- Evans, M. R., A. R. Goldsmith y S. R. A. Norris. 2000. The effects of testosterone on antibody production and plumage coloration in male house sparrows (*Passer domesticus*). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 47(3): 156–63.
- Fargallo, J. A., J. Martínez-Padilla, A. Toledano-Díaz, J. Santiago-Moreno y J. A. Dávila. 2007. Sex and testosterone effects on growth, immunity and melanin coloration of nestling Eurasian kestrels. *Journal of Animal Ecology* 76(1): 201–9.
- Goodwin, D. 1966. The Bowing Display of Pigeons in Reference to Phylogeny. *The Auk* 83(1): 117–23.
- Griggio, M., L. Serra y A. Pilastro. 2011. The possible effect of dirtiness on structurally based ultraviolet plumage. *Italian Journal of Zoology* 78(1): 90–95.
- Groothuis, T. y G. Meeuwissen. 1992. The influence of testosterone on the development and fixation of the form of displays in two age classes of young black-headed gulls. *Animal Behaviour* 43(2): 189–208.
- Haase, E. y R. Schmedemann. 1992. Dose-dependent effect of testosterone on the induction of eclipse coloration in castrated wild mallard drakes (*Anas platyrhynchos* L.). *Canadian Journal of Zoology* 70(3): 428–31.

- Haase, E., S. Ito y K. Wakamatsu. 1995. Influences of sex, castration, and androgens on the eumelanin and pheomelanin contents of different feathers in wild mallards. *Pigment Cell Research* 8(3): 164–70.
- Hahn, T. P., J. Swingle, J. C. Wingfield y M. Ramenofsky. 1992. Adjustments of the Prebasic Molt Schedule in Birds. *Ornis Scandinavica* 23(3): 314.
- Hall, M. R., L. Laouar y W. Ivings. 1993. Effects of reproductive state on molt in the Japanese quail. *Journal of Experimental Zoology* 265(3): 240–51.
- Hill, G. E. y McGraw K. J. (Eds.). 2006. *Bird coloration, volume 1: mechanisms and measurements*. Harvard University Press, Cambridge.
- Jenni, L. y R. Winkler. 2020. *The Biology of Molt in Birds*. Bloomsbury Publishing, London.
- Karubian, J., W. R. Lindsay, H. Schwabl y M. S. Webster. 2011. Bill coloration, a flexible signal in a tropical passerine bird, is regulated by social environment and androgens. *Animal Behaviour* 81(4): 795–800.
- Kimball, R. T. 2006. Hormonal control of coloration. In: Hill G. E., McGraw K. L. (Eds.) *Bird coloration: mechanisms and measurements*. Harvard University Press, Cambridge. 431–468.
- Kimball, R. T. y J. D. Ligon. 1999. Evolution of Avian Plumage Dichromatism from a Proximate Perspective. *The American Naturalist* 154(2): 182–93.
- Kurvers, R. H. J. M., M. L. Roberts, S. R. McWilliams y A. Peters. 2008. Experimental manipulation of testosterone and condition during molt affects activity and vocalizations of male blue tits. *Hormones and Behavior* 54(2): 263–69.
- Laucht, S., B. Kempenaers y J. Dale. 2010. Bill color, not badge size, indicates testosterone-related information in house sparrows. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 64(9), 1461–71.
- Lendvai, Á. Z., M. Giraudeau, J. Németh, V. Bakó y K. J. McGraw. 2013. Carotenoid-based plumage coloration reflects feather corticosterone levels in male house finches (*Haemorhous mexicanus*). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 67(11): 1817–24.

- Lindström, Å., G. H. Visser y S. Daan. 1993. The energetic cost of feather synthesis is proportional to basal metabolic rate. *Physiological Zoology* 66(4): 490–510.
- Maia, R., C. M. Eliason, P. P. Bitton, S. M. Doucet y M. D. Shawkey. 2013. pavo: an R package for the analysis, visualization and organization of spectral data. Ed. Andrew Tatem. *Methods in Ecology and Evolution* 4(10):906–13.
- Maldonado, L., T. C. Tempesti, G. M. Somoza, S. I. Peluc y D. J. Valdez. 2020. Reproduction in the Eared Dove: An exception to the classic model of seasonal reproduction in birds?. *Zoology* 140: 125769.
- McGraw, K. J., K. Lee y A. Lewin. 2011. The effect of capture-and-handling stress on carotenoid-based beak coloration in zebra finches. *Journal of Comparative Physiology A* 197(6): 683–91.
- Murton, R. K., E. H. Bucher, M. Nores y J. Reartes. 1974. The Ecology of the Eared Dove (*Zenaida auriculata*) in Argentina. *The Condor* 76(1): 80–88.
- Narosky, T., D. Yzurieta y H. Matarasso. 2010. *Aves de Argentina y Uruguay. Guía de identificación/Birds of Argentina and Uruguay. A field guide.* Editora Vazquez Mazzini, Buenos Aires.
- Navarro, J. L., L. Martin y E. H. Bucher. 1986. Una nueva trampa portátil para capturar palomas torcazas. *Vida Silvestre Neotropical* 1: 79-80.
- Nolan, Val, E. D. Ketterson, C. Ziegenfus, D. P. Cullen y C. R. Chandler. 1992. Testosterone and Avian Life Histories: Effects of Experimentally Elevated Testosterone on Prebasic Molt and Survival in Male Dark-Eyed Juncos. *The Condor* 94(2): 364–70.
- Odeen, A y O. Håstad. 2003. Complex Distribution of Avian Color Vision Systems Revealed by Sequencing the SWS1 Opsin from Total DNA . *Molecular Biology and Evolution* 20(6), 855–61.
- Owens, I. P. F. y R. V. Short. 1995. Hormonal basis of sexual dimorphism in birds: implications for new theories of sexual selection. *Trends in Ecology y Evolution* 10(1): 44–47.

- Peczely, P. 1992. Hormonal Regulation of Feather Development and Molt on the Level of Feather Follicles. *Ornis Scandinavica* 23(3): 346–54.
- Peters, A., K. Delhey, W. Goymann y B. Kempenaers. 2006. Age-dependent association between testosterone and crown UV coloration in male blue tits (*Parus caeruleus*). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 59(5): 666–73.
- Price-Waldman, R. y M. C. Stoddard. 2021. Avian Coloration Genetics: Recent Advances and Emerging Questions. Ed. Bridgett vonHoldt. *Journal of Heredity* 112(5): 395–416.
- Prum, R. O., J. S. Berv, A. Dornburg, D. J. Field, J. P. Townsend, E. M. Lemmon y A. R. Lemmon. 2015. A comprehensive phylogeny of birds (Aves) using targeted next-generation DNA sequencing. *Nature* 526(7574): 569–73.
- Quinn, M. J., J. B. French Jr., F. M. A. McNabb y M. A. Ottinger. 2002. The effects of polychlorinated biphenyls (Aroclor 1242) on thyroxine, estradiol, molt, and plumage characteristics in the American kestrel (*Falco sparverius*). *Environmental Toxicology and Chemistry* 21(7), 1417–22.
- Quispe, R., M. Trappschuh, M. Gahr y W. Goymann. 2015. Towards more physiological manipulations of hormones in field studies: Comparing the release dynamics of three kinds of testosterone implants, silastic tubing, time-release pellets and beeswax. *General and Comparative Endocrinology* 212: 100–105.
- Ralph, C. L. 1969. The Control of Color in Birds. *American Zoologist* 9(2): 521–30.
- Rehder, N. B., D. M. Bird y P. C. Laguë. 1986. Variations in plasma corticosterone, estrone, estradiol-17 β , and progesterone concentrations with forced reneating, molt, and body weight of captive female American kestrels. *General and Comparative Endocrinology* 62(3): 386–93.
- Roberts, M. L., E. Ras y A. Peters. 2009. Testosterone increases UV reflectance of sexually selected crown plumage in male blue tits. *Behavioral Ecology* 20(3): 535–41.

- Rojas, T. N., D. L. Vergara-Tabares, D. J. Valdez, M. F. Ponzio y S. I. Peluc. 2019. Food supplementation by an invasive fleshy-fruited shrub sustains body condition of a native frugivorous bird during winter. *Integrative Zoology* 14(3): 259–69.
- Romero, L. M. y R. C. Romero. 2002. Corticosterone Responses in Wild Birds: The Importance of Rapid Initial Sampling. *The Condor* 104(1): 129–35.
- Romero, L. M., D. Storchlic y J. C. Wingfield. 2005. Corticosterone inhibits feather growth: Potential mechanism explaining seasonal down regulation of corticosterone during molt. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular y Integrative Physiology* 142(1): 65–73.
- Roulin, A., B. Almasi, A. Rossi-Pedruzzi, A. L. Ducrest, K. Wakamatsu, I. Miksik, J. D. Blount, S. Jenni-Eiermann y L. Jenni. 2008. Corticosterone mediates the condition-dependent component of melanin-based coloration. *Animal Behaviour* 75(4): 1351–58.
- Runfeldt, S. y J. C. Wingfield. 1985. Experimentally prolonged sexual activity in female sparrows delays termination of reproductive activity in their untreated mates. *Animal Behaviour* 33(2): 403–10.
- Sapolsky, R. M., L. M. Romero y A. U. Munck. 2000. How Do Glucocorticoids Influence Stress Responses? integrating permissive, suppressive, stimulatory, and adaptive actions. *Endocrine Reviews* 21(1): 55–89.
- Schleussner, G., J. P. Dittami y E. Gwinner. 1985. Testosterone Implants Affect Molt in Male European Starlings, *Sturnus vulgaris*. *Physiological Zoology* 58(5): 597–604.
- Schoech, S. J., E. D. Ketterson y V. Nolan. 1999. Exogenous Testosterone and the Adrenocortical Response in Dark-Eyed Juncos. *The Auk* 116(1): 64–72.
- Shawkey, M. D., S. R. Pillai y G. E. Hill. 2008. Do feather-degrading bacteria affect sexually selected plumage color?. *Naturwissenschaften* 96(1): 123–28.
- Siefferman, L., M. Liu, K. J. Navara, M. T. Mendonça y G. E. Hill. 2013. Effect of Prenatal and Natal Administration of Testosterone on Production of Structurally

- Based Plumage Coloration . *Physiological and Biochemical Zoology* 86(3): 323–32.
- Stoehr, A. M. y G. E. Hill. 2001. The effects of elevated testosterone on plumage hue in male House Finches. *Journal of Avian Biology* 32(2): 153–58.
- Surmacki, A., L. Siefferman y H. W. Yuan. 2011. Effects of Sunlight Exposure on Carotenoid-Based and Structural Coloration of the Blue-tailed Bee-eater. *The Condor* 113(3): 590–96.
- Terrill, R. S. y A. J. Shultz. 2022. Feather function and the evolution of birds. *Biological Reviews* 98(2): 540–66.
- Tökölyi, J., V. Bókony y Z. Barta. 2008. Seasonal colour change by moult or by the abrasion of feather tips: a comparative study. *Biological Journal of the Linnean Society* 94(4): 711–21.
- Turek, F. y E. Gwinner. 1982. Role of hormones in the circadian organization of vertebrates. *Vertebrate Circadian Systems*. Springer, Berlin, Heidelberg. 173–182.
- Valdez, D. J., M. V. Cortez, N. S., Della Costa, A. Lèche, C. Hansen, J. L. Navarro y M. B. Martella. 2014. Seasonal Changes in Plasma Levels of Sex Hormones in the Greater Rhea (*Rhea americana*), a South American Ratite with a Complex Mating System. *PLoS ONE* 9(5), e97334.
- Valdez, D. J. y S. M. Benitez-Vieyra. 2016. A Spectrophotometric Study of Plumage Color in the Eared Dove (*Zenaida auriculata*), the Most Abundant South American Columbiforme. *PLOS ONE* 11(5): e0155501.
- Valdez, D. J. y S. M. Benitez-Vieyra. 2023. Annual molt period and seasonal color variation in the Eared Dove's crown. *PLOS ONE* 18(2): e0280819.
- Wingfield, J. C., A. Newman, G. L. Hunt y D. S. Farner. 1980. Androgen in high concentrations in the blood of female western gulls, *Larus occidentalis*. *Naturwissenschaften* 67(10): 514–15.