



Universidad Nacional del Litoral
Facultad de Ciencias Veterinarias

**Laboratorio de Ecología de Enfermedades, Instituto de Ciencias Veterinarias del
Litoral, Universidad Nacional del Litoral/Consejo Nacional de Investigaciones
Científicas y Tecnológicas.**

**“Eco-epidemiología de moscas parásitas del género *Philornis* Meinert
(Diptera: Muscidae) de la Argentina: efectos de la variabilidad climática
sobre sus ciclos de vida e impacto sobre la salud de sus hospedadores”.**

Autora: Lic. María José Esmeralda Saravia Pietropaolo

Director: Dr. Pablo Martín Beldomenico.

Codirector: Dr. Martín Aníbal Quiroga.

Tesis para optar al Grado Académico de Doctor en Ciencias Veterinarias.

2018



Universidad Nacional del Litoral
Facultad de Ciencias Veterinarias

**Laboratorio de Ecología de Enfermedades, Instituto de Ciencias Veterinarias del
Litoral, Universidad Nacional del Litoral/Consejo Nacional de Investigaciones
Científicas y Tecnológicas.**

**“Eco-epidemiología de moscas parásitas del género *Philornis* Meinert
(Diptera: Muscidae) de la Argentina: efectos de la variabilidad climática
sobre sus ciclos de vida e impacto sobre la salud de sus hospedadores”.**

Autora: Lic. María José Esmeralda Saravia Pietropaolo

Director: Dr. Pablo Martín Beldomenico.

Codirector: Dr. Martín Aníbal Quiroga.

Miembros del jurado de tesis: Dr. Alejandro R. Giraudo

Dr. Alberto A. Guglielmone

Dra. Marcela Lareschi

Agradecimientos

A mis padres, que me enseñaron el valor del esfuerzo y la perseverancia, por su apoyo y aliento constante en todas las decisiones de mi vida. A mis hermanos, por escuchar, por estar siempre a mi lado, por hacerme reír. A mi abuela, por sus consejos y su esfuerzo para hacer posible mis logros.

A Daniel, por su compañía, su comprensión y sus consejos, por escuchar, por su amor.

A mis geniales amigas, Alina y Belén, por estar siempre presentes.

Al Dr. Pablo Beldomenico le agradezco el haber aceptado dirigirme en este proyecto. Por dedicarme tiempo y compartir su experiencia. Por brindarme su confianza y su amistad.

Al Dr. Martín Quiroga le agradezco su paciencia, su esfuerzo y guía constante. Por sus miles de aportes, por su predisposición y su colaboración en la resolución de las dificultades surgidas en el proceso de esta Tesis.

A mis amigos y compañeros de campañas Dario Manzoli, Sofía Arce, Agustín Fasano, Pablo Capovilla, Ivana Monsalvo, Lucia Reynoso, Carina Sosa, Alejandro Percara, gracias por su colaboración desinteresada. En especial a Dario, por proporcionarme parte de los datos para la realización de este trabajo y por brindarme su tiempo y paciencia en los análisis estadísticos, y a Sofía, por su compañía e indispensable ayuda en el trabajo de campo.

A todos mis compañeros y amigos del LEcEn, por tantas charlas, consejos, risas y mates compartidos.

A Guillermo Tóffoli, quien me proporcionó los datos climáticos de la Estación Meteorológica-FCA-UNL.

A la Facultad de Ciencias Veterinarias, por brindarme la oportunidad de realizar la carrera del Doctorado. A la Secretaría de Posgrado por colaborar siempre en las gestiones académicas. Al personal no docente por brindar el traslado a los sitios de estudio.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), por otorgarme la Beca para realizar los estudios de posgrado en la carrera del Doctorado en Ciencias Veterinarias.

A Wildlife Conservation Society, Morris Animal Foundation y CONICET, cuyos apoyos financieros permitieron la ejecución de este trabajo de Tesis.

ÍNDICE GENERAL

| | |
|---|------|
| ÍNDICE DE TABLAS | iii |
| ÍNDICE DE FIGURAS | v |
| RESUMEN | viii |
| ABSTRACT | ix |
| ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS | x |
| INTRODUCCIÓN | 1 |
| 1. Parásitos y enfermedades de la vida silvestre..... | 1 |
| Enfermedades causadas por Dípteros: miasis..... | 3 |
| Influencia del clima en las interacciones parasitarias..... | 5 |
| 2. <i>Philornis</i> Meinert, 1890..... | 7 |
| <i>Aves víctimas del parasitismo de Philornis</i> | 8 |
| <i>El ciclo de vida de las Philornis subcutáneas</i> | 9 |
| 3. Temperatura e hibernación en Dipteros..... | 11 |
| 4. Impacto de <i>Philornis</i> sobre sus hospedadores y determinantes de la infestación..... | 13 |
| OBJETIVOS E HIPOTESIS DE TRABAJO | 16 |
| MATERIALES Y MÉTODOS | 17 |
| 1. Consideraciones éticas..... | 17 |
| 2. Caracterización de las áreas de estudio..... | 17 |
| 3. Estudio sobre el ciclo de vida de <i>P. torquans</i> bajo condiciones de cría de laboratorio..... | 19 |
| 3.1 <i>Colecta de estadios inmaduros y desarrollo de los adultos</i> | 19 |
| 3.2 <i>Condiciones de mantenimiento de los adultos y manejo de los huevos</i> | 20 |
| 4. Estudio experimental del efecto de la temperatura sobre el desarrollo de la pupa <i>P. torquans</i> | 21 |
| 5. Estudio observacional del efecto de factores climáticos sobre el impacto del parasitismo de <i>P. torquans</i> sobre sus hospedadores..... | 23 |
| 5.1 <i>Especies de aves estudiadas</i> | 23 |
| 5.2 <i>Búsqueda, monitoreo de nidos y colecta de datos</i> | 24 |
| 5.3 <i>Procesamiento de las muestras de sangre en el laboratorio</i> | 26 |

| | |
|--|----|
| 6. Análisis estadísticos..... | 27 |
| 6.1 Variables descriptivas del ciclo de vida de <i>P. torquans</i> | 27 |
| 6.2 Variables del estudio experimental..... | 28 |
| 6.3 Variables del estudio observacional..... | 28 |
| 6.4 Selección de modelos..... | 31 |
| RESULTADOS | 32 |
| 1. Aspectos del ciclo de vida de <i>P. torquans</i> bajo condiciones de cría de laboratorio..... | 32 |
| 2. Efecto de la temperatura sobre el desarrollo y la sobrevivencia de <i>P. torquans</i> | 35 |
| 2.1 Efectos sobre la mortalidad..... | 35 |
| 2.2 Efectos sobre el tiempo de desarrollo..... | 35 |
| 3. Influencia de factores climáticos sobre el impacto del parasitismo de <i>P. torquans</i> en sus hospedadores..... | 39 |
| 3.1 Crecimiento del tarso..... | 41 |
| 3.2 Concentración de glóbulos rojos y blancos..... | 45 |
| 3.3 Sobrevivencia..... | 53 |
| DISCUSIÓN | 60 |
| 1. Aspectos del ciclo de vida <i>P. torquans</i> | 60 |
| 2. Desarrollo y sobrevivencia de <i>P. torquans</i> en diferentes temperaturas..... | 63 |
| 3. Efecto de la variabilidad climática sobre el impacto del parasitismo de <i>P. torquans</i> en la salud de sus hospedadores..... | 65 |
| CONCLUSIONES | 68 |
| BIBLIOGRAFÍA | 70 |
| ANEXO I: Artículos publicados | 85 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | | |
|------------------|---|----|
| Tabla 1. | Duración de los estados de pupa y adultos de <i>P. torquans</i> , y de los períodos de pre-oviposición y oviposición, bajo condiciones de cría de laboratorio. El tamaño de la muestra es indicado con <i>n</i> | 33 |
| Tabla 2. | Cantidad de huevos puestos por las hembras de <i>P. torquans</i> en relación con la cantidad final de posturas realizadas. El tamaño de la muestra es indicado con <i>n</i> | 34 |
| Tabla 3. | Duración (en días) de los períodos de pupariación, pupación y adultez de <i>P. torquans</i> a tres temperaturas constantes. El tamaño de la muestra es indicado con <i>n</i> | 36 |
| Tabla 4. | Modelos lineales mixtos generalizados que explican la variación en los días de sobrevida de las moscas adultas (<i>n</i> =170). Los modelos que contienen el 80% de los pesos acumulados de AIC se muestran en negrita..... | 37 |
| Tabla 5. | Parámetros estimados (\pm SE) a partir de MLMG que describen la variación en los días de sobrevida de los imagos de <i>P. torquans</i> | 37 |
| Tabla 6. | Parámetros descriptivos de las variables climáticas observadas en el área de estudio durante las temporadas reproductivas 2008 a 2010 y 2012 a 2016. Se muestran por especie hospedadora preferencial de <i>P. torquans</i> | 39 |
| Tabla 7. | Parámetros que afectan el incremento de la longitud del tarso de <i>Ph. ruber</i> estimados a partir de modelos lineales mixtos (<i>n</i> = 457)..... | 42 |
| Tabla 8. | Parámetros del modelo lineal mixto asociados con el incremento diario de la longitud del tarso de los pichones de <i>Ph. sibilatrix</i> (<i>n</i> = 1011)..... | 44 |
| Tabla 9. | Parámetros del modelo lineal mixto asociados con el incremento diario de la longitud del tarso de los pichones de <i>Pi. sulfuratus</i> (<i>n</i> = 662)..... | 44 |
| Tabla 10. | Parámetros del modelo lineal mixto que describen la variación en la cantidad de glóbulos rojos de los pichones de <i>Ph. ruber</i> (<i>n</i> = 118)..... | 46 |
| Tabla 11. | Parámetros del modelo lineal mixto que describen la variación en la cantidad de glóbulos rojos de los pichones de <i>Ph. sibilatrix</i> (<i>n</i> = 247)... | 47 |

| | | |
|------------------|--|----|
| Tabla 12. | Parámetros del modelo lineal mixto que describen la variación en la cantidad de glóbulos rojos de los pichones de <i>Pi. sulphuratus</i> ($n=164$)..... | 48 |
| Tabla 13. | Parámetros del modelo lineal mixto generalizado que están asociados con la cantidad de glóbulos blancos de los pichones de <i>Ph. ruber</i> ($n=117$)..... | 49 |
| Tabla 14. | Parámetros del modelo lineal mixto que describen la variación en la cantidad de glóbulos blancos de los pichones de <i>Ph. sibilatrix</i> ($n=246$)..... | 50 |
| Tabla 15. | Modelos lineales mixtos generalizados que explican la variación en la cantidad de glóbulos blancos de <i>Pi. sulphuratus</i> . Se muestran las variables que intervienen en cada modelo, el AIC y el peso de AIC.... | 51 |
| Tabla 16. | Parámetros del modelo lineal mixto generalizado que están asociados con la cantidad de glóbulos blancos de los pichones de <i>Pi. sulphuratus</i> ($n=163$)..... | 52 |
| Tabla 17. | Modelos lineales mixtos generalizados que explican la variación en la sobrevida de <i>Ph. ruber</i> . Se muestran los modelos que contienen el 80% de los pesos acumulados de AIC..... | 54 |
| Tabla 18. | Parámetros del modelo lineal mixto generalizado que están asociados con la sobrevida de los pichones de <i>Ph. ruber</i> ($n=567$)..... | 55 |
| Tabla 19. | Modelos lineales mixtos generalizados que explican la variación en la sobrevida de <i>Ph. sibilatrix</i> . Los modelos que contienen el 80% de los pesos acumulados de AIC se muestran en negrita..... | 57 |
| Tabla 20. | Parámetros del modelo lineal mixto generalizado que están asociados con la sobrevida de los pichones de <i>Ph. sibilatrix</i> ($n=1271$)..... | 57 |
| Tabla 21. | Parámetros del modelo lineal mixto generalizado que están asociados con la sobrevida de los pichones de <i>Pi. sulphuratus</i> ($n=821$)..... | 59 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | | |
|-------------------|--|----|
| Figura 1. | Ubicación geográfica del área de estudio (círculo rojo) (A) y foto satelital de la Ruta Prov. N° 70, en el tramo que une las ciudades de Esperanza y Recreo, en la que se destacan los sitios de estudio (recuadros naranja) (B)..... | 18 |
| Figura 2. | Extracción de una larva del último estadio de <i>P. torquans</i> de un pichón infestado de <i>Pi. sulphuratus</i> (A). Pupa de <i>P. torquans</i> en formación donde se aprecia una secreción esponjosa blanquecina (B)..... | 20 |
| Figura 3. | Incubadoras donde se realizaron los experimentos con pupas de <i>P. torquans</i> | 22 |
| Figura 4. | Placas de cultivo con imagos de <i>P. torquans</i> de eclosión reciente.... | 22 |
| Figura 5. | Secreción esponjosa producida por una larva de tercer estadio de <i>P. torquans</i> (A). Pupa totalmente encerrada en el capullo (B)..... | 32 |
| Figura 6. | Días de sobrevida de las hembras de <i>P. torquans</i> por estado de desarrollo en el que se colectaron (se consideraron solo las hembras que ovipusieron). Hembras colectadas en el estado de pupa: $n= 10$; hembras colectadas en el estado de larva: $n= 27$ | 34 |
| Figura 7. | Cantidad de individuos por estado de desarrollo en cada nivel de temperatura. Los valores porcentuales al final de cada columna corresponden a la mortalidad observada durante la metamorfosis..... | 36 |
| Figura 8. | Sobrevida de los imagos de <i>P. torquans</i> en relación con la temperatura, como lo determina el modelo lineal mixto generalizado final..... | 38 |
| Figura 9. | Tasa de desarrollo ($1/\text{tiempo de desarrollo}$) de <i>P. torquans</i> durante el estado de pupa. El punto verde representa la tasa de desarrollo a 26°C | 38 |
| Figura 10. | Crecimiento diario del tarso de pichones de <i>Ph. ruber</i> de acuerdo con el modelo lineal mixto final. Se muestra la interacción entre la intensidad de larvas y la precipitación 3 días antes. La línea roja predice un escenario de alta precipitación previa (30 mm), la línea azul de baja precipitación (10 mm) y la línea negra un escenario en | |

| | | |
|-------------------|---|----|
| | ausencia de precipitación previa. Predicción para pichones de 5 días de edad, en ausencia de ácaros, con 17.3°C de temperatura mínima _{d-0} y 28.7°C de temperatura máxima _{d-3} | 43 |
| Figura 11. | Crecimiento diario del tarso de pichones de <i>Pi. sulphuratus</i> de acuerdo con el mejor modelo final. La figura A representa la interacción entre la intensidad de larvas y la precipitación acumulada 3 días antes. La interacción entre la intensidad de larvas y la temperatura máxima 4 días previos se muestra en la figura B. Las simulaciones se realizaron con edad de 5 días, 31.4°C de temperatura máxima _{d-4} (A) y ausencia de precipitaciones _{d-3} (B)..... | 45 |
| Figura 12. | Número de glóbulos rojos en <i>Pi. sulphuratus</i> evaluado en función de la intensidad de larvas, como lo determina el modelo lineal mixto final. Se representa el efecto de la intensidad parasitaria y la precipitación acumulada actual. Predicción para pichones de 7 días de edad, temperatura mínima _{d-2} de 19°C y precipitaciones acumuladas desde la postura de 124 mm..... | 48 |
| Figura 13. | Número de glóbulos blancos en <i>Ph. sibilatrix</i> evaluado en función de la intensidad de larvas, como lo determina el modelo lineal mixto final. Se representa la interacción entre la intensidad parasitaria un día antes y la temperatura mínima 3 semanas previas. Predicción para pichones de 7 días de edad..... | 51 |
| Figura 14. | Cantidad de glóbulos blancos de <i>Pi. sulphuratus</i> evaluado en función de la intensidad de larvas. La figura A muestra el efecto de la interacción entre la intensidad de larvas previas y la temperatura mínima actual; y la figura B representa el efecto de la interacción entre la intensidad de larvas y la temperatura máxima 1 día previo. Las simulaciones se realizaron a los 5 días de edad y en ausencia de precipitaciones..... | 53 |
| Figura 15. | Probabilidad de sobrevida (en los próximos 2-3 días) de los pichones de <i>Ph. ruber</i> en relación a la intensidad parasitaria. Se muestra el efecto de la temperatura mínima 2 días antes, en ausencia de lluvias (A), y de la precipitación media durante la incubación (B). Las simulaciones se realizaron para 7 días de edad..... | 56 |

| | | |
|-------------------|--|----|
| Figura 16. | Probabilidad de sobrevivencia de los pichones de <i>Ph. sibilatrix</i> dentro del período de 2-3 días inmediatamente posterior, como lo determina el modelo lineal generalizado mixto. Se muestra el efecto de la intensidad de parásitos y la precipitación 3 días antes (A) y la temperatura máxima reciente (B). Las simulaciones se realizaron para 7 días de edad y tamaño de nidada de 3 pichones..... | 58 |
| Figura 17. | Probabilidad de sobrevivencia de los pichones de <i>Ph. sulphuratus</i> dentro del período de 2-3 días inmediatamente posterior, en relación a la intensidad parasitaria. Se muestra el efecto de la temperatura mínima previa. Simulación para 7 días de edad y tamaño de nidada de 3 pichones..... | 59 |

RESUMEN

Las moscas del género *Philornis* parasitan aves en su estado larval. Cerca de la mitad de las especies conocidas producen miasis subcutáneas que pueden afectar la salud de sus hospedadores. Poco se conoce sobre el ciclo de vida de estas moscas y como factores relevantes al clima influyen sobre la parasitosis, lo que limita la comprensión de la bioecología estos parásitos. Los objetivos de esta tesis fueron generar conocimiento sobre aspectos del ciclo de vida de *P. torquans*, determinar el efecto de temperaturas constantes sobre el desarrollo y la sobrevivencia de los estados post-larvales, y evaluar en condiciones naturales la influencia de variaciones climáticas sobre la severidad de la infestación en *Ph. ruber*, *Ph. sibilatrix* y *Pi. sulphuratus*. Durante la cría en cautiverio de *P. torquans*, la mortalidad de las pupas fue 3.5 veces mayor en los individuos colectados como larvas que en aquellos colectados como pupas. Se hallaron diferencias significativas en tamaño corporal, longevidad y duración del período de pre-oviposición de las hembras, según el estadio de recolección. Se observó un estado de pupa prolongado cuando disminuyó la temperatura, que no afectó la sobrevivencia de los individuos. Finalmente, las especies hospedadoras mostraron una respuesta particular a la miasis, con una dependencia variable del contexto climático. Las variables climáticas modificaron el efecto de la miasis sobre el crecimiento y la sobrevivencia de *Ph. ruber*, sobre la concentración de leucocitos y también la sobrevivencia de *Ph. sibilatrix*, y sobre todos los parámetros evaluados de *Pi. sulphuratus*.

ABSTRACT

Flies of *Philornis* genus parasitize nestling birds in their larval stage. Almost half of the known species produce subcutaneous myiasis that can affect the health of their hosts. Little is known about the life cycle of these flies and how climate influences parasitism, which limits the understanding of the bio-ecology of these parasites. The aims of this thesis were to generate knowledge on aspects of the life cycle of *P. torquans*, to determine the effect of constant temperatures on the development and survival of the post-larval stages, and to evaluate in natural conditions the influence of climatic variations on the severity of the infestation in *Ph. ruber*, *Ph. sibilatrix* and *Pi. sulphuratus*. During captive breeding of *P. torquans*, pupal mortality was 3.5 times higher in individuals collected as larvae than in those collected as pupae. Significant differences were found in body size, longevity and duration of the pre-oviposition period of the females, depending on the collection stage. When the temperature decreased, a prolonged pupal stage was observed, but the survival of individuals was not affected. Finally, the host species showed a particular response to myiasis, with a variable dependence of the climatic context. Climatic variables modified the effect of parasitism on growth and survival of *Ph. ruber*, on leukocyte concentration and also survival of *Ph. sibilatrix*, and on all parameters evaluated of *Pi. sulphuratus*.

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

AIC: Akaike Information Criteria

MLM: Modelos lineal mixtos

d: Día

s: Semana

MLMG: Modelo lineal mixto generalizado

Ph. ruber: *Phacellodomus ruber*

Ph. sibilatrix: *Phacellodomus sibilatrix*

Pi. sulphuratus: *Pitangus sulphuratus*

P. downsi: *Philornis downsi*

P. torquans: *Philornis torquans*

Pr. avium: *Protocalliphora avium*

Pa. coronata: *Paroaria coronata*

INTRODUCCIÓN

1. Parásitos y enfermedades de la vida silvestre.

El modo de vida parasito está ampliamente extendido en el mundo natural. Se estima que más del 50% de las especies en la tierra son parásitas (Price, 1980), entre las que se incluyen animales, plantas, protozoos, bacterias, hongos y todos los virus. El parasitismo es un tipo de relación en la que un organismo (parásito) obtiene nutrientes de uno o unos pocos individuos (hospedador) causándoles normalmente daño, pero no la muerte inmediata (Begon y col., 2005). Por su parte, el hospedador responde al parasitismo activando mecanismos de defensa, físicos e inmunológicos, que el parásito intentará evitar o limitar (Bush y col., 2001). Así, la perpetuación de la especie parásita dependerá de la presencia del hospedador mientras que la eficacia biológica del hospedador dependerá de sus “armas” para combatir la parasitación. El resultado es una carrera adaptativa entre el hospedador y el parásito con consecuencias de gran alcance para la fisiología, la ecología y el comportamiento de ambos.

Varios estudios muestran que, al acaparar recursos de sus hospedadores e inducir en éstos una respuesta inmune nutricionalmente demandante, los parásitos pueden ejercer efectos perjudiciales sobre la reproducción y/o la supervivencia. Por ejemplo, Richner y col. (1993) encontraron que en nidos del carbonero común (*Parus major*) infestados experimentalmente con pulgas de gallinas (*Ceratophyllus gallinae*), parásitos que ocurren naturalmente en la población hospedadora, la mortalidad de los pichones fue tres veces mayor que en los nidos en donde estos parásitos fueron eliminados. Por otro parte, en liebres americanas (*Lepus americanus*) tratadas con drogas antihelmínticas para reducir las cargas naturales de nematodos subletales, la sobrevida fue mayor que en las liebres en las que no se aplicó el tratamiento, posiblemente porque los nematodos afectan la susceptibilidad de los hospedadores infectados a ser predados (Murray y col., 1997). El parasitismo puede también inducir cambios en el comportamiento del hospedador que conducen a reducciones del *fitness*. Main y Bull (2000) condujeron un estudio experimental en el que se incrementó la carga de garrapatas (*Aponomma hydrosauri* y *Amblyomma limbatum*) que ocurren naturalmente en lagartos (*Tiliqua rugosa*) de Australia Meridional. Los individuos tratados mostraron una reducción del rango del hogar y de la actividad diaria, que se reflejó en menores distancias de desplazamiento y

frecuencia de movimientos, así como en una disminución en la velocidad de las carrera y en la resistencia. Los cambios en la actividad inducidos por las garrapatas pueden ocasionar efectos negativos en los lagartos, ya que la reducción de los movimientos genera menos oportunidades para usar parches de recursos o refugios adecuados, y una carrera lenta disminuye las chances de escapar de los predadores (Main y Bull, 2000).

Como sucede con otras interacciones interespecíficas (predación y competencia), los parásitos pueden regular la abundancia poblacional si la fecundidad o la supervivencia del hospedador se reducen de una manera dependiente de la densidad (Tompkins y Begon, 1999). A la luz de la evidencia teórica (Anderson y May, 1978; Scott y Dobson, 1989) y empírica (Gulland, 1992; Hudson y col., 1998), el importante rol que desempeñan los parásitos en la dinámica de las poblaciones silvestres ha sido recientemente reconocido. Al mismo tiempo, las enfermedades parasitarias han estado implicadas en drásticas declinaciones de poblaciones de la fauna silvestre, e incluso en extinciones locales. Por ejemplo, la quitridiomycosis cutánea, causada por *Batrachochytrium dendrobatidis*, se ha identificado como la principal causa de la declinación poblacional de anuros de los bosques lluviosos montanos de Australia y América Central (Berger y col., 1999; Daszak y col., 1999) y, al mismo tiempo, como el posible agente causal de las extinciones de las ranas Arlequín (*Atelopus*) en América Central y América del Sur (La Marca y col., 2005), y de al menos 14 especies de ranas australianas (Retallick y col., 2004). Otro ejemplo ilustrativo lo constituye el trabajo de Roelke-Parker y col. (1996), quienes reportaron una elevada mortalidad de la población de leones (*Panthera leo*) del Parque Nacional Serengeti, en Tanzania, a causa de una epidemia por un Morbillivirus estrechamente relacionado al virus del moquillo canino. Durante 1994, la emergencia abrupta del patógeno viral resultó en una fatal enfermedad neurológica que se cobró el 30% de los leones del ecosistema Serengeti-Mara en el este de África.

Resulta evidente que al impactar sobre la salud de sus hospedadores, las enfermedades parasitarias pueden generar importantes efectos en la sostenibilidad de las poblaciones y en la resiliencia de los ecosistemas. Este hecho, sumado al surgimiento de una gran cantidad de enfermedades en la fauna silvestre (Daszak y col., 2000; Jones y col., 2008), se ha convertido en un tema crítico en la conservación de la biodiversidad y de las especies amenazadas y en peligro de extinción (Pedersen y col., 2007; Smith y col., 2008).

La emergencia de las enfermedades de la fauna frecuentemente resulta de cambios en la ecología de los patógenos y de los hospedadores (Schrag y Wiener, 1995), en los que las actividades humanas suele estar involucradas (Deem y col., 2001). El crecimiento de la población, la fragmentación y la degradación del hábitat, así como la mayor proximidad de humanos y sus animales domésticos a la vida silvestre, son algunos ejemplos de cambios antropogénicos que tienen profundas implicaciones sobre la salud y la conservación de la vida silvestre. Estos cambios pueden forzar a nuevos patógenos en nuevos nichos ecológicos o modificar el entorno para facilitar su establecimiento o transmisión (Smith y col., 2008).

La salud de las poblaciones silvestres esta críticamente unido a la salud pública. Se estima a nivel mundial que la mayoría de las enfermedades infecciosas emergentes que afectan al hombre se originan de reservorios de fauna silvestre (Jones y col., 2008), tales como la fiebre hemorrágica del Ébola, la encefalitis del virus del Nilo Occidental, el síndrome pulmonar por hantavirus, la gripe aviar A (H5N1) o el síndrome respiratorio agudo grave (SARS en inglés) (Bengis y col., 2004). Y al mismo tiempo, debido al flujo de agentes patógenos que se producen entre la fauna y los animales de granja y las mascotas (Gortazar y col., 2007), la salud de la fauna también es importante para la salud de los animales domésticos.

Por lo mencionado, el estudio de los parásitos y la salud de los animales silvestres es de importancia fundamental para la salud pública, la conservación e incluso las perspectivas económicas. No obstante, poco sabemos sobre los agentes infecciosos que se producen naturalmente en los animales silvestres, lo cual dificulta evaluar o dar una expresión cuantitativa del grado en que los parásitos pueden influir en las dinámicas de salud de las poblaciones silvestres.

Enfermedades causadas por Dípteros: miasis.

Los dípteros son uno de los órdenes más grandes y diversos de insectos, integrado por más de 120000 especies descritas (Hall y Gerhardt, 2002). Pese a que una pequeña fracción de esa cifra son parásitos, es el orden que causa el mayor impacto en la salud de los animales y en la salud pública, y el que exhibe las más diversas y numerosas relaciones parásito-hospedador.

El bienestar de los animales silvestres y domésticos es afectado por los dípteros de diversas maneras. Algunas especies se alimentan de la sangre de vertebrados y pueden actuar como como vectores de patógenos. De esa forma pueden propagar virus, infecciones rickettsiales, protozoos e infecciones por metazoos, que causan importantes afecciones tales como la enfermedad hemorrágica epizoótica en los ciervos de cola blanca (*Odocoileus virginianus*) (Jones y col., 1977), la anaplasmosis en rumiantes (Kuttler, 1984), la malaria en poblaciones de aves (Kimura y col., 2010) y la dirofilariasis canina (Vezzani y col., 2006).

Otros dípteros invaden los tejidos del cuerpo de su hospedador, dando lugar a infestaciones subcutáneas o la invasión de órganos como los pulmones y el intestino (Mullen y Durden, 2002). Un tipo particular de infestación de los tejidos vivos del hospedador, que se destacará por su relación con el tema de estudio, es la producida por larvas de mosca, denominada miasis (Zumpt, 1965). En función del grado en que las especies de moscas se asocian con su hospedador, se reconocen tres tipos de miasis: accidental o pseudomiasis, que resulta de la ingestión de huevos o larvas que contaminan los alimentos; facultativa, comprende larvas saprófagas o parásitas capaces de infestar tejido vivo de manera oportunista; y obligada, que incluye larvas parásitas que requieren de continuo contacto con un hospedador para su desarrollo (Zumpt, 1965). Otra forma de clasificación de las miasis se basa en la parte del cuerpo del hospedador que las larvas infestan: cutánea, nasofaríngea, ocular, intestinal/entérico y urogenital (Zumpt, 1965). La mayoría de las especies involucradas en la miasis son miembros de dos superfamilias y seis familias de moscas Calyptratae: Muscoidea (Anthomyiidae, Fanniidae y Muscidae) y Oestroidea (Calliphoridae, Sarcophagidae y Oestridae) (Mullen y Durden, 2002).

La miasis es la forma más extendida de invasión del hospedador entre los artrópodos y constituye un problema para la salud de la vida silvestre, especialmente mamíferos, aves, reptiles y anfibios (Mullen y Durden, 2002). A modo de ejemplo, los gusanos barrenadores (*Cochliomyia hominivorax* y *Chrysomya bezziana*) producen miasis obligatorias en heridas expuestas en mamíferos silvestres, especialmente ciervos (Catts y Mullen, 2002). Pueden ocasionar la muerte debido a la invasión de órganos vitales, la septicemia causada por la alimentación de los gusanos o a infecciones secundarias (Woodford, 1992; Spradbery, 1994). Varias especies de moscas azules (*Lucilia* sp., Koskela y col., 1974; *Bufolucilia* sp., Bolek y Coggins, 2002) y la moscas de la carne, *Notochaeta bufonivora* (Crump y Pounds, 1985), parasitan anfibios. Las larvas invaden

las cavidades nasales o las órbitas oculares del hospedador, en cuyo interior se desarrollan, hasta producir la muerte del anfibio, del cual pueden continuar alimentándose (Catts y Mullen, 2002).

De especial relevancia, en el contexto de esta tesis, son las moscas que producen miasis en aves, especialmente en pichones. Las miasis obligadas más comunes en las aves silvestres son la hematófaga, que ocurre cuando las larvas ingieren sangre del hospedador infestado, y la subcutánea, en la cual las larvas permanecen debajo de la piel y se alimentan de los tejidos del hospedador (Little, 2008). Anemia, reducido crecimiento, daño de órganos vitales, morbilidad y mortalidad de sus hospedadores (Arendt, 1985a; Bennett y Whitworth, 1991; Dudaniec y Kleindorfer, 2006), son algunos de los efectos deletéreos que la miasis pueden causar en los pichones hospedadores. Se incluyen en este grupo de parásitos los géneros *Protocalliphora* (Calliphoridae), que se distribuye en el hemisferio norte, extendiéndose por América del Norte hasta el México Neártico, por Europa Paleártica, África del Norte y Asia (Sabrosky y col., 1989), y los múscidos *Passeromyia*, que ocurren en Australia y Asia, y *Philornis*, reportada en los trópicos del Nuevo Mundo (Pont, 1974; Couri, 1999).

Influencia del clima en las interacciones parasitarias.

El curso de la interacción entre un parásito y su hospedador depende de varios factores, tales como la abundancia y la prevalencia de parásitos, la tasa y el modo de transmisión, el efecto de los parásitos sobre la fecundidad y la mortalidad de los hospedadores, así como del nivel de defensa antiparasitaria que exhiben los hospedadores (Combes, 2001). Cada uno de esos componentes de la interacción parasitaria puede estar afectado por las condiciones ambientales, incluidas las climáticas.

Es sabido que el impacto de un parásito sobre su hospedador depende de la intensidad de la infección (Beldomenico y Begon, 2010). En general, la prevalencia y la intensidad de ectoparásitos se suelen correlacionar con las fluctuaciones climáticas. Por ejemplo, Martínez-de la Puente y col. (2009) reportaron mayor abundancia de moscas negras (Diptera: Simuliidae) y jejenes (Diptera: Ceratopogonidae) en nidos de tres especies de Passeriformes cuando la velocidad del viento fue menor, posiblemente porque las altas velocidades del viento pueden dificultar el contacto entre estos parásitos hematófagos y sus hospedadores al reducir la capacidad de vuelo o pueden afectar sus capacidades para la ubicación del hospedador. En un estudio sobre la tasa de infestación de nidos de halcón

de cola roja (*Buteo jamaicens*) por la mosca negra (*Simulium canonicolu*), Smith y col. (1998) hallaron que la abundancia de parásitos disminuyó o cesó cuando la temperatura fue inferior a 14°C, lo que resultó en efectos menos severos sobre los pichones hospedadores. Mientras que, Merino y Potti (1996) encontraron que la prevalencia y la abundancia de tres especies de parásitos de nidos (*Dermanyssus gallinoides*, *C. gallinae*, *Protocalliphora azurea*) fluctuó anualmente, siendo mayor en dos de los tres años de estudio, que se caracterizaron por ser más cálidos y húmedos. Al mismo tiempo, los efectos del parasitismo fueron perjudiciales para el crecimiento y la supervivencia de los pichones (*Ficedula hypoleuca*), pero esos efectos no fueron consistentes a lo largo de los años. Así, el efecto de las condiciones climáticas prevalecientes puede determinar fluctuaciones en la abundancia y la prevalencia del parasitismo, lo cual resulta en impactos altamente variables sobre la salud y el *fitness* del hospedador.

Las tendencias actuales del cambio climático que estamos experimentando, como el calentamiento global, los disturbios en el régimen de precipitaciones y el incremento en la frecuencia e intensidad de los eventos climáticos extremos (ej., huracanes, inundaciones, sequías) (IPCC, 2001), están impactando en la salud de la vida silvestre, con consiguientes efectos nocivos sobre los principales intereses humanos. El cambio climático puede favorecer a los patógenos (por aumento de la proliferación y supervivencia de patógenos y/o vectores) e incrementar la susceptibilidad de los hospedadores a la infección, y así modificar los patrones de las enfermedades infecciosas (Harvell y col., 2002). Varias enfermedades transmitidas por vectores han aumentado su incidencia y rango geográfico en décadas recientes. Por ejemplo, un reciente metaanálisis que abarcó siete décadas de estudio y más de 3000 especies de aves concluyó que la tasa de infección por *Plasmodium* sp. está fuertemente asociada con anomalías en la temperatura y que se ha incrementado con una tendencia acelerada durante los últimos 20 años (Garamszegi, 2011). El calentamiento global podría beneficiar la propagación y extensión de la temporada reproductiva de las poblaciones de mosquitos vectores, y aumentar la tasa de desarrollo y reproducción del patógeno dentro del mosquito (Kovats y col., 2001; Garamszegi, 2011). Un escenario similar se ha observado en enfermedades humanas, como la fiebre del dengue, la fiebre amarilla y la enfermedad de Lyme, y en enfermedades del ganado, como la peste equina africana y el virus de la lengua azul, las cuales han ampliado sus alcances geográficos, generalmente acompañadas por una aparente expansión en los rangos de sus vectores artrópodos (Harvell y col., 2002). El

estudio de la influencia del cambio climático sobre los parásitos y las interacciones parásito-hospedador, adquieren cada vez más relevancia por sus efectos sobre la salud de los animales silvestres y domésticos y sobre la salud pública.

2. *Philornis* Meinert, 1890.

Philornis Meinert, 1890 pertenece a la Familia Muscidae Latreille, 1802, Subfamilia Azeliinae Robineau-Desvoidy, 1830, Tribu Reinwardtiini Brauer y Bergenstamm, 1889 (de Carvalho y col., 2005). En la región Neotropical, *Philornis* es el único género conocido de Muscidae cuyas larvas son parásitas de aves (Couri y de Carvalho, 2003). El primer representante de este género fue descrito por Macquart en 1854 como *Aricia pici* en Santo Domingo, a partir de larvas criadas de *Picus striatus*. Posteriormente, Meinert (1890) propone el género *Philornis*, con una única especie *P. molesta*, sobre la base de larvas parasitarias subcutáneas halladas en un ave brasileña no identificada. Desde entonces se han descrito aproximadamente unas 50 especies de *Philornis* (Dodge, 1955; de Carvalho y col, 1993), distribuidas principalmente en América del Sur y Central, hasta el sur de Estados Unidos (Dodge, 1955; 1968; Spalding y col., 2002).

Los adultos de las especies conocidas de *Philornis* son de vida libre y se alimentan de materia orgánica en descomposición, flores, frutos, etc. (Couri, 1999), pero sus larvas se asocian con pichones de aves altriciales o semi-altriciales (Teixeira, 1999). El comportamiento trófico de la larva y el tipo de asociación que establecen con sus hospedadores, conocidos para 22 especies (Dodge, 1963; Couri, 1983; 1999), se ha dividido tradicionalmente en tres grupos. El grupo Aitkeni incluye especies cuyas larvas coprófagas viven y se desarrollan en el nido de ciertas especies de aves que habitan en cavidades cerradas (Dodge, 1963; Couri, 1999). Se incluyen en este grupo a *P. aitkeni* Dodge, 1963 y *P. rufoscutellaris* Couri, 1983, halladas en Trinidad y Brasil respectivamente. El grupo Falsifica comprende especies con larvas semi-hematófagas que viven libremente en el material del nido de su hospedador, del cual se alimentan raspando su piel y luego ingiriendo sangre y fluidos serosos (Dodge y Aitken, 1968; Teixeira 1999). Se incluyen en este grupo a *P. downsi* Dodge y Aitken 1968 y *P. falsifica* Dodge y Aitken 1968. Por último, Angustifrons agrupa especies cuyas larvas son parásitas subcutáneas obligadas, que se penetran en el integumento del hospedador y residen por debajo de la piel, entre la dermis y la musculatura corporal, dando lugar a la formación de

quistes individuales (miasis- Teixeira, 1999; Spalding y col., 2002). Las larvas se alimentan de restos de tejidos, sangre y fluidos serosos (Dudaniec y Kleindorfer, 2006) y respiran a través de una pequeña abertura que cortan en la piel del hospedador (Skidmore, 1985; Uhazy y Arendt, 1986; Young, 1993). La mayoría de las especies de las que se conocen los hábitos larvarios pertenecen a este grupo (18 especies- Dudaniec y Kleindorfer, 2006).

En Argentina se ha confirmado la presencia de solo cuatro especies de *Philornis* (Couri y col., 2009; Silvestri y col., 2011): *P. torquans* Nielsen, 1913, *P. blanchardi* Garcia, 1952 y *P. seguyi* Garcia, 1952, cuyas larvas producen miasis subcutáneas, y *P. downsi*, con larvas semi-hematófagas.

Aves víctimas del parasitismo de Philornis.

Las larvas de *Philornis* parasitan una gran diversidad de especies de aves neotropicales. Al menos 34 familias, en su mayoría Passeriformes, se han citado como víctimas de este parasitismo (Teixeira, 1999; Quiroga y col., 2012), por lo que algunos autores sostienen que este grupo de moscas presentan patrones generalistas de selección de hospedadores. No obstante, estudios recientes con enfoques filogenéticos hallaron que el género estaría conformado por especies especialistas y generalistas, con diversos grados de especificidad dentro los generalistas (Löwenberg-Neto, 2008; Bulgarella y Heimpell, 2015), lo que pone en duda el carácter generalista de estos parásitos.

Respecto de las larvas subcutáneas de *Philornis*, unas 200 especies de aves se han documentado como hospedadoras dentro del rango de distribución de estas moscas (Teixeira, 1999; Quiroga y col., 2012; Salvador y Bodrati, 2013). Algunas de esas especies presentan sus poblaciones en riesgo de conservación, tales como el guacamayo jacinto (*Anodorhynchus hyacinthinus*) en Brasil (Guedes y col., 1999), la cotorra puertorriqueña (*Amazona vittata*) endémica del archipiélago de Puerto Rico (Arendt, 2000), el cardenal amarillo (*Gubernatrix cristata*) en Argentina (Domiguez y col, 2014), y el gavilán de la Hispaniola (*Buteo ridgwayi*) en República Dominicana (Woolaver y col., 2014), por lo que el parasitismo por *Philornis* podría ser una amenaza potencial para estas especies. Para la Argentina, listas de especies evaluadas y parasitadas por *Philornis* son provistas por Antoniazzi y col. (2011), Quiroga y col. (2012) y Salvador y Bodrati (2013).

Estudios longitudinales realizados sobre una comunidad de aves el centro de la provincia de Santa Fe, en una de las áreas en la que se realizaron los muestreos de la presente tesis, indicaron que *Philornis* parasita preferentemente los pichones de tres especies de aves Passeriformes, el benteveo *Pitangus sulphuratus*, el espinero grande *Phacellodomus ruber* y el espinero chico *Ph. sibilatrix* (Antoniazzi y col., 2011; Manzoli y col., 2013). Estas especies presentaron las abundancias e intensidades parasitarias más altas, por lo que fueron denominadas como las especies hospedadoras preferenciales en las que *Philornis* prolifera (Antoniazzi y col., 2011). Posteriores estudios moleculares revelaron que la especie dominante en esa comunidad de aves es *P. torquans* (Monje y col., 2013).

El ciclo de vida de las Philornis subcutáneas

Como se mencionó previamente, la mayoría de las especies de *Philornis* presentan larvas que producen miasis subcutáneas en pichones de aves. A pesar de que este grupo de moscas tiene un gran potencial de ser un factor limitante para la conservación de algunas especies de aves, aspectos básicos de sus ciclos de vida aún se desconocen. Para ilustrar la magnitud del vacío de información sobre aspectos básicos de la historia natural de estos parásitos, para varias especies de *Philornis* (incluyendo las argentinas) se desconoce si son larvíparas u ovíparas, como así también si las larvas buscan activamente llegar a la piel del hospedador o si, por el contrario, las hembras grávidas ponen sus huevos o larvas directamente sobre el tegumento de los pichones. Claramente, conocer en detalle las distintas fases del ciclo de vida de las especies de *Philornis* de nuestra región resulta crucial para lograr una mejor comprensión de su bio-ecología. A continuación se describe brevemente el estado de conocimiento actual sobre el ciclo de vida de este grupo de moscas, basado en información principalmente observacional sobre unas pocas especies de *Philornis*.

Después de penetrar en la piel de su hospedador, las larvas pasan por un período de desarrollo y crecimiento, que se extiende por 4 a 6 días, en el que alcanzan 1 cm o más de longitud (Fraga, 1984; Skidmore, 1985; Delannoy y Cruz, 1991; Spalding y col., 2002). Luego de pasar por tres estadios larvales, las larvas maduras salen del hospedador y caen en el material del nido para pupar (Dodge, 1971; Skidmore 1985). Si el hospedador muere antes de que las larvas estén completamente desarrolladas, estas lo abandonan inmediatamente y pueden comenzar la pupación (Kinsella y Winegarner, 1974; Spalding y col., 2002). Las pupas permanecen debajo del material del nido y algunas especies

suelen agregarse por medio de una sustancia esponjosa que adhiere pasto, granos de arena y partículas para formar un capullo esponjoso, estructura posiblemente relacionada con la protección de las pupas del ataque de microhimenópteros (Texeira, 1999). Los adultos usualmente emergen del pupario luego de 5 a 20 días, dependiendo de la especie (Delannoy y Cruz, 1991; Couri, 1999; Spalding y col., 2002).

Respecto de la biología reproductiva de *Philornis*, existe controversia sobre la viviparidad-oviparidad del género, debido al escaso número de datos empíricos y estudios sobre el ciclo de vida de estas moscas. Algunos autores (Arendt, 1985a; Couri, 1999) sugirieron que los huevos o las larvas ya incubadas se colocan en el material del nido y luego estas buscan a su hospedador. Hasta ahora, la oviparidad se observó solo para las larvas coprófagas de vida libre de *P. rufoscutellaris* (Couri, 1983) y para dos especies con larvas semi hematófagas de vida libre: *P. downsi* (Lincango y Causton, 2008) y *P. falsificus* (Dodge y Aitken, 1968).

Las especies subcutáneas de *Philornis* y sus hospedadores se han identificado como sistemas formidables para estudiar la ecología de las interacciones parásito-hospedador en la naturaleza (Manzoli y col., 2013). Esto se debe a que las larvas permanecen en el mismo lugar desde que ingresan al pichón hasta que lo abandonan, son fácilmente visibles, lo que simplifica la detección de casos, y los hospedadores permanecen en el nido desde el nacimiento hasta que vuelan, permitiendo el seguimiento longitudinal. Sin embargo, una gran limitación para su uso como sistemas modelo reside en la escasez de datos sobre el ciclo de vida de estos parásitos. La única especie del género con datos considerables sobre su ciclo de vida, incluso con información sobre la biología reproductiva de los adultos, es *P. downsi* (Feesl y col., 2006; Lincango y Causton, 2008; Dudaniec y col., 2010). Esta mosca fue accidentalmente introducida en las Islas Galápagos (Fessl y col., 2001) y se considera la principal amenaza para la conservación de los pinzones de Darwin (Causton y col., 2006; 2013; O'Connor y col., 2010; Kleindorfer y Dudaniec, 2016). Contrariamente a la mayoría de las especies de *Philornis*, las larvas de *P. downsi* son semi-hematófagos viven libremente en el material de anidación del hospedador (Dudaniec y Kleindorfer, 2006); por lo que las comparaciones con las especies subcutáneas pueden ser inconvenientes.

Las investigaciones sobre las especies de *Philornis* subcutáneas en el sur de Sudamérica, se han enfocado principalmente en temas taxonómicos (Skidmore, 1985; Couri, 1999;

Couri y de Carvalho, 2003) o en la asociación *Philornis*-hospedador (Nores, 1995; Rabuffetti y Reboveda, 2007; Antoniazzi y col., 2011; Quiroga y Reboveda, 2012; Manzoli y col., 2013). Los únicos datos disponibles sobre el ciclo de vida de estos parásitos corresponden a *P. seguyi* (duración y supervivencia de los estados de larva, pupa y adulto, Quiroga y Reboveda, 2013). Develar aspectos del ciclo de vida de estos parásitos es crucial para lograr una mejor comprensión de la ecología de *Philornis* y para dilucidar cómo su ciclo de vida se ajusta con el de sus hospedadores. En este trabajo se proporcionan datos experimentales sobre aspectos biológicos y reproductivos de *P. torquans*.

3. Temperatura e hibernación en Dípteros.

El clima ejerce un substancial impacto sobre la vida en la tierra. Los patrones globales de temperatura, precipitación, humedad relativa, vientos y radiación solar establecen los límites fisiológicos que determinan qué organismos pueden existir en ciertos hábitats (Stange y Ayres, 2010). En una escala local, los componentes del clima influyen sobre la reproducción, el comportamiento, la fenología y la supervivencia de los individuos (McCarty y col., 2009). La influencia del clima puede ser directa, sobre el metabolismo y el desarrollo del individuo, o indirecta, cuando altera el hábitat o la forma en que las especies interactúan (Stenseth y col., 2002).

En los insectos, por su característica de ectotermos, la temperatura ha demostrado desempeñar un rol fundamental en la regulación de los ciclos de vida y de los fenómenos fisiológicos. Existe una rica y numerosa literatura científica que aborda los efectos de la temperatura en una variedad de especies de insectos sobre aspectos tales como el desarrollo de los estadios del ciclo de vida, la capacidad de adquirir tolerancia a condiciones extremas o la tasa de supervivencia (Gillooly y col., 2002; Guilles y col., 2005; Radmacher y Strohm, 2011; Wallingford y col., 2016). Estos estudios proporcionan una base para describir como los insectos responden a las tendencias climáticas recientes.

Pese a que los insectos tienen una habilidad limitada para regular su temperatura corporal, han desarrollado una amplia variedad de estrategias para hacer frente a variadas condiciones climáticas. En ambientes extremos de baja temperatura, los insectos resisten al frío mediante el desarrollo de mecanismos fisiológicos, bioquímicos y

comportamentales que les permiten tolerar la congelación parcial de sus tejidos y fluidos corporales o evitar tales efectos para poder sobrevivir. Algunos de esos mecanismos comprenden la síntesis de sustancias crioprotectoras, la retención de la actividad de nucleación de hielo durante todo el año, la reducción del contenido de agua corporal, el aumento del contenido de grasa, la cesación de la alimentación y la evacuación del sistema digestivo para eliminar el material alimenticio que podría actuar como nucleadores de hielo, y la ubicación de un sitio de invernada (Bale, 2002). En climas templados y fríos, muchas especies entran en estado de latencia en respuesta a cambios climáticos predecible, pudiendo ocurrir esto durante el invierno, en cuyo caso se denomina diapausa, o durante el verano, proceso llamado estivación o diapausa de verano (Muller, 1970). Tauber y col. (1986) caracterizaron a la diapausa como un estado dinámico altamente dependiente de las condiciones ambientales, mediado por neurohormonas, de baja actividad metabólica asociada a una morfogénesis reducida, una mayor resistencia a extremos ambientales y una actividad conductual alterada o reducida. Mediante la diapausa los insectos sincronizan su ciclo vital con el momento en que las condiciones de temperatura son favorables para el desarrollo y la reproducción, y los recursos son más abundantes (Wharton, 1999).

Los Muscidae pueden hibernar de diferentes maneras. Algunas especies persisten durante el invierno en sustratos protegidos y semielaborados asociados con humanos y con el ganado. Otras pueden hibernar como adultos debajo de la corteza de los árboles muertos y del revestimiento de los edificios o pueden entrar en diapausa, ya sea en la fase de huevo, larva, pupa o adulto. Mientras que unas pocas se dispersan hacia latitudes que permanecen tibias durante el invierno (Hughes, 1977; Hall y Gerhardt, 2002).

En las especies de *Philornis*, el estado de desarrollo que sobrevive durante los períodos estacionales de bajas temperaturas se desconoce. Al mismo tiempo, como las larvas dependen del ciclo reproductivo de las aves, la disponibilidad de hospedadores adecuados para la infestación puede ser escasa durante la época de frío. Dodge (1971) y Guimarães y col. (1983) sugieren que la diapausa ocurre en el estado de pupa, cuyo desarrollo terminaría con el inicio de una nueva temporada reproductiva de su hospedador. No obstante, no existen datos publicados sobre el desarrollo y la sobrevivencia de las pupas de *Philornis* en las condiciones térmicas que se registran fuera de la temporada reproductiva de las aves.

En los dípteros ciclórrafos, entre los que se encuentran las moscas *Philornis*, el desarrollo de la pupa comprende dos procesos: la pupariación y la pupación. Durante el proceso de pupariación las larvas se retraen y oscurecen para formar una cubierta protectora, el pupario, en cuyo interior se produce la transformación de la larva en adulto. El proceso de pupación implica un abrupto cambio en la forma del individuo, que pasa de una larva ápoda y acéfala a un individuo con cabeza y apéndices (Yeates y Wiegmann, 2005). Evaluar experimentalmente el efecto de la temperatura sobre esos parámetros podría contribuir a dilucidar los mecanismos de hibernación que ocurren en las moscas *Philornis*.

4. Impacto de *Philornis* sobre sus hospedadores y determinantes de la infestación.

Varios estudios han registrado el impacto de las larvas de *Philornis* sobre los pichones de las aves. La mayor evidencia del daño producido por *Philornis* sobre sus hospedadores fue documentada en las islas Galápagos, donde el impacto por el parasitismo de la introducida *P. downsi* provocó una severa mortalidad en los pichones de los pinzones de Darwin (Dudaniec y Kleindorfer, 2006; Huber, 2008). Las larvas semi-hematófagas de *P. downsi* afectan el crecimiento y la sobrevivencia de unas 16 especies endémicas de las islas (Causton y col., 2013; Kleindorfer y col., 2014). Algunas de estas especies tienen distribuciones altamente restringidas y están al borde de la extinción, como el pinzón de manglar (*Camarhynchus heliobates*) cuya población se estima en unos 80 individuos (Causton y col., 2013). Los valores publicados sobre la mortalidad en el nido varían entre un 3 y 100% según la especie infestada, con una mortalidad promedio de $55 \pm 6\%$ en todos los años, (Kleindorfer y Dudaniec, 2016). También se han reportado otros efectos, como reducción en la masa corporal (Fessl y col., 2006), en la longitud de plumas (Koop y col., 2011) y en la concentración de hemoglobina (Dudaniec y Kleindorfer, 2006). En otras áreas de distribución de *P. downsi*, como Brasil (Couri, 1999), Trinidad y Tobago (Dodge y Aitken, 1968), Argentina (Silvestri y col., 2010) y Ecuador (Bulgarella y col., 2015), los efectos que producen en las aves que parasita son desconocidos.

Respecto de las especies de *Philornis* que producen miasis cavitarias, algunos estudios observacionales han investigado efectos letales y subletales sobre sus hospedadores. Arendt (1985b) reportó que la mortalidad de los pichones de azotador de ojos perlados

(*Margarops fuscatus*) infestados por *P. deceptiva* fue cercana al 50% durante un período de estudio de 4 años. Posteriormente, Rabuffetti y Reboreda, 2007 hallaron que las lavas de *P. seguyi* produjeron una disminución significativa del crecimiento y la sobrevivencia de los pichones de calandria común (*Mimus saturninus*). La misma especie de parásito causó efectos similares en los pichones de cardenal (*Paroaria coronata*) (Segura y Reboreda, 2011) y de ratona (*Troglodytes aedon*) (Quiroga y Reboreda, 2012b). Un estudio sobre una comunidad de aves de bosque indicó una fuerte asociación negativa entre la intensidad de larvas de *P. torquans* y la tasa de crecimiento y la probabilidad de supervivencia de los pichones (Antoniazzi y col., 2011). Otros estudios también han observado efectos perjudiciales del parasitismo sobre la mortandad de la nidada, pero la especie de *Philornis* involucrada es desconocida (Fraga, 1984; Delannoy y Cruz, 1991; Dominguez y col., 2014; Ibañez y col., 2015).

En muy pocas investigaciones sobre el impacto del parasitismo de *Philornis*, se controló la presencia de posibles variables enmascaradoras o se analizaron posibles interacciones. Esto hace que las asociaciones encontradas con *Philornis* puedan ser espurias, o que el efecto no se pueda distinguir de la de otros factores también asociados con el parásito. Por ejemplo, Dudaniec y col. (2007) observaron que la intensidad de parasitismo de *P. downsi* fue mayor en años de mayor precipitación. Los autores argumentaron que hubo una respuesta positiva de la abundancia de hospedadores a las mayores lluvias, y no que la lluvia o la temperatura per se, eran probablemente el principal determinante de la intensidad de *P. downsi*. Sin embargo, recientes análisis multivariados de fluctuación intra-anual de la intensidad de parasitismo hallaron que mayor precipitación y temperatura precedían mayor cantidad de larvas de *P. torquans*, seguido de un incremento de la mortalidad de los pichones, independientemente de las densidades pasadas y presentes de hospedadores (Antoniazzi y col., 2011; Manzoli y col., 2013). Ignorar en el análisis de datos factores como la temperatura y la precipitación puede, por lo tanto, producir sobreestimaciones del impacto de *Philornis* sobre sus hospedadores. Como el impacto de un parásito sobre un hospedador parece ser contexto-dependiente (Brown y col., 2003), se vuelve necesario sumar estudios que examinen con mayor detalle la influencia de la variabilidad climática sobre esta parasitosis.

Desde el año 2008, nuestro grupo de trabajo estudia la eco-epidemiología de estos parásitos en un bosque nativo de la provincia de Santa Fe (Argentina) (Antoniazzi y col., 2011; Manzoli y col., 2013), con el objeto de evaluar su importancia e impacto, y la

influencia de determinados factores ambientales. Considerando los antecedentes enunciados, en esta tesis se indagaron algunos aspectos del ciclo de vida de *P. torquans*, y como varían estos con diferentes combinaciones de temperatura y humedad. También se evaluó si variaciones en factores climáticos seleccionados influyen sobre el impacto de *P. torquans* en sus hospedadores. La información generada permitirá mejorar la comprensión de la ecología de este parásito y, consecuentemente, su uso en el estudio de la interacción parásito-hospedador en la naturaleza. Los datos obtenidos en esta tesis también proporcionarán información esencial para predecir y minimizar el impacto de *Philornis*.

OBJETIVOS E HIPÓTESIS DE TRABAJO

Objetivos Generales

1. Obtener información sobre los ciclos de vida de las especies de *Philornis* que predominan en la región.
2. Estudiar en condiciones controladas los efectos de la temperatura y la humedad sobre el desarrollo, éxito reproductivo y sobrevivencia de las especies de *Philornis* estudiadas.
3. Evaluar en condiciones naturales si variaciones en el clima tienen influencia sobre la severidad de los efectos del parasitismo.

Objetivos Específicos

1. Describir aspectos del ciclo de vida de *P. torquans* en condiciones de cría de laboratorio: tiempo de desarrollo larval y pupal, supervivencia en cada etapa, y parámetros reproductivos.
2. Determinar experimentalmente cómo diferentes combinaciones de temperatura y humedad afectan los ciclos de vida en condiciones controladas.
4. Establecer mediante estudios observacionales longitudinales si el efecto del parasitismo sobre la sobrevivencia, crecimiento, condición corporal y parámetros hematológicos de *Ph. ruber*, *Ph. sibilatrix* y *Pi. sulphuratus* dependen de variaciones en factores climáticos.

Hipótesis de trabajo

Por los antecedentes expuestos en el Apartado 3 de la Introducción se espera que, bajo la influencia de bajas temperaturas, se prolongue el estado de pupa sin afectar la sobrevivencia de los individuos. En virtud de esto se trabajarán las siguientes hipótesis:

1. La temperatura tiene un efecto diferencial sobre la duración de desarrollo de las pupas de *P. torquans*.
2. Los individuos de *P. torquans* presentan períodos de pupariación y pupación más largos cuando se los expone a bajas temperaturas.
3. La temperatura no tiene un efecto diferencial en la mortalidad de las pupas.

MATERIALES Y MÉTODOS

A fin de responder a los objetivos planteados se realizaron dos estudios experimentales en condiciones de laboratorio y un estudio observacional a campo. Los estudios experimentales se iniciaron a partir de individuos de *P. torquans* colectados de hospedadores infestados. Mientras que en el estudio a campo se siguieron intensivamente nidos de aves de las especies frecuentemente parasitadas por *P. torquans*.

1. Consideraciones éticas.

Todos los procedimientos realizados en el marco de esta tesis se desarrollaron según lo expresado en “Guide for the care and use of laboratory animals” (ILAR, 2010). Los protocolos de trabajo fueron aprobados por el Comité Asesor de Ética y Seguridad de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Litoral, bajo los números 01/2008 y 327/16, en el marco de los proyectos “Pichones parasitados por *philornis*: significancia y potencial efecto del cambio climático” y “*Philornis* (Diptera: Muscidae) como modelo para estudios ecoepidemiológicos: caracterización genética, preferencia de hospedadores y estudios poblacionales”.

2. Caracterización de las áreas de estudio.

El trabajo se realizó en dos parches de bosques nativos localizados en el centro de la provincia de Santa Fe (Argentina), a la vera del río Salado (Figura 1A). Uno de los sitios corresponde a la Reserva Natural “Méd. Vet. Martín R. de la Peña” (31°23’S; 60° 55’O) (de aquí en más Reserva Natural), cercano a la ciudad de Esperanza, y el otro es un campo privado conocido como “Mihura” (31° 30’S, 60° 47’O), próximo a la ciudad de Recreo (Figura 1B). Ambos sitios representan relictos de la Provincia fitogeográfica del Espinal (Cabrerá, 1994) y poseen sectores de bosque y bajos inundables. Los bosques comprenden relictos caducifolios dominados por árboles de tamaño medio, como chañares (*Geoffroea decorticans*), quebrachos blancos (*Aspidosperma quebracho blanco*), aromos (*Acacia caven*), algarrobos (*Prosopis alba*), curupíes (*Sapium haematospermum*) y talas (*Celtis tala*). Algunos sectores del bosque están dominados por

acacia negra (*Gleditsia tiracantos*, especie introducida) y chilca (*Tessaria dodoneaefolia*). El sector de bañado posee comunidades de juncos (*Schoenoplectus californicus*) y espartillo (*Spartina argentinensis*). El clima en esta región es Pampeano templado, con una temperatura media anual de 18°C, con mínimas medias de 12.3°C y máximas medias de 24.8°C, y precipitaciones que promedian los 990 mm anuales, concentradas mayormente en la época estival (www.climayagua.inta.gov.ar). Estos bosques sirven como sitio de nidificación para unas 100 especies de aves, en su mayoría Passeriformes (de la Peña, 2005a), y *P. torquans* parece ser la única especie allí presente (Monje y col., 2013).

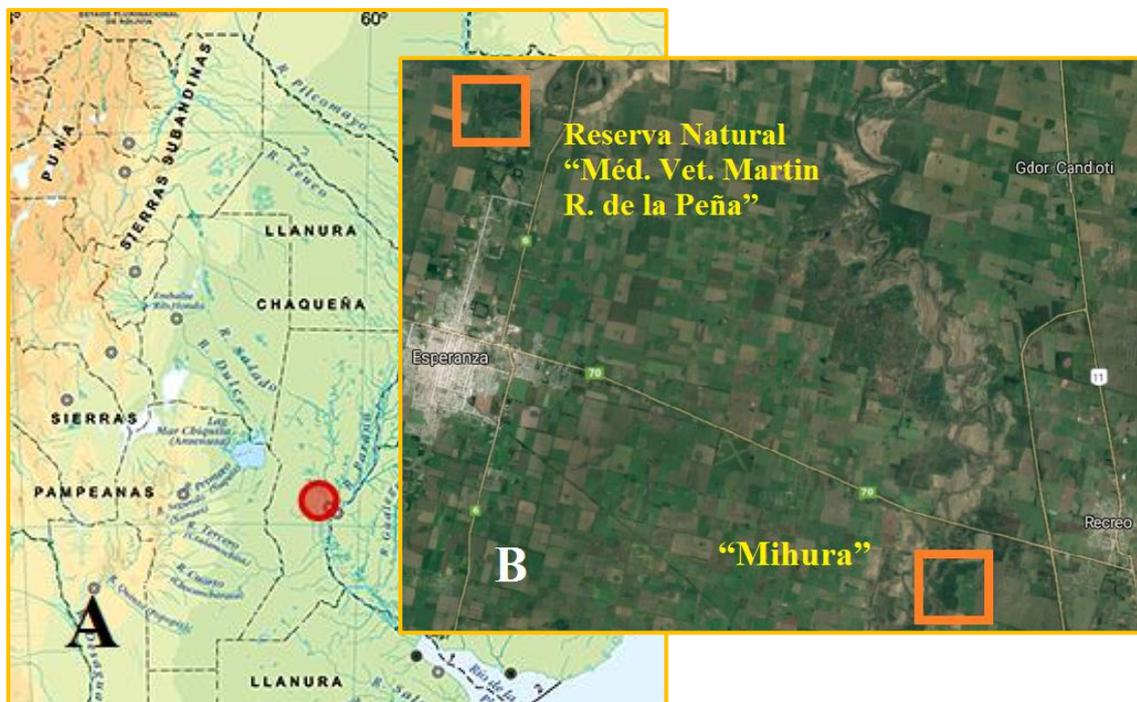


Figura 1. Ubicación geográfica del área de estudio (círculo rojo) (A) y foto satelital de la Ruta Prov. N° 70, en el tramo que une las ciudades de Esperanza y Recreo, en la que se destacan los sitios de estudio (recuadros naranja) (B).

3. Estudio sobre el ciclo de vida de *P. torquans* bajo condiciones de cría de laboratorio.

3.1 Colecta de estadios inmaduros y desarrollo de adultos.

Para obtener datos sobre el ciclo de vida de *P. torquans* se colectaron larvas del último estadio de desarrollo de pichones infestados. Se consideraron pertenecientes a ese estadio las larvas que alcanzaban los 15 mm de longitud (Skidmore, 1985) Los muestreos se realizaron tres veces por semana en la Reserva Natural durante las temporadas reproductivas de las aves de 2013-2014, 2014-2015 y 2015-2016 (setiembre-abril). En las tres temporadas de estudio, la colecta de ejemplares de *P. torquans* comenzó la primera quincena de octubre y finalizó la primera semana de abril. El total de larvas que se colectó diariamente por hospedador no excedió del 20% de la carga parasitaria total. Esa cantidad se seleccionó arbitrariamente para minimizar posibles efectos de la extracción de larvas sobre la dinámica poblacional de *P. torquans*.

Las larvas se extrajeron cuidadosamente de sus hospedadores utilizando pinzas finas de laboratorio (Figura 2A). A pocas horas de la remoción del hospedador (4-6 hs), las larvas fueron llevadas al Laboratorio de Ecología de Enfermedades (IciVet, CONICET-UNL). Durante el traslado, las larvas se conservaron individualmente en pequeños recipientes que contenían algodón humedecido en agua destilada. En el laboratorio se criaron en una habitación con luz natural bajo condiciones controladas de temperatura y humedad ($26\pm 1^{\circ}\text{C}$; $65\pm 15\%$). Cada larva se colocó individualmente en un recipiente de plástico de 25 cm^3 que contenía trozos de papel tisú, para que se desarrolle la pupa (Figura 2B). Los recipientes se examinaron diariamente para detectar la presencia de pupas o adultos y documentar la mortalidad. Adicionalmente, se colectaron 71 pupas halladas en nidos de hospedadores, las cuales se expusieron a las mismas condiciones descritas anteriormente con el propósito de obtener más adultos. Los individuos colectados recibieron una identificación única para hacer el seguimiento de su desarrollo. Para todos los individuos se registró la fecha de colecta, la especie y la Id del pichón hospedador, el estadio de colecta y el peso en gramos (balanza marca OHAUS de 0.001 g de precisión).

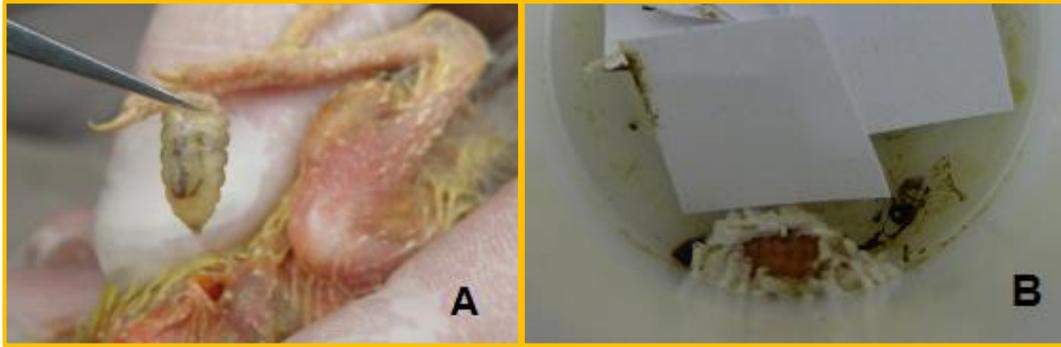


Figura 2. Extracción de una larva del último estadio de *P. torquans* de un pichón infestado de *Pi. sulphuratus* (A). Pupa de *P. torquans* en formación donde se aprecia una secreción esponjosa blanquecina (B).

Las larvas colectadas en la temporada reproductiva 2015-2016 fueron sometidas a diferentes regímenes de temperatura y humedad (objetivo 2), por lo que no se consideran aquí para contribuir con datos sobre la etapa de pupa.

3.2 Condiciones de mantenimiento de los adultos y manejo de los huevos.

Los adultos emergidos durante las tres temporadas de estudio fueron sexados después de la emergencia siguiendo a Couri (1999). Para explorar la biología reproductiva y el comportamiento de las moscas, se colocó una hembra y un macho procedentes de diferentes nidadas hospedadoras en envases de plástico translúcido de 250 ml. Las condiciones de la habitación fueron iguales a las mencionadas anteriormente. Los adultos fueron alimentados una vez al día con una dieta consistente en agua (17 ml), jugo de naranja (45 ml), azúcar (5.7 g) y proteína hidrolizada (2 g) (dieta adaptada de Lincango y Causton, 2008), provista en tubos ependorf de 1.5 ml. Diariamente, las parejas de adultos fueron inspeccionadas para registrar la supervivencia y la actividad reproductiva. Después de la muerte, algunos especímenes adultos se conservaron en etanol al 70% mientras que otros se preservaron en seco.

Los primeros huevos de *P. torquans* se encontraron en diciembre de 2013 en el interior de los recipientes. Para retirar los huevos de los recipientes se utilizó un pincel de punta fina humedecido en agua destilada. Los huevos fueron colocados en placas de Petri de vidrio de 5 cm de diámetro y mantenidos bajo las mismas condiciones que los adultos. Cada placa de Petri fue rotulada con la fecha de postura, el número de huevos y la Id de

la hembra. Dos veces al día se inspeccionaron las cajas de Petri en búsqueda de larvas recién nacidas. Los huevos que no nacieron en 12 días fueron considerados infértiles y conservados en etanol al 70%. Algunos huevos fueron recolectados y preservados el mismo día en que fueron puestos en etanol al 70% para estudiar y describir la morfología.

4. Estudio experimental del efecto de la temperatura sobre el desarrollo de la pupa de *P. torquans*.

Para este estudio se utilizaron larvas del último estadio de desarrollo colectadas durante la temporada reproductiva 2015-2016. La búsqueda de hospedadores infestados se realizó tres veces por semana en la Reserva Natural. Se siguió el mismo procedimiento de extracción y transporte de las larvas que el detallado anteriormente (Apartado 3.1).

Las larvas colectadas se originaron de 30 pichones infestados (16 nidadas) pertenecientes a 9 especies hospedadoras: *Cacicus solitarius*, *Furnarius rufus*, *Molothrus bonariensis*, *Pa. coronata*, *Ph. ruber*, *Pi. sulphuratus*, *Schoeniophylax phryganophilus*, *T. aedon* y *Turdus amaurochalinus*.

Tratamiento

Se establecieron tres niveles de temperaturas como tratamiento: 15°, 18° y 30°C. Las temperaturas utilizadas de 18° y 15°C corresponden a los promedios de las temperaturas medias mensuales de los meses de abril y mayo, respectivamente, durante los últimos 9 años en el sitio de estudio. La temperatura de 30°C se utilizó como control negativo.

Durante los dos primeros meses del experimento (noviembre y diciembre) se colectaron 252 larvas, 126 fueron incubadas a 18° y las 126 larvas restantes a 30°C. Luego, en los meses de enero y febrero se colectaron 58 larvas, que fueron asignadas en partes iguales a 15° y 30°C de temperatura de incubación. De cada pichón hospedador se procuró obtener un número par de larvas, que se repartieron en cantidades iguales en los grupos tratamiento (15° o 18°C) y control. Cabe aclarar que la disponibilidad de pichones parasitados por larvas de último estadio condicionó el número de larvas utilizadas en los ensayos.

✚ Procedimiento.

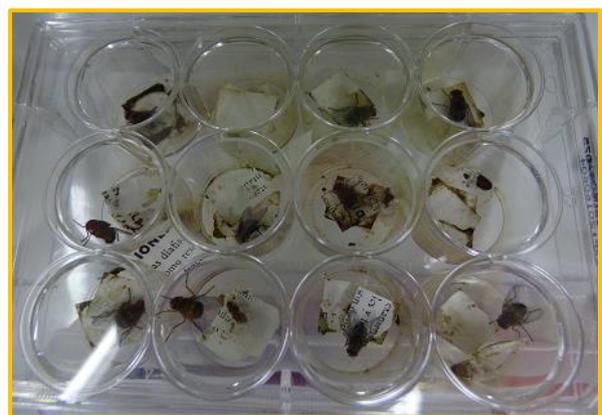
Los experimentos se realizaron en dos incubadoras (marca Ingelab, modelo I-121 PH) (Figura 3) mantenidas a temperaturas constantes $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ y a 60-70% de humedad, bajo un fotoperiodo aproximado de 14:10 (luz: oscuridad) horas. Se utilizaron placas plásticas de cultivo de 12 pocillos para alojar a las larvas, colocando una por pocillo (Figura 4). Pevio a la exposición al tratamiento, las larvas fueron pesadas con balanza de precisión 0.001 g. Las larvas que se extrajeron de un mismo pichón se repartieron en partes iguales en dos placas. Posteriormente, las placas fueron numeradas y se asignaron a cada tratamiento asegurando que todas las larvas extraídas de un mismo pichón hospedador no estuvieran expuestas a una misma temperatura.

Las placas se revisaron inicialmente dos veces al día para detectar la presencia de pre-pupas y así poder estimar la duración del período de pupariación. Luego de formadas las pupas, las placas se examinaron cada 24 hs para observar la emergencia de los imagos y estimar la duración del período de pupación (fase de pupa). Para cada tratamiento se registró la cantidad de individuos que puparon exitosamente, la cantidad de pupas de las que no emergieron imagos y el número total de imagos obtenidos.



Figura 3. Incubadoras donde se realizaron los experimentos con pupas de *P. torquans*.

Figura 4. Placas de cultivo con imagos de *P. torquans* de eclosión reciente.



5. Estudio observacional del efecto de factores climáticos sobre el impacto del parasitismo de *P. torquans* sobre sus hospedadores.

Para establecer si el efecto de *P. torquans* sobre el crecimiento, la condición corporal, los parámetros hematológicos y la sobrevivencia de los pichones depende de variaciones climáticas, se realizó un seguimiento intensivo de las nidadas de *Ph. ruber*, *Ph. sibilatrix* y *Pi. sulphuratus* durante los meses de setiembre a abril de las temporadas reproductivas 2008 a 2010 y 2012 a 2016, totalizando 6 temporadas de estudio. Los muestreos para todas las temporadas comenzaron la semana del 14 de setiembre y finalizaron cuando no se detectaban más nidos con huevos y/o pichones por un lapso de 7 días (última semana de abril o primera semana de mayo).

Los datos colectados durante las temporadas 2008 a 2010 se obtuvieron en el marco del proyecto “Pichones parasitados por *Philornis* (Diptera: Muscidae): importancia y potencial efecto del cambio climático”, correspondiente a la tesis doctoral del Dr. Dario Manzoli. En esa instancia el trabajo de campo se realizó en la Reserva Natural y en Mihura. En el resto de las temporadas, 2012 a 2016, el trabajo se realizó sólo en la Reserva Natural.

5.1 Especies de aves estudiadas.

Los espineros (*Phacellodomus*) son uno de los principales géneros de furnáridos de tierras bajas de hábitats semiabiertos tropicales y subtropicales del sur de Sudamérica (del Hoyo y col., 2003). En nuestro país están representados por 6 especies (Narosky e Yzurieta, 2003), de las cuales el *Ph. ruber* y *Ph. sibilatrix* residen permanentemente en la Provincia de Santa Fe (Fandiño y Giraudo, 2010). Ambas especies son bastante coincidentes en sus distribuciones y hábitats, hallándose también en las provincias de Formosa, Tucumán, Chaco, Corrientes, Misiones, Entre Ríos y Norte de Buenos Aires (del Hoyo y col., 2003). Sus distribuciones se extienden a los territorios de Bolivia, Paraguay, Brasil y Uruguay (del Hoyo y col., 2003; Bellagamba y Bellagamba de Oliveira, 2012). Suelen habitar bosques, praderas arboladas y sabanas (de la Peña y col., 2007). *Phacellodomus ruber* también frecuenta selvas en galería y matorrales ribereños. Sus dietas incluyen principalmente coleópteros, formícidos y arácnidos (del Hoyo y col., 2003; Alessio y Beltzer, 2010). En la región del Espinal el período reproductivo de *Ph. ruber* se extiende desde setiembre a enero, mientras que *Ph. sibilatrix* se reproduce desde setiembre hasta marzo (de la Peña, 2005b). Ambas especies construyen elaborados nidos

colgantes de fácil localización y acceso. En la construcción del nido utilizan ramas de árboles generalmente espinosos y material blando como pasto y plumas para la cámara de postura. Típicamente colocan hasta 4 huevos, excepcionalmente 5 en *Ph. ruber*, que incuban por 16-17 días, y los pichones permanecen en el nido por un período de 15 a 17 días (de la Peña, 2005b).

Pitangus sulphuratus es un tiránido de amplia distribución, hallándose desde el sur de Estados Unidos hasta el sur de Argentina (Ridgely y Tudor, 1994). Ocupa diversos hábitats naturales semiabiertos, rurales y urbanos. Es un ave muy común y conspicua en toda su distribución. En Argentina habita desde el norte del país hasta las provincias de Neuquén, Chubut y Santa Cruz (de la Peña, 2013). Su dieta es muy amplia, incluye insectos, frutos y semillas, peces, crustáceos, moluscos, arácnidos y anfibios (Latino y Beltzer, 1999). Construyen grandes nidos de pasto, globulares o abovedados, en sitios altos y expuestos. La puesta es de 3 a 5 huevos que incuban durante 17 días. Los pichones abandonan el nido a los 17-18 días de vida (de la Peña, 2005b).

5.2. *Búsqueda, monitoreo de nidos y colecta de datos.*

Los sitios de estudio se exploraron semanalmente en forma exhaustiva en la búsqueda de nidos activos de las especies estudiadas. Los muestreos comenzaban después del amanecer y finalizaban a las 14 hs aproximadamente, con una duración media de 7 hs. Durante la búsqueda se procuró recorrer toda el área inspeccionando la vegetación y estando alerta a observar comportamientos de individuos adultos y jóvenes que pudieran indicar la ocupación de un nido. Los nidos hallados fueron geo-referenciados, mediante el uso de GPS (Sistema de Posicionamiento Global), y marcados con bandas plásticas con un código único para cada nido, posicionadas a distancias prudentes de los mismos. Para observar el contenido de los nidos de benteveos se accedió por la boca, pero en el caso en los nidos de espineros se realizó un orificio a la altura de la cámara de postura para poder introducir la mano. Finalizada la inspección, se cubría el orificio con bolsas de nylon (para impermeabilizarlo) y ramitas. Las bolsas se retiraban luego cuando el nido dejaba de tener actividad para que pudiera ser reutilizado.

Para evitar que la manipulación de los nidos y los pichones pudiera incrementar el abandono de la nidada por parte de los padres o la predación de los pichones, el acceso a los nidos se realizó por diferentes caminos en cada visita (día de muestreo), se procuró no modificar el ambiente alrededor del nido, no permanecer en la proximidad de los nidos

por períodos de tiempo prolongados, y se verificó la ausencia de aves predatoras (por ejemplo *Guira guira*).

Las nidadas detectadas fueron monitoreadas cada 2 o 3 días y cada pichón fue examinado repetidamente, desde la eclosión hasta su ausencia. Se procuró manipular los pichones cuidadosamente y en el menor tiempo posible, utilizando guantes de látex. Si los padres mostraban signos de alarma (intento de ataque, vocalizaciones de alerta, etc.), el trabajo cesaba y se colocaban los pichones nuevamente en el nido.

En la primera visita que se realizaba, los pichones fueron marcados para identificarlos mediante cortes en las uñas de la pata derecha. Los datos colectados de cada pichón en cada visita incluyeron: fecha, especie nidificante (especie que correspondía a los padres de los pichones), especie del pichón, edad, peso corporal, longitud del tarso, índice de masa corporal, tamaño de la nidada, cantidad, tamaño y ubicación de las larvas de *Philornis*, presencia de otros ectoparásitos. La edad se determinó en días desde la eclosión. Cuando la fecha de eclosión no pudo ser determinada, la edad se estimó a partir de alguno de los hermanos del nido cuya eclosión se observó. El peso corporal se estableció en gramos con una balanza digital de (precisión de 0.1 g). La longitud del tarso se midió con calibre (precisión de 0.5 mm) desde la articulación doblada del tibio-tarso hasta las articulaciones de los dedos doblados hacia atrás, como un estimativo del tamaño del cuerpo (Winker, 1998). El índice de masa corporal se calculó como el cociente entre el peso corporal y la longitud de tarso. Se registró el número de larvas que contenía cada pichón, como cantidad total y diferenciada en tres tamaños: L1 (más pequeñas, hasta 4 mm de largo), L2 (tamaño intermedio, entre 4 y 7 mm de longitud) y L3 (más grandes y de último estadio, más de 7 mm), y la ubicación corporal de cada larva. En estudios previos se observó la presencia de piojos y de ácaros, los primeros fueron clasificados como presentes/ausentes, mientras que los segundos se clasificaron de 0 a 3 (desde ausentes a muy abundantes).

Se registraron otros factores que, por su posible asociación con la variable respuesta, podían ser potenciales modificadores de efecto, tales como la altura del nido en metros desde el suelo, la especie de árbol que soporta el nido, la composición del material externo del nido (pasto, palos o pequeñas ramas), de la cámara de postura (palos, material blando como plumas y pelos, pasto o fibras vegetales) y la comunidad de vegetación circundante al micro-hábitat del nido. Además, se registró la semana de

estudio, designando como semana 1 a la correspondiente al 14 de setiembre de cada temporada. Los datos climáticos, temperatura máxima, media y mínima del aire, humedad relativa y precipitación, fueron provistos por la Estación Meteorológica-FCA-UNL (estación automática Pegasus EP2000), localizada 7 km al sur de la Reserva Natural.

5.3 Procesamiento de las muestras de sangre en el laboratorio.

Semanalmente se extrajo una muestra de sangre de los pichones, desde que presentaban 2 días de edad hasta que desaparecían del nido. La extracción se realizó mediante un corte de los dos tercios de una uña de la pata izquierda, procurando en la próxima colecta cambiar de dedo para minimizar posibles efectos de cambios celulares, debido a procesos inflamatorios de reparación de la uña cortada.

Para evitar que se produzcan alteraciones hematológicas producto de la manipulación (Romero y Reed, 2005), se procuró que la extracción de sangre fuera la primer actividad a realizar luego de extraer el pichón del nido. En cada extracción se colectó entre 7 y 10 μ l de sangre entera mediante tubos de microhematocrito heparinizados, que se transportó en cajas refrigeradas para su posterior procesamiento. Cabe aclarar que la cantidad de sangre extraída correspondió como máximo al 0.3% del peso corporal, ya que se recomienda no extraer más del 1% del peso vivo (Campell, 1997). En el laboratorio la sangre se mantuvo a 4°C hasta su utilización.

A partir de las muestras de sangre se obtuvo la concentración de glóbulos rojos y glóbulos blancos. Para ello, el contenido del capilar se depositó sobre un portaobjeto con la ayuda de una propipeta acoplada al capilar. Luego de homogeneizar, se tomaron 2 μ l de sangre con micropipeta monocanal (de volumen variable de 0.1 a 2.5 μ l, marca BOECO, Germany) y se diluyó en 98 μ l de solución de Rees-Ecker (esta solución permite realizar una estimación directa de la concentración de glóbulos blancos totales-Lucas y Jamroz, 1961), generando una dilución 1:50. Para el conteo de los tipos celulares la solución se colocó en una cámara de Neubauer mejorada (marca BRAND). La concentración de ambos elementos sanguíneos se expresó de manera absoluta como el número de células por microlitro (glóbulos rojos/ μ l o glóbulos blancos/ μ l).

A diferencia de lo que ocurre con los mamíferos, con la dilución 1:50 puede realizarse el conteo tanto de glóbulos blancos como de rojos, porque se utiliza la misma solución que

permite la diferenciación de ambos tipos celulares. La diferenciación entre las células de las líneas granulocítica y la eritrocitaria, se basa en la forma, apariencia, coloración y refringencia. El azul brillante de cresilo, colorante de Rees-Ecker, tiñe diferencialmente los glóbulos blancos.

6. Análisis estadísticos.

Para analizar los datos de los estudios realizados, se usó el software R (V. 3.1.0, The R Project for Statistical Computing; <http://www.r-project.org>). Se utilizaron modelos lineales mixtos (MLM) cuando la variable respuesta presentó una distribución normal (función de enlace “identidad”), y lineales mixtos generalizados (MLMG) cuando se trabajó con distribución binomial (función de enlace “logit”), poisson (función de enlace “log”) o binomial negativa (función de enlace “log”). Los paquetes utilizados fueron glmmADMB (Fournier y col., 2012) y lme4 (Bates y Bolker, 2011).

*6.1 Variables descriptivas del ciclo de vida de *P. torquans*.*

Para cada individuo se estimó la duración en días de la fase de pupa, diferenciando los procesos de pupariación y pupación. El período de pupariación se estimó (días) desde el momento en que las larvas se retraían hasta su oscurecimiento, y el período de pupación se calculó como el tiempo transcurrido desde el oscurecimiento de la pupa hasta la emergencia del adulto.

Para obtener la sobrevivencia de cada estado, el número de sobrevivientes al final de un estado se dividió por el número de individuos al inicio del mismo. Las diferencias sexuales en la sobrevivencia se testearon con la prueba no paramétrica de Wilcoxon rank-sum.

La razón sexual se estimó como la razón entre el número total de hembras y el número total de machos, y con la prueba de Chi-cuadrado se determinó si la razón sexual fue significativamente diferente de lo esperado (1:1).

Para cada hembra se registró la fecha en que colocó el primer huevo, así como el número de huevos y posturas realizadas. El período de pre-oviposición se estimó como el número de días transcurridos entre la emergencia de la hembra del pupario y la oviposición de su primer huevo; mientras que el período de oviposición se valoró como la diferencia en

días desde la fecha que puso huevos por primera vez hasta el día que puso huevos por última vez. Se usó la prueba no paramétrica de Wilcoxon rank-sum para detectar diferencias en la duración de los períodos de pre-oviposición y oviposición, así como en el total de huevos puestos.

6.2 Variables del estudio experimental.

La mortalidad porcentual de larvas, pupas e imagos fue obtenida en cada nivel del tratamiento; y las diferencias fueron testeadas con la prueba no paramétrica de Wilcoxon rank-sum.

El período de pupariación y pupación fue estimado para cada individuo de igual forma que en el estudio anterior. La duración de la vida adulta de las mosca se calculó como los días transcurridos entre la emergencia del pupario y la muerte. Para analizar diferencias en las variables estimadas entre los niveles del tratamiento se usaron las pruebas no paramétricas de Wilcoxon Rank Sum y Kruskal-Wallis Rank Sum.

Se usaron MLMG con respuesta binomial negativa para evaluar si el tratamiento afectó la duración de la vida adulta. La variable dependiente fue días de vida de los imagos. Las variables independientes de interés utilizadas fueron: temperatura del tratamiento (como término lineal y cuadrático), peso de la larva: gramos al momento de la colecta, sexo del imago: macho o hembra, pre-pupa: días de pupación y pupa: días de pupación. Se incluyó el factor al azar ‘1|especie hospedadora/ID pichón’, para tener en cuenta la falta de independencia de las larvas colectadas de un mismo pichón y especie hospedadora, y así eliminar posibles problemas de pseudo-replicación (Paterson y Lello, 2003).

Se obtuvo la duración media del desarrollo para cada nivel del tratamiento, como el promedio de los períodos de pupariación y pupación de los individuos considerados juntos. La tasa de desarrollo se calculó como el cociente $1/\text{duración media del desarrollo}$.

6.3 Variables del estudio observacional.

Para examinar el efecto de las variables climáticas sobre el impacto del parasitismo en los pichones, se utilizaron datos longitudinales colectados de medidas repetidas de los individuos. La unidad de estudio para todos los análisis fue el pichón individual.

Las variables dependientes de interés incluidas fueron la ganancia de peso corporal, el incremento de la longitud del tarso, el número de glóbulos rojos y blancos y la sobrevida.

La ganancia de peso se midió como g/días, y se estimó calculando la diferencia entre dos medidas consecutivas de la masa del cuerpo, dividido por el número de días entre muestreos. De modo similar, el crecimiento del tarso (mm/día) se estimó comparando medidas consecutivas del largo del tarso. La sobrevida se valoró como presencia o ausencia (respuesta estadística dicotómica) en el período (2-3 días) inmediatamente siguiente. En el análisis de sobrevida se consideraron las observaciones hasta los 15 días de edad de los pichones, debido a que luego fue difícil distinguir entre la desaparición por muerte/predación o porque volaron del nido. El número de glóbulos rojos y blancos se estimó como la cantidad de células $\times \mu\text{l}^{-1}$.

Las variables independientes de interés fueron la interacción entre la intensidad de larvas y las variables climáticas. La intensidad parasitaria se estimó como la cantidad total de larvas por pichón (designada como Larvas), y la cantidad de larvas pequeñas (L1), medianas (L2) y grandes (L3) por hospedador. Las variables climáticas incluidas fueron: temperatura máxima diaria: registrada a las 12:00 hs; temperatura máxima semanal: calculada como el promedio de la temperatura máxima de la semana; temperatura mínima diaria: registrada las 00:00 hs; temperatura mínima semanal: fue la media de las temperaturas mínimas de una semana determinada; temperatura media: fue la temperatura media semanal registrada; humedad diaria: registrada a las 00:00 hs; humedad semanal: es el promedio semanal de la humedad registrada; precipitación diaria: lluvia precipitada en un día; precipitación semanal: lluvia acumulada en una semana. También se incluyeron como variables de interés: temperatura máxima en incubación: calculada como la media de la temperatura máxima registrada desde el día de postura del huevo hasta la eclosión del pichón; temperatura máxima desde la eclosión: promedio de la temperatura máxima desde el día de eclosión del pichón hasta el día de la visita; temperatura máxima desde la postura: fue el promedio de la temperatura máxima desde el día de postura del huevo hasta el día de visita al pichón. Del mismo modo, se obtuvo la temperatura mínima en incubación, temperatura mínima desde la eclosión, temperatura mínima desde la postura, humedad en incubación, humedad desde la eclosión, humedad desde la postura, precipitación en incubación, precipitación desde la eclosión y precipitación desde la postura. En el caso de la precipitación se obtuvieron también las variables: precipitación acumulada en incubación, precipitación acumulada desde la eclosión y precipitación acumulada desde la postura, evaluadas como la lluvia acumulada durante sendos períodos.

En el modelo máximo también se incluyeron potenciales factores de confusión de la asociación clima-parásito-hospedador, referidas al pichón y al micro-hábitat circundante al nido. Las variables relacionadas con el pichón incluyeron: edad: días desde el nacimiento; tamaño de las nidada: cantidad de pichones presentes en el nido al momento de la visita; piojos: presencia/ausencia; ácaros: cantidad de ácaros; orden de nacimiento: posición en la secuencia de eclosión de pichones (del 1° al 5°). Las variables referidas al micro-hábitat fueron: altura del nido; soporte: especie de árbol que soporta el nido; tipo de bosque: comunidad de vegetación. Por último, se tuvo en cuenta las variables semana, grupo de 7 días, y sitio de estudio.

Las variables se midieron como días previos o semanas móviles (7, 14, 21 y 28 días) desde el momento de la medición. Los períodos anteriores se simbolizaron con el subíndice: $t-n$, donde n es cantidad de visitas, días o semanas previas. Se establecieron los valores $d-1$ para la variable intensidad de larvas, es decir, un día previo. Las variables climáticas se expresaron desde $d-0$ (día de la observación) hasta $d-4$ (4 días previos a la observación) y desde $s-1$ (una semana previa) hasta $s-4$ (cuatro semanas previas). A modo de ejemplo, para $s-1$, el valor incluyó el día de la observación más los 6 días precedentes (*día-1, día-2, día-3, día-4, día-5 y día-6*), para el período $s-2$ se usaron los datos desde *día-7* hasta *día-13* y así sucesivamente hasta $s-4$.

Se incluyeron como factores al azar ‘1|ID nido/ID pichón’, para ajustar por la falta de independencia de las medidas repetidas colectadas del mismo nido y del mismo pichón, y ‘1| año’, para eliminar la posible dependencia de las observaciones provenientes de un mismo año de estudio. Para atender la posible falta de linealidad de la asociación con las variables respuesta, la intensidad de larvas y la edad fueron incluidas como un término polinómico con componentes lineales y cuadráticos.

Se usó MLM cuando se evaluó el efecto de las variables independientes sobre la ganancia de peso corporal, el incremento de la longitud del tarso y el número de glóbulos rojos, y MLMG con respuesta binomial negativa, para evaluar número de glóbulos blancos, y con una respuesta binomial, para evaluar sobrevida. Los modelos se generaron en forma separada para cada una de las especies hospedadoras, es decir, la especie del pichón no se incluyó como variable independiente en los análisis.

6.4 Selección de modelos.

Para generar los modelos finales se utilizó el enfoque de Teoría de la Información (Burnham y Anderson, 2002). La inclusión de las variables predictoras se realizó por el método *stepwise regression* (regresión paso a paso) y los modelos fueron seleccionados mediante el Criterio de Información de Akaike (AIC). La aproximación al mejor modelo se realizó comparando ΔAIC entre modelos, que es la diferencia entre el valor AIC más bajo y el AIC de los demás modelos. Se consideró el modelo con menor valor de AIC (mejor modelo- Burnham y col., 2011) y aquellos que presentaron una diferencia de hasta 5 unidades con el mismo ($\Delta AIC= 5$). Luego, se calculó el peso de cada modelo (w_i), que es la probabilidad relativa de que el modelo específico sea el mejor de la serie de todos los modelos (Burnham y Anderson, 2002). Finalmente, los modelos seleccionados fueron aquellos cuya suma de pesos acumulados fue 0.8 (Burnham y Anderson, 2002). Los parámetros β y los errores estándar de la inferencia multimodelo se calcularon como medias ponderadas de los coeficientes de cada modelo con su respectivo valor w_i . Se consideraron como términos significativos aquellos cuyo intervalo de confianza al 95% no incluyó al 0.

En el estudio observacional, las temperaturas medias máximas y mínimas de un día o semana determinadas se evaluaron inicialmente por separado, según el valor AIC modelo, debido a que están altamente correlacionadas, y esto puede generar problemas de colinealidad.

Para realizar las gráficas de las predicciones de los modelos, los coeficientes de regresión se expresaron según la transformación de la función de enlace utilizada. Cada gráfica muestra la asociación entre la variable respuesta y la variable explicativa de interés, el resto de las variables regresoras se fijaron para la categoría modal (en el caso de variables ordinales, como por ejemplo tamaño de la nidada) o en el valor de la mediana (para variables de escala, por ejemplo edad). La elección del rango de valores de la variable climática de interés, se basó en los valores del cuartil 1, el cuartil 3 y la mediana, para precipitaciones, o la media, para temperaturas.

RESULTADOS

1. Aspectos del ciclo de vida de *P. torquans* bajo condiciones de cría de laboratorio.

Durante las temporadas reproductivas de las aves 2013-2014 y 2014-2015, se colectó un total de 194 larvas de tercer estadio de pichones infestados. De esas larvas, en el 90.2% (n= 175) inició la fase de pupa entre las 24 a 48 horas (período de pupariación) siguientes de haber sido removidas de los pichones, mientras que el 9.8% murió antes de iniciar ese proceso. La presencia de un capullo (secreción esponjosa y blanca) alrededor de la pupa se observó aproximadamente en el 87% de las pupas (Figura 5). Un total de 150 (85.7%) pupas eclosionaron. De los 71 individuos colectados de los nidos como pupas, 68 (95.8%) emergieron como adultos. La duración de los estados de pupa y adulto se muestra en la Tabla 1. Se observaron diferencias sexuales en el tiempo de sobrevivencia de los adultos, las hembras sobrevivieron 1.2 veces más días que los machos ($W= 22944$; $p= 0.002$).

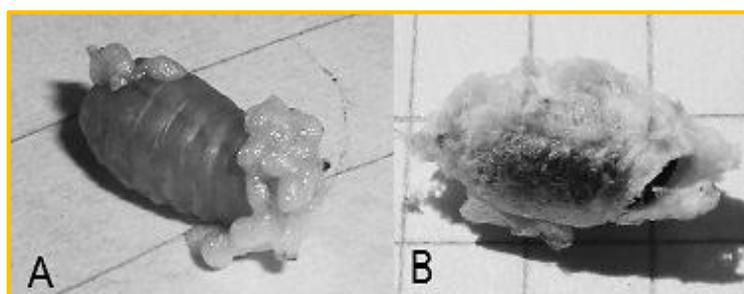


Figura 5. Secreción esponjosa producida por una larva de tercer estadio de *P. torquans* (A). Pupa totalmente encerrada en el capullo (B).

De los 512 adultos que emergieron, 259 fueron machos (50.6%) y 253 hembras (49.4%). La proporción de sexos no fue significativamente diferente de la razón esperada 1:1 ($\chi^2= 0.07$; $p= 0.79$).

Durante la primer temporada de cría (2013-2014), se obtuvieron los primeros huevos de *P. torquans* en cautiverio. De las 115 hembras que fueron expuestas a los machos, 41

(35.7%) pusieron huevos. Esos huevos se encontraron sobre el alimento proporcionado, en los tubos eppendorf donde colocaba el alimento y en las paredes de los recipientes de plástico que contenían a los adultos. Teniendo en cuenta las tres temporadas de cría en conjunto, se colectó un total de 1843 huevos. Las hembras ovipusieron 41 ± 31.1 huevos en promedio (rango= 1 a 148). Las hembras pusieron de 1 a 8 posturas durante su vida con una postura siendo el modo, ocurriendo en el 41.5% (17 de 41) de los casos. De las hembras restantes, el 14.6% colocó dos posturas, el 9.8% puso tres posturas y el 34.2% puso cuatro o más posturas (Tabla 2). Se observó una correlación positiva entre la cantidad de posturas y la mediana del número total de huevos puestos ($\rho = 1$, $p = 0.017$). Cuando las hembras ovipusieron más de una vez, transcurrieron 16.7 ± 10 días en promedio entre las primera y última postura (Tabla 1), mientras que el intervalo medio entre posturas fue 4.9 ± 3.2 días.

Tabla 1. Duración de los estados de pupa y adultos de *P. torquans*, y de los períodos de pre-oviposición y oviposición, bajo condiciones de cría de laboratorio. El tamaño de la muestra es indicado con *n*.

| Estado/período | Duración (días) | |
|------------------------------------|-----------------|---|
| | Rango | Mediana/ Media \pm SD (<i>n</i>) |
| Pupa | 8-15 | 10/ 10.5 \pm 1.5 (150) |
| Adultos: Macho | 0-85 | 14/ 17.0 \pm 14.5 (206 ^a) |
| Hembra | 0-100 | 17/ 24.1 \pm 22.4 (191 ^a) |
| Pre-oviposición: Hembras de larvas | 6-100 | 30/ 35.3 \pm 20.4 (29) |
| Hembras de pupas | 13-19 | 16/ 16.1 \pm 2.5 (12) |
| Oviposición | 2-33 | 15/ 16.7 \pm 10 (23 ^b) |

^aTotal de machos y hembras obtenidos a lo largo de las tres temporadas reproductivas con fecha de muerte conocida (no se pudo determinar la fecha de muerte de 115 adultos). ^bHembras con más de una postura.

Las hembras comenzaron a poner huevos al menos 6 días después de emerger del pupario. No se hallaron diferencias significativas en el período de pre-oviposición entre las hembras que pusieron sólo un postura y las hembras que pusieron dos o más posturas ($W = 217.5$; $p = 0.73$). Sin embargo, las hembras que fueron colectadas como pupas tuvieron un período mediano de pre-oviposición 53% menor que las hembras colectadas como larvas (Tabla 1) ($W = 30.5$; $p < 0.001$). No se detectaron diferencias significativas en el número total de huevos puestos por estas hembras ($W = 172.5$, $p = 0.98$).

Tabla 2. Cantidad de huevos puestos por las hembras de *P. torquans* en relación con la cantidad final de posturas realizadas. El tamaño de la muestra es indicado con *n*.

| Total de posturas ^a | Huevos puestos | |
|--------------------------------|----------------|--------------------------------------|
| | Rango | Mediana/ Media \pm SD (<i>n</i>) |
| 1 | 1–53 | 21/ 23.6 \pm 18.4 (17) |
| 2 | 7–96 | 50.5/ 54.2 \pm 32.1 (6) |
| 3 | 33–69 | 53.5/ 52.3 \pm 18 (4) |
| 4 | 29–69 | 49/ 49 \pm 13.2 (7) |
| 5 | 48–148 | 77/ 88.8 \pm 43.1 (5) |

^aSe excluyeron las posturas 7 y 8 debido a que la muestra fue de uno en cada caso. Ninguna hembra colocó 6 posturas.

Del análisis del tamaño corporal de este grupo de hembras, se observó que las colectadas en el estado de pupa fueron más largas y anchas (largo: rango= 7.4-9.1 mm, M_e = 8.1 mm; ancho: rango= 3-3.7 mm, M_e = 3.3 mm; n = 12) que las hembras colectadas en el estado de larva (largo: rango= 6.4-8.3 mm, M_e = 7.3 mm; ancho: rango= 2.4-3.4 mm, M_e = 2.9 mm; n = 29), y esas diferencias fueron significativas (largo: W = 176; p <0.001; ancho: W = 176; p <0.001). Además, se observó que las hembras colectadas como larvas vivieron por un período 2.5 veces mayor que las colectadas como pupas (Figura 6), y dicha diferencia en sobrevivida fue significativa (W = 25; p <0.001).

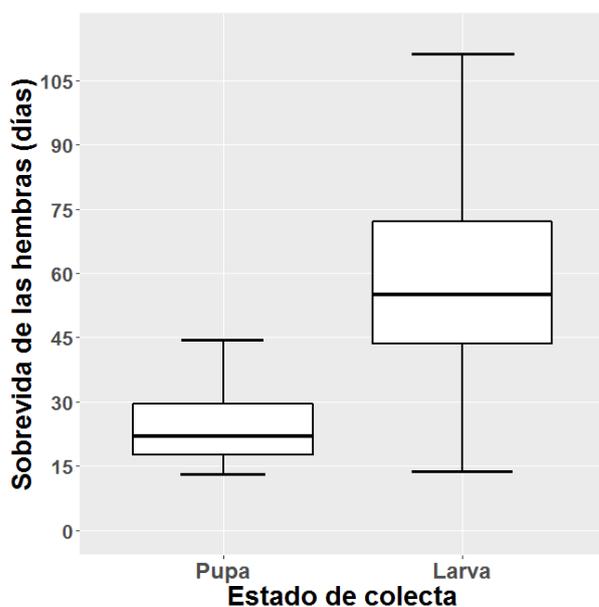


Figura 6. Días de sobrevivida de las hembras de *P. torquans* por estado de desarrollo en el que se colectaron (se consideraron solo las hembras que ovipusieron). Hembras colectadas en el estado de pupa: n = 10; hembras colectadas en el estado de larva: n = 27.

Del total de huevos colectados bajo condiciones de cría de laboratorio ($n= 1843$), eclosionó menos del 1% ($n= 15$). Estos huevos fueron colocados por dos hembras. Las larvas de primer estadio fueron detectadas cuatro días después de la fecha de postura, pero desafortunadamente ya estaban muertas cuando se hallaron.

2. Efecto de la temperatura sobre el desarrollo y la sobrevivencia de *P. torquans*.

2.1 Efectos sobre la mortalidad.

Del total de larvas utilizadas en el experimento ($n= 310$), 29 se incubaron a 15°, 126 a 18° y 155 a 30°C; y el número de imagos obtenidos fue 22 (75.9%), 104 (82.5%) y 135 (87.1%), respectivamente. De las comparaciones entre los grupos tratados y control, se observó que la mortalidad de las larvas incubadas a 15°C fue del 10.3% mientras que en las larvas incubadas a 30°C fue del 5%. Si bien en las larvas del primer grupo la mortalidad fue 2 veces mayor, esa diferencia no fue significativa ($W= 2460$, $p= 0.26$). En cuanto a la mortalidad de las pupas, aquellas que fueron incubadas a 15°C tuvieron 1.3 veces mayor probabilidad de morir que las incubadas a 30°C, ya que las mortalidades fueron 15.4% y 11.8%, respectivamente. Tampoco en este caso la diferencia fue estadísticamente significativa ($W= 2061$, $p= 0.61$). Respecto de los individuos incubados a 18°C, las mortalidades fueron similar a las observadas en el grupo control, siendo de 5.6% para las larvas y de 12.6% para las pupas. En la Figura 7 se compara la cantidad de individuos de cada estado de desarrollo por nivel del tratamiento, y la mortalidad observada durante los cambios de estado.

2.2 Efectos sobre el tiempo de desarrollo.

La duración de los periodos de pupariación, pupación y adulto se muestra en la Tabla 3. Los individuos incubados a 15°C demoraron más en transformarse en pupas ($W= 59$, $p< 0.001$) y, posteriormente, en emerger de los puparios ($W= 253$, $p< 0.001$) que los individuos control. Lo mismo se observó con las pre-pupas ($W= 595.5$, $p< 0.001$) y pupas ($W= 14040$, $p< 0.001$) que se incubaron a 18°C, respecto de los individuos control. En cuanto a la duración del período de imago, no se encontraron diferencias entre aquellos a 15°C y los control ($W= 663$, $p= 0.93$), pero los imagos incubados a 18°C vivieron significativamente más días ($W= 3383.5$, $p= 0.011$).

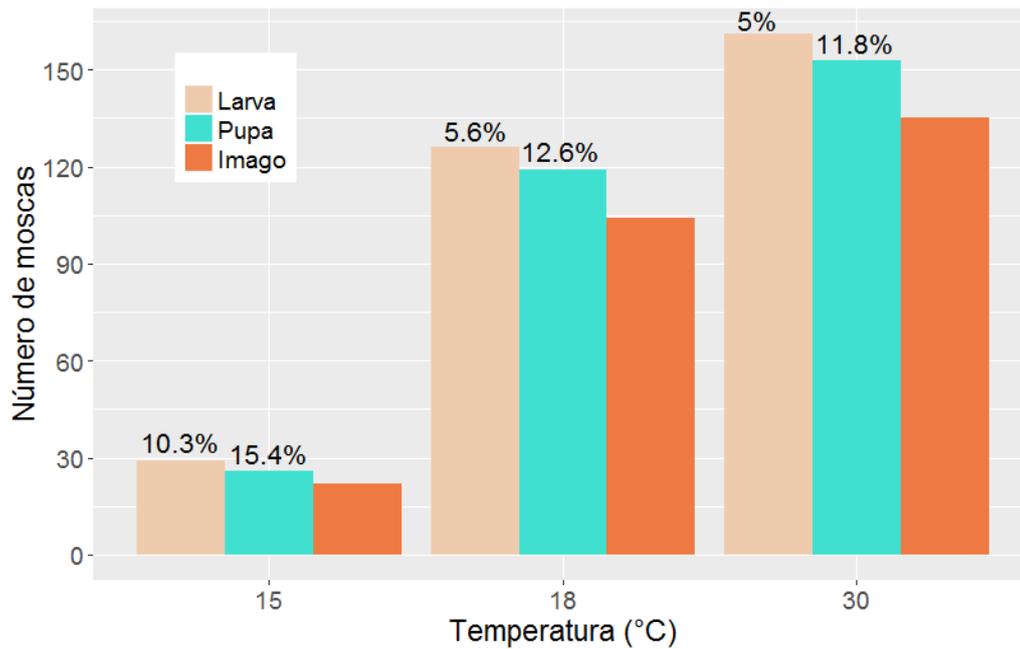


Figura 7. Cantidad de individuos por estado de desarrollo en cada nivel de temperatura. Los valores porcentuales al final de cada columna corresponden a la mortalidad observada durante la metamorfosis.

Tabla 3. Duración (en días) de los períodos de pupariación, pupación y adultez de *P. torquans* a tres temperaturas constantes. El tamaño de la muestra es indicado con *n*.

| | 15°C | 18°C | 30°C |
|----------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| Período | Media±SD/ Rango (<i>n</i>) | Media±SD/ Rango (<i>n</i>) | Media±SD/ Rango (<i>n</i>) |
| Pupariación | 3.7±0.8/ 2-6 (26) | 3.3±0.8/ 2-6 (119) | 1.5±0.6/ 1-3 (153) |
| Pupación | 34.4±2/ 31-41 (22) | 22.6±1.3/ 19-26 (104) | 8±0.7/ 6-10 (135) |
| Adultez ^a | 19.2±14.3/ 4-45 (21) | 27.6±25/ 2-61 (85) | 21.6±23/ 1-56 (64) |

^aEn 91 imagos no se pudo determinar la fecha de la muerte.

Al analizar si la duración de los períodos de pre-pupa y pupa diferían respecto de la especie hospedadora y el peso de la larva, no se hallaron diferencias significativas (pre-pupa: especie hospedadora: $K= 9.0$, $p= 0.342$; peso: $K= 89.0$, $p= 0.65$; pupa: especie hospedadora: $K= 6.24$, $p= 0.62$; peso: $K= 114.83$, $p= 0.75$; imago: especie hospedadora $K= 14.33$, $p= 0.07$, peso: $K= 116.69$, $p= 0.52$). No obstante, la duración del estado de imago mostró diferir según el sexo de los individuos, siendo los machos menos longevos que las hembras ($K= 4416.5$, $p= 0.004$).

La Tabla 4 muestra los modelos estadísticos que mejor se asocian con la duración del estado de imago. La temperatura (término lineal y cuadrático) y el sexo fueron los predictores más importantes (el intervalo de confianza excluye el cero, ver Tabla 5), y están incluidos en el mejor modelo que describe la variación de la respuesta ($w_i=0.65$). La temperatura produjo efectos positivos en la respuesta, especialmente entre los 15° y 18°C, pero al aproximarse a 30°C la vida de los adultos se reduce. Este impacto no presentó diferencias entre los sexos, pero las hembras vivieron más días en todos los niveles del tratamiento (Figura 8).

Tabla 4. Modelos lineales mixtos generalizados que explican la variación en los días de sobrevivencia de las moscas adultas ($n=170$). Los modelos que contienen el 80% de los pesos acumulados de AIC se muestran en negrita.

| Modelo | AICc | Δ AICc | w_i |
|---|---------------|---------------|-------------|
| Temperatura+ sexo+ temperatura² | 1471.8 | 0.00 | 0.65 |
| Sexo+ pre-pupa | 1474.4 | 2.56 | 0.18 |
| Sexo+ pupa | 1474.4 | 2.62 | 0.17 |

Temperatura: de incubación de los individuos, pre-pupa: duración del estadio, pupa: duración del estadio. w_i : peso de AICc

Tabla 5. Parámetros estimados (\pm SE) a partir de MLMG que describen la variación en los días de sobrevivencia de los imagos de *P. torquans*.

| Parámetro | Coeficiente | Error Estándar | Intervalo de Confianza | |
|--------------------------------|---------------|----------------|------------------------|---------------|
| | | | Inferior | Superior |
| Intercepto | -0.705 | 3.178 | -6.957 | 5.547 |
| Temperatura | 0.503 | 0.232 | 0.045 | 0.961 |
| Temperatura² | -0.011 | 0.005 | -0.021 | -0.001 |
| Sexo (machos) | -0.382 | 0.134 | -0.647 | -0.117 |
| Pre-pupa | -0.017 | 0.058 | -0.132 | 0.098 |

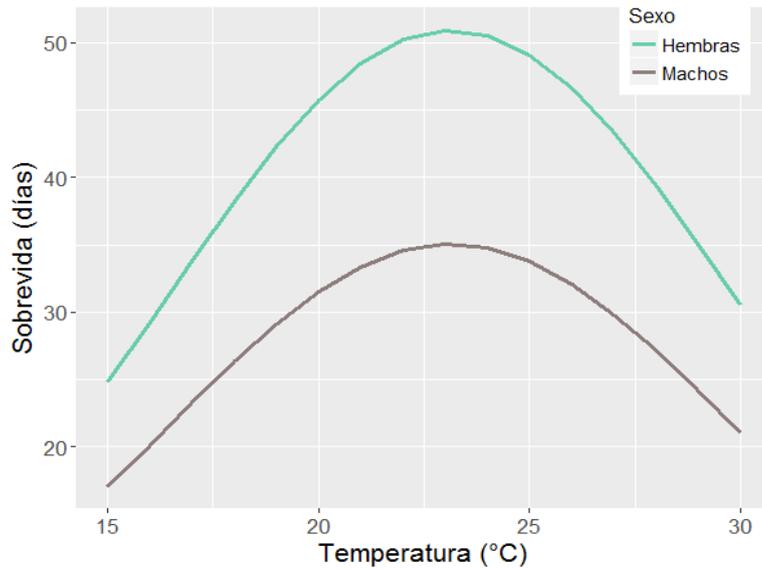


Figura 8. Sobrevida de los imagos de *P. torquans* en relación con la temperatura, como lo determina el modelo lineal mixto generalizado final.

Como se observa en la Figura 9, la duración del desarrollo (días de pupariación+días de pupación) da como resultado una relación lineal altamente significativa entre la tasa de desarrollo y las temperaturas entre los 15 y 30°C. Esta relación se mantiene cuando se incluyen los datos sobre desarrollo de las pupas a 26°C (Apartado 1 de los Resultados).

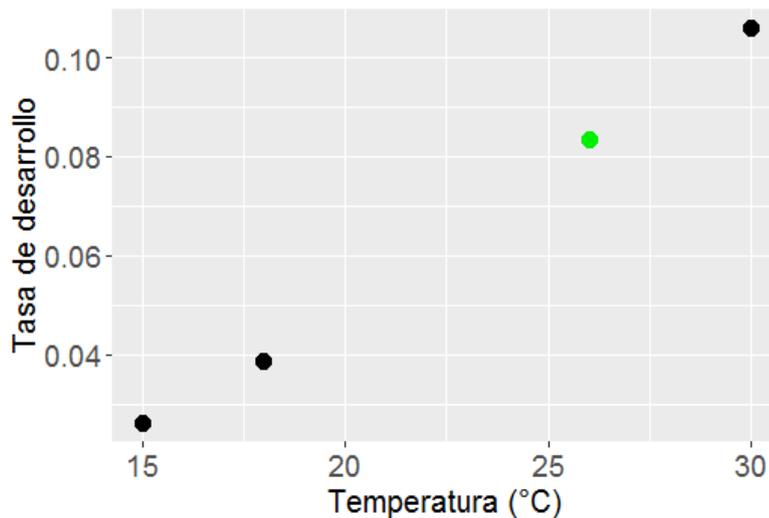


Figura 9. Tasa de desarrollo (1/tiempo de desarrollo) de *P. torquans* durante el estado de pupa. El punto verde representa la tasa de desarrollo a 26°C.

3. Influencia de factores climáticos sobre el impacto del parasitismo de *P. torquans* en sus hospedadores.

Durante las seis temporadas reproductivas se colectaron 3301 observaciones (mediciones de individuos) pertenecientes a 854 pichones, provenientes de 305 nidadas. De esas observaciones, 703 pertenecieron a *Ph. ruber*, 1532 a *Ph. sibilatrix* y 1035 a *Pi. sulphuratus*, siendo la cantidad de pichones muestreados por especie, 186, 394 y 274, respectivamente. El promedio de observaciones por pichón fue tres y el rango 1-9.

Se hallaron larvas de *P. torquans* en el 45.5% de los pichones examinados. El nivel más alto de parasitismo se observó en *Pi. sulphuratus* con el 65.7% de prevalencia y una intensidad media de 14.5 larvas por pichón, seguido de *Ph. ruber* donde la prevalencia de parásitos fue de 43.5% y en promedio tuvieron 14.1 larvas por pichón, y *Ph. sibilatrix* con 32.5% de prevalencia e intensidad media de 4.6 larvas.

En la Tabla 6 se muestra un resumen de los parámetros descriptivos de las variables climáticas de interés incluidas en los análisis. Como los modelos se generaron en forma separada para cada especie preferencial, se presentan los valores de temperatura, precipitación y humedad a los que estuvieron expuestas cada una de ellas.

Tabla 6. Parámetros descriptivos de las variables climáticas observadas en el área de estudio durante las temporadas reproductivas 2008 a 2010 y 2012 a 2016. Se muestran por especie hospedadora preferencial de *P. torquans*.

| | <i>Ph. ruber</i> | <i>Ph. sibilatrix</i> | <i>Ph. sulphuratus</i> |
|------------------------------|------------------|-----------------------|------------------------|
| Mediana/ Rango | | | |
| Precipitación _{d-0} | 0/ 0-43 | 0/ 0-86 | 0/ 0-86 |
| Precipitación _{d-1} | 0/ 0-44 | 0/ 0-138 | 0/ 0-55 |
| Precipitación _{d-2} | 0/ 0-78 | 0/ 0-85 | 0/ 0-86 |
| Precipitación _{d-3} | 0/ 0-63 | 0/ 0-138 | 0/ 0-86 |
| Precipitación _{d-4} | 0/ 0-63 | 0/ 0-85 | 0/ 0-86 |
| Precipitación _{s-1} | 13/ 0-113 | 0/ 11-163 | 28/ 0-141 |
| Precipitación _{s-2} | 19.3/ 0-141 | 0/ 11-371 | 31/ 0-141 |
| Precipitación _{s-3} | 6/ 0-206 | 0/ 6-371 | 26/ 0-141 |

| | <i>Ph. ruber</i> | <i>Ph. sibilatrix</i> | <i>Ph. sulphuratus</i> |
|------------------------------|------------------|-----------------------|------------------------|
| Mediana/ Rango | | | |
| Precipitación _{s-4} | 8/0-141 | 0/ 7.3-371 | 19.3/ 0-141 |
| Precip. incub. | 1.8/ 0-12 | 3/ 0-21.9 | 5/ 0-12.4 |
| Precip. eclos. | 1.7/ 0-43 | 1.1/ 0-86 | 2.7/ 0-35 |
| Precip. postura | 3/ 0-11.3 | 2.9/ 0-20.7 | 5.1/ 0-12 |
| Precip. acum. incub. | 31/ 0- 205 | 51/ 0-372 | 90/ 0-211 |
| Precip. acum. eclos. | 12/ 0-179 | 10/ 0-163 | 37/ 0-209 |
| Precip. acum. postura | 70/ 0-125 | 71/ 0-394 | 124/ 0-322 |
| Media±SD | | | |
| Temp. máx. _{d-0} | 30.2±4.4 | 29.3±4.7 | 31.3±3.8 |
| Temp. máx. _{d-1} | 30.8±4.3 | 29±4.7 | 31.6±3.8 |
| Temp. máx. _{d-2} | 30.6±4.2 | 29.3±4.6 | 31.6±3.8 |
| Temp. máx. _{d-3} | 30.6±4.7 | 28.7±4.7 | 31.4±3.9 |
| Temp. máx. _{d-4} | 30.5±4.6 | 28.9±4.7 | 31.4±3.7 |
| Temp. máx. _{s-1} | 30.5±3.2 | 29±3.4 | 31.3±2.4 |
| Temp. máx. _{s-2} | 29.8±3.5 | 28.9±3.6 | 30.8±2.7 |
| Temp. máx. _{s-3} | 29.4±3.5 | 28.6±3.6 | 30.7±2.9 |
| Temp. máx. _{s-4} | 28.4±3.6 | 28.4±3.8 | 30.3±2.9 |
| Temp. mín. _{d-0} | 17.3±4 | 16.3±4.2 | 18.9±3.8 |
| Temp. mín. _{d-1} | 17.7±3.5 | 16.3±3.7 | 18.7±3.4 |
| Temp. mín. _{d-2} | 17.6±3.7 | 16.3±4 | 19±3.3 |
| Temp. mín. _{d-3} | 17.2±4.2 | 16±4.3 | 18.4±3.9 |
| Temp. mín. _{d-4} | 17.6±3.8 | 16.3±4 | 18.7±3.7 |
| Temp. mín. _{s-1} | 17.5±2.4 | 16.3±3.1 | 18.6±2 |
| Temp. mín. _{s-2} | 17±2.5 | 16.2±3.4 | 18.4±2.2 |
| Temp. mín. _{s-3} | 18.6±2.9 | 17.9±3.5 | 20.1±2.3 |
| Temp. mín. _{s-4} | 15.8±3.2 | 16±3.7 | 17.7±2.4 |
| Humedad _{d-0} | 72±12.9 | 73±12.4 | 74.6±13.6 |
| Humedad _{d-1} | 71.4±13.5 | 72.7±12.5 | 73.7±13.9 |
| Humedad _{d-2} | 72±13 | 73.3±12.6 | 74.4±14.3 |
| Humedad _{d-3} | 71.3±12.6 | 73.1±12.5 | 73.8±13.1 |
| Humedad _{d-4} | 72.6±13.3 | 73.8±12.6 | 74.8±13.9 |

| | <i>Ph. ruber</i> | <i>Ph. sibilatrix</i> | <i>Ph. sulphuratus</i> |
|--------------------|------------------|-----------------------|------------------------|
| Media±SD | | | |
| Humedad $s-1$ | 72.2±9.8 | 73.3±9.6 | 74.4±10.4 |
| Humedad $s-2$ | 72.4±9.8 | 73.4±9.2 | 74.8±9.7 |
| Humedad $s-3$ | 71.6±9.4 | 73.8±7.8 | 73.8±9.3 |
| Humedad $s-4$ | 71.8±8.8 | 74.2±8 | 72.8±8.7 |
| Temp. máx. incub. | 30±2.7 | 29±3.2 | 30.6±2 |
| Temp. máx. eclos. | 30.5±3.1 | 29.1±3.3 | 31.5±2.1 |
| Temp. máx. postura | 29.9±2.5 | 29±3 | 31±1.8 |
| Temp. mín. incub. | 16.7±2.1 | 16.4±3.1 | 18.6±1.6 |
| Temp. mín. eclos. | 17.4±2.3 | 16.3±2.9 | 18.7±2.1 |
| Temp. mín. postura | 16.9±1.9 | 16.3±2.9 | 18.6±1.5 |
| Humedad incub. | 70.9±8.6 | 74.1±7.1 | 74.12±8.3 |
| Humedad eclos. | 71.9±9.4 | 72.8±9.8 | 74.21±10.3 |
| Humedad postura | 71.4±8 | 73.7±7.4 | 74.3±8.3 |

$d-i$ y $s-i$ se refieren a retrasos en días y semanas, respectivamente.

3.1. Crecimiento del tarso.

Para evaluar el efecto de las variables climáticas sobre el impacto de *P. torquans* en el aumento de la longitud del tarso, se realizaron MLM y se utilizaron 457 observaciones de *Ph. ruber*, 1011 de *Ph. sibilatrix* y 662 de *Pi. sulphuratus*. En las tres especies, solo un modelo fue el que mejor se ajustó a los datos, es decir, el valor de AIC fue menor en 5 unidades respecto del resto de los modelos que se generaron para cada especie.

En la Tabla 7 se muestran las variables que afectan el crecimiento del tarso de *Ph. ruber*. Se observa un impacto negativo de las larvas sobre el crecimiento del tarso, a mayor intensidad de larvas el incremento del tarso se reduce, pero este efecto dependió de lo precipitado 3 días antes. Cuanto mayor es la lluvia, menor es el efecto negativo de las larvas sobre el parámetro de crecimiento medido. De hecho, cuando la precipitación previa fue de alrededor de 30 mm, el efecto negativo desaparece (Figura 10).

Tabla 7. Parámetros que afectan el incremento de la longitud del tarso de *Ph. ruber* estimados a partir de modelos lineales mixtos ($n= 457$).

| Parámetro | Coeficiente | Error Estándar | Intervalo de confianza | |
|--|---------------|----------------|------------------------|---------------|
| | | | Inferior | Superior |
| Intercepto | 1.697 | 0.234 | 1.240 | 2.151 |
| Edad | 0.017 | 0.025 | -0.031 | 0.064 |
| Edad² | -0.013 | 0.002 | -0.016 | -0.010 |
| Larvas | -0.038 | 0.011 | -0.059 | -0.017 |
| Ácaros | 0.553 | 0.427 | -0.273 | 1.380 |
| Temperatura mín._{d-0} | 0.016 | 0.008 | 0.000 | 0.031 |
| Temperatura máx._{d-3} | 0.014 | 0.007 | 0.000 | 0.027 |
| Precipitación_{d-3} | -0.009 | 0.004 | -0.016 | -0.002 |
| Edad* Larvas | 0.004 | 0.001 | 0.000 | 0.006 |
| Edad* Ácaros | -0.224 | 0.106 | -0.430 | -0.018 |
| Edad²* Ácaros | 0.013 | 0.006 | 0.002 | 0.025 |
| Larvas* Precipitación_{d-3} | 0.001 | 0.000 | 0.000 | 0.002 |

d-0 a *d-3* se refieren a retrasos en días (0= día actual, 3= tres días previos). Los coeficientes significativos están en negrita.

La edad (término lineal y cuadrático) también afectó el crecimiento, tanto como efecto principal como en interacción con la intensidad de larvas y la cantidad de ácaros. También se registró una asociación positiva con la temperatura mínima del día de la observación y la temperatura máxima registrada 3 días previos.

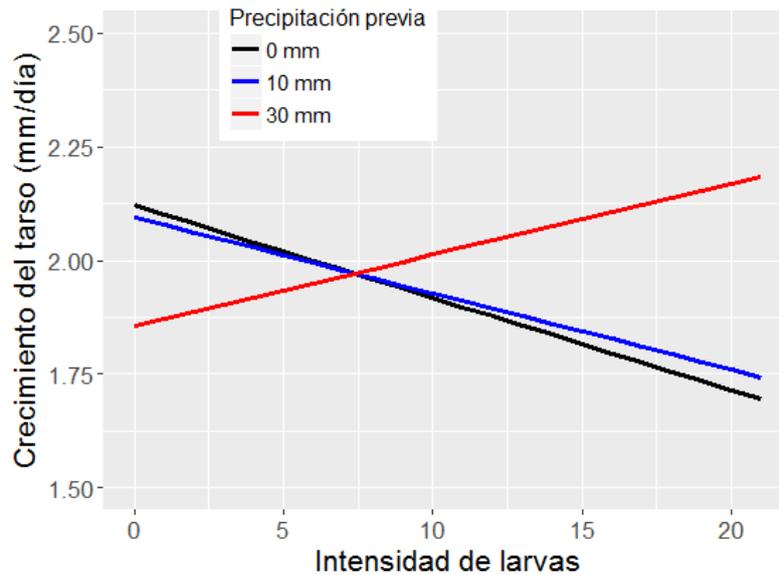


Figura 10. Crecimiento diario del tarso de pichones de *Ph. ruber* de acuerdo con el modelo lineal mixto final. Se muestra la interacción entre la intensidad de larvas y la precipitación 3 días antes. La línea roja predice un escenario de alta precipitación previa (30 mm), la línea azul de baja precipitación (10 mm) y la línea negra un escenario en ausencia de precipitación previa. Predicción para pichones de 5 días de edad, en ausencia de ácaros, con 17.3°C de temperatura mínima_{d-0} y 28.7°C temperatura máxima_{d-3}.

En los pichones de *Ph. sibilatrix*, las larvas no se asociaron con el crecimiento del tarso (Tabla 8). Los factores más importantes fueron la edad, la presencia de ácaros, la interacción entre ellos, y la precipitación acumulada 2 semanas previas. El crecimiento del tarso varío con la edad, aumentó desde el nacimiento del pichón y luego decayó, pero ese efecto cambió al aumentar la abundancia de ácaros.

Las variables que estuvieron asociadas con el incremento de la longitud tarso de los pichones de *Pi. sulphuratus* fueron edad, temperatura previa, y las interacciones dobles entre intensidad de larvas con edad, temperatura máxima y precipitación pasadas (Tabla 9). Las larvas afectaron significativamente el crecimiento del tarso cuando aumento la temperatura máxima cuatro días previos, mientras que el incremento en las lluvias tres días antes redujo el efecto negativo de la miasis. (Figura 11).

Tabla 8. Parámetros del modelo lineal mixto asociados con el incremento diario de la longitud del tarso de los pichones de *Ph. sibilatrix* ($n= 1011$).

| Parámetro | Coeficiente | Error estándar | Intervalo de confianza | |
|------------------------------------|---------------|----------------|------------------------|---------------|
| | | | Inferior | Superior |
| Intercepto | 1.730 | 0.042 | 1.645 | 1.808 |
| Edad | 0.025 | 0.0132 | -0.001 | 0.052 |
| Edad² | -0.011 | 0.000 | -0.013 | -0.010 |
| Ácaros | 1.800 | 0.359 | 1.103 | 2.507 |
| Precipitación_{s-2} | -0.000 | 0.000 | -0.002 | -0.000 |
| Edad* Ácaros | -0.477 | 0.0874 | -0.648 | -0.307 |
| Edad²* Ácaros | 0.026 | 0.005 | 0.017 | 0.036 |

s-2 se refiere a retrasos en 2 semanas. Los coeficientes significativos están en negrita.

Tabla 9. Parámetros del modelo lineal mixto asociados con el incremento diario de la longitud del tarso de los pichones de *Pi. sulfuratus* ($n= 662$).

| Parámetro | Coeficiente | Error estándar | Intervalo de confianza | |
|--|----------------|----------------|------------------------|----------------|
| | | | Inferior | Superior |
| Intercepto | 1.2800 | 0.3040 | 0.6870 | 1.8912 |
| Edad | 0.1340 | 0.0227 | 0.0901 | 0.1794 |
| Edad² | -0.0198 | 0.0015 | -0.0228 | -0.0168 |
| Larvas | 0.0259 | 0.0294 | -0.0325 | 0.0828 |
| Temperatura máx._{d-4} | 0.0349 | 0.0095 | 0.0156 | 0.0534 |
| Precipitación _{d-3} | -0.0006 | 0.0022 | -0.0049 | 0.0038 |
| Edad* Larvas | 0.0024 | 0.0008 | 0.0009 | 0.0040 |
| Larvas* Temp. máx._{d-4} | -0.0022 | 0.0009 | -0.0039 | -0.0004 |
| Larvas* Precipitación_{d-3} | 0.0004 | 0.0002 | 0.0000 | 0.0009 |

d-3 y *d-4* se refieren a retrasos en días (3= 3 días previos, 4= 4 días previos). Los coeficientes significativos están en negrita.

Cuando la intensidad de parasitismo es de 15 larvas y el resto de los factores considerados permanecen constantes, precipitaciones previas de 40 mm incrementan el crecimiento diario del tarso en 0.37 mm que en ausencia de precipitación (es decir, en 5 días un pichón parasitado por 15 larvas tendrá un tarso 1.85 mm más corto cuando no llueve, Figura 11A). Por otro lado, cuando la temperatura máxima previa incrementa en 6°C el crecimiento del tarso se reduce en 0.1mm (Figura 11B).

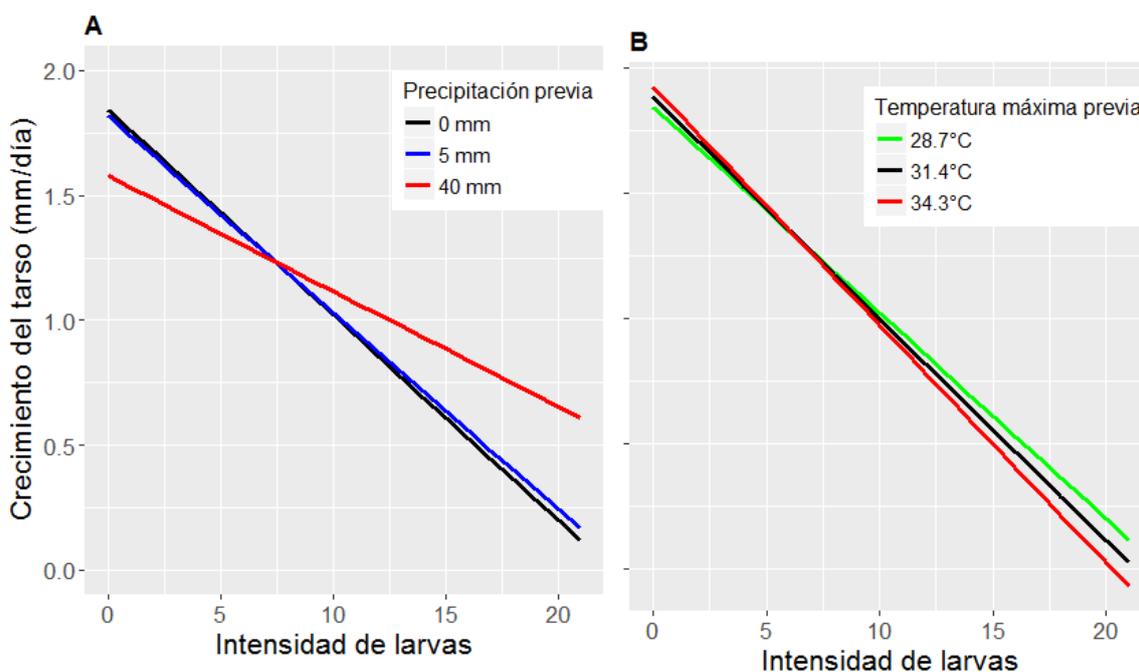


Figura 11. Crecimiento diario del tarso de pichones de *Pi. sulphuratus* de acuerdo con el mejor modelo final. La figura A representa la interacción entre la intensidad de larvas y la precipitación acumulada 3 días antes. La interacción entre la intensidad de larvas y la temperatura máxima 4 días previos se muestra en la figura B. Las simulaciones se realizaron con edad de 5 días, 31.4°C de temperatura máxima_{d-4} (A) y ausencia de precipitaciones_{d-3} (B).

De las variables que se midieron en el campo, no se evaluó el efecto sobre el peso del hospedador porque no pudo separarse el peso correspondiente al pichón con el de sus larvas. Esto podría haber generado distorsiones en los resultados, como por ejemplo, que pichones más parasitados sean más pesados.

3.2 Concentración de glóbulos rojos y blancos.

Glóbulos rojos

Para evaluar el efecto de las variables de interés sobre el recuento de glóbulos rojos se realizaron MLM. Se utilizaron 118 observaciones de *Ph. ruber*, 247 de *Ph. sibilatrix* y

164 de *Pi. sulphuratus*. En cada especie solo un modelo fue el que mejor se ajustó a los datos, como ocurrió cuando la variable respuesta fue el crecimiento del tarso.

Los coeficientes de los parámetros que modulan la cantidad de eritrocitos en los pichones de *Ph. ruber* se muestran en la Tabla 10. Se observa un efecto negativo importante provocado por larvas L1 (las más pequeñas), que generan una mayor disminución de los glóbulos rojos a medida que aumenta la intensidad previa de L1. Otros factores que también contribuyen a la disminución en de los eritrocitos son la temperatura mínima y la humedad previa. Por otro lado, existe un efecto de la variable semana, lo cual muestra un aumento de la cantidad de glóbulos rojos a medida que transcurre la temporada reproductiva. La edad presenta términos significativos tanto para el término lineal como cuadrático. El efecto de las larvas no fue modificado por ninguna de las variables climáticas analizadas.

Tabla 10. Parámetros del modelo lineal mixto que describen la variación en la cantidad de glóbulos rojos de los pichones de *Ph. ruber* ($n= 118$).

| Parámetro | Coeficiente | Error estándar | Intervalo de confianza | |
|---------------------------------------|----------------|----------------|------------------------|----------------|
| | | | Inferior | Superior |
| Intercepto | 3395496 | 780553 | 1928533 | 4897637 |
| Edad | 216494 | 49875 | 115292 | 31187 |
| Humedad_{s-3} | -24169 | 8705 | -41146 | -7822 |
| Larvas_{1d-1} | -89052 | 36796 | -175952 | -54712 |
| Temperatura mín._{s-1} | -117271 | 31248 | -158258 | -14046 |
| Semana | 89107 | 19614 | 50134 | 126041 |
| Edad² | -7998 | 2453 | -12647 | -2984 |

s-1 y *s-3* se refieren a retrasos en semanas (1= 1 semana previa, 3= 3 semanas previas). *d-1* se refiere al retraso en 1 día previo. Los coeficientes significativos están en negrita.

En los pichones de *Ph. sibilatrix*, las larvas modificaron el efecto de la edad sobre la cantidad de glóbulos rojos (el término de interacción fue significativo) (Tabla 11). Cuanto mayor fue la intensidad de larvas previas, menor fue el efecto positivo de la edad sobre el parámetro hematológico medido. Los niveles de eritrocitos muestran variaciones también dependientes de la abundancia de ácaros, la semana de estudio, y las

precipitaciones y humedad previas. Ninguna de las variables climáticas analizadas modificó el efecto de las larvas.

Tabla 11. Parámetros del modelo lineal mixto que describen la variación en la cantidad de glóbulos rojos de los pichones de *Ph. sibilatrix* ($n= 247$).

| Parámetro | Coeficiente | Error Estándar | Intervalo de confianza | |
|---|----------------|----------------|------------------------|---------------|
| | | | Inferior | Superior |
| Intercepto | -99735 | 326013 | -730390 | 528538 |
| Edad | 197266 | 40103 | 120019 | 274656 |
| Larvas _{<i>d-1</i>} | 45840 | 39000 | -29849 | 122571 |
| Ácaros | -393455 | 151706 | -688917 | -97133 |
| Semana | 15398 | 5627 | 4675 | 26789 |
| Edad² | -5082 | 2193 | -9302 | -837 |
| Precipitación_{<i>d-1</i>} | -16762 | 5263 | -27318 | -6393 |
| Humedad_{<i>d-4</i>} | 9095 | 3058 | 3020 | 15002 |
| Precipitación_{<i>s-3</i>} | -2090 | 969 | -4029 | -245 |
| Edad* Larvas_{<i>d-1</i>} | -18429 | 6662 | -31517 | -5560 |

d-1 y *d-4* se refieren a retrasos en días (1= 1 día previo, 4= 4 días previos). *s-3* se refiere a retrasos en 3 semanas previas. Los coeficientes significativos están en negrita.

En los pichones de *Pi. sulphuratus* se observa un impacto negativo no significativo de las larvas sobre la cantidad de células rojas, no obstante, las precipitaciones reducen ese efecto (Tabla 12). Se observa que a mayor intensidad de larvas la cantidad de células rojas al día siguiente disminuye, pero cuanto mayor es la lluvia actual, menor es el efecto negativo de las larvas. De hecho, cuando la precipitación supera los 5 mm, el efecto negativo del parasitismo desaparece (Figura 12).

Otros factores que también afectaron a la variación en la cantidad de glóbulos rojos fueron la edad, la temperatura mínima previa y la precipitación que se acumuló desde el momento de la postura.

Tabla 12. Parámetros del modelo lineal mixto que describen la variación en la cantidad de glóbulos rojos de los pichones de *Pi. sulphuratus* ($n= 164$).

| Parámetro | Coeficiente | Error Estándar | Intervalo de confianza | |
|---|----------------|----------------|------------------------|----------------|
| | | | Inferior | Superior |
| Intercepto | 3005237 | 428676 | 2165031 | 3845443 |
| Edad | 47550 | 11407 | 25192 | 69908 |
| $L1_{d-1}$ | -8541 | 5516 | -19352 | 2271 |
| Precipitación $d-0$ | -12957 | 9536 | -31647 | 5733 |
| Temperatura mín.$d-2$ | -70873 | 20656 | -111358 | -30388 |
| Precip. acum. postura | -2552 | 840 | -4199 | -904 |
| $L1_{d-1}$* Precipitación$d-0$ | 1842 | 861 | 154 | 3530 |

$d-1$ y $d-2$ se refieren a retrasos en días (0= día actual, 2= 2 días previos). Los coeficientes significativos están en negrita.

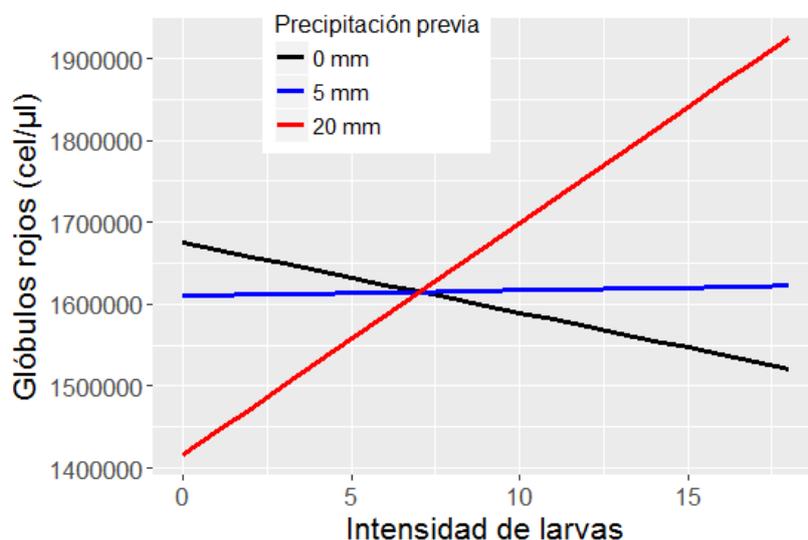


Figura 12. Número de glóbulos rojos en *Pi. sulphuratus* evaluado en función de la intensidad de larvas, como lo determina el modelo lineal mixto final. Se representa el efecto de la intensidad parasitaria y la precipitación acumulada actual. Predicción para pichones de 7 días de edad, temperatura mínima $d-2$ de 19°C y precipitaciones acumuladas desde la postura de 124 mm.

Glóbulos blancos

Se realizaron MLMG para evaluar si las variables climáticas de interés modifican el impacto de la miasis sobre el recuento de glóbulos blancos. Para ello se utilizaron 117 observaciones de *Ph. ruber*, 246 de *Ph. sibilatrix* y 163 de *Pi. sulphuratus*. En el análisis de regresión de *Ph. ruber* y *Ph. sibilatrix* solo un modelo fue el que mejor se ajustó a los datos.

Los niveles de glóbulos blancos encontrados en *Ph. ruber* muestran variaciones dependientes de la intensidad de larvas (Tabla 13). Se observa un aumento de leucocitos a mayor intensidad de larvas L1 (más pequeñas), mientras que las larvas que alcanzan la última fase de su desarrollo (L3, más grandes) disminuyen el nivel de leucocitos. Este efecto no dependió de ninguna de las variables climáticas consideradas en el análisis. No obstante, la edad hizo variar el efecto de las larvas L3, cuanto mayores son los pichones el efecto negativo de las larvas L3 se reduce. La temperatura máxima previa y el orden de nacimiento al momento de la eclosión se también se asociaron a la cantidad de glóbulos blancos.

Tabla 13. Parámetros del modelo lineal mixto generalizado que están asociados con la cantidad de glóbulos blancos de los pichones de *Ph. ruber* ($n= 117$).

| Parámetro | Coeficiente | Error Estándar | Intervalo de confianza | |
|---------------------------------------|---------------|----------------|------------------------|---------------|
| | | | Inferior | Superior |
| Intercepto | 10.697 | 0.703 | 9.318 | 12.076 |
| L3_{d-1} | -0.269 | 0.071 | -0.408 | -0.131 |
| Edad | -0.016 | 0.018 | -0.052 | 0.020 |
| Temperatura máx._{s-4} | -0.096 | 0.024 | -0.143 | -0.049 |
| Orden de nacimiento | 0.158 | 0.064 | 0.032 | 0.283 |
| L1_{d-1} | 0.158 | 0.055 | 0.050 | 0.266 |
| L3_{d-1}* Edad | 0.031 | 0.009 | 0.014 | 0.048 |

d-1 se refiere al retraso en 1 día; *s-4* se refiere al retraso en 4 semanas previas. Los coeficientes significativos están en negrita.

En la Tabla 14 se muestran los parámetros asociados con la cantidad de glóbulos blancos de *Ph. sibilatrix*. Se observa un importante efecto positivo de las larvas sobre el nivel de leucocitos, efecto que se redujo con la temperatura mínima previa. Cuanto mayor fue la temperatura mínima, menor fue el efecto positivo de las larvas. Cuando la intensidad de parasitismo es de 4 larvas y las demás variables consideradas se mantuvieron constantes, incrementos en la temperatura mínima de aproximadamente 2°C disminuyen la cantidad de glóbulos blancos en alrededor de 9000 células/ μ l (Figura 13).

En la Tabla 15 se muestra los modelos estadísticos que mejor ajustan con la cantidad de glóbulos blancos de *Pi. sulphuratus*. Los modelos seleccionados (w_i acumulados= 0.83) para la inferencia de los parámetros más importantes que afectan la variable hematológica medida se muestran en negrita.

Tabla 14. Parámetros del modelo lineal mixto que describen la variación en la cantidad de glóbulos blancos de los pichones de *Ph. sibilatrix* ($n= 246$).

| Parámetro | Coeficiente | Error Estándar | Intervalo de confianza | |
|---------------------------------------|---------------|----------------|------------------------|---------------|
| | | | Inferior | Superior |
| Intercepto | 9.094 | 0.508 | 8.098 | 10.089 |
| Edad | 0.243 | 0.054 | 0.137 | 0.349 |
| Larvas_{d-1} | 0.897 | 0.316 | 0.277 | 1.518 |
| Edad² | -0.016 | 0.003 | -0.022 | -0.010 |
| Temperatura mín._{s-3} | -0.066 | 0.026 | -0.116 | -0.016 |
| Edad* Larvas_{d-1} | 0.020 | 0.010 | 0.001 | 0.039 |
| Larvas_{d-1}* | -0.044 | 0.015 | -0.074 | -0.014 |
| Temperatura mín._{s-3} | | | | |

d-1 se refiere al retraso en 1 día; *s-3* se refiere a retrasos en 3 semanas previas. Los coeficientes significativos están en negrita.

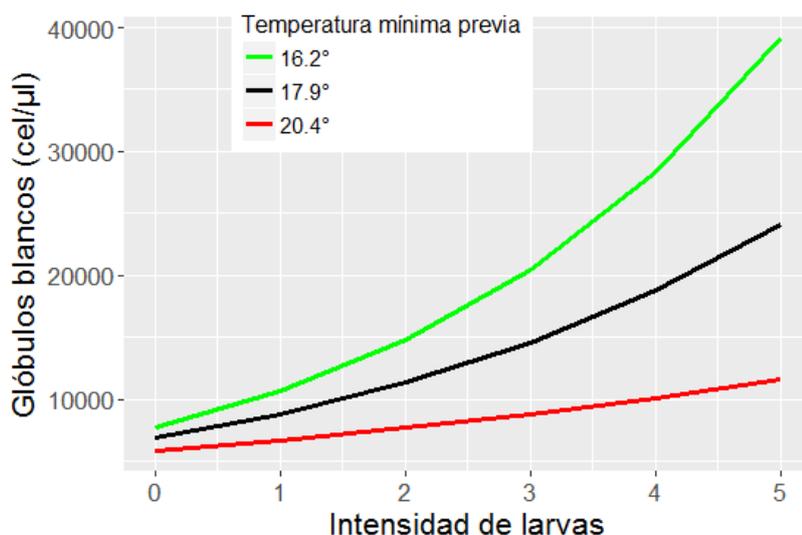


Figura 13. Número de glóbulos blancos en *Ph. sibilatrix* evaluado en función de la intensidad de larvas, como lo determina el modelo lineal mixto final. Se representa la interacción entre la intensidad parasitaria un día antes y la temperatura mínima 3 semanas previas. Predicción para pichones de 7 días de edad.

Tabla 15. Modelos lineales mixtos generalizados que explican la variación en la cantidad de glóbulos blancos de *Pi. sulphuratus*. Se muestran las variables que intervienen en cada modelo, el AIC y el peso de AIC.

| Modelo | AIC | Δ AIC | w_i |
|---|---------------|--------------|-------------|
| Edad+ L3_{d-1}+ precip. acum. eclosión+ temp. mín._{d-0}+ edad* L3_{d-1}+ L3_{d-1}* precip. acum. eclosión+ L3_{d-1}* temp. mín._{d-0} | 3206.5 | 0.00 | 0.47 |
| Edad+ L3_{d-1}+ precip. acum. eclosión+ edad * L3_{d-1}+ L3_{d-1}* precip. acum. eclosión+ temp. máx._{d-1}+ L3_{d-1}* temp. máx._{d-1} | 3208 | 1.5 | 0.22 |
| Edad+ L3_{d-1}+ temp. mín._{d-0}+ edad* L3_{d-1}+ L3_{d-1}* temp. mín._{d-0}+ precipitación_{s-1}+ L3_{d-1}* precipitación_{s-1} | 3208.9 | 2.44 | 0.14 |
| Edad+ L3 _{d-1} + temp. mín. _{d-0} + edad* L3 _{d-1} + L3 _{d-1} * temp. mín. _{d-0} + precipitación _{d-1} + L3 _{d-1} * precipitación _{d-1} | 3209.1 | 2.61 | 0.13 |
| Edad+ L3 _{d-1} + edad* L3 _{d-1} + temp. máx. _{d-1} + L3 _{d-1} * temp. máx. _{d-1} + precipitación _{s-1} + L3 _{d-1} * precipitación _{s-1} | 3210.9 | 4.38 | 0.05 |

d-0 y *d-1* se refieren a retrasos en días (0= día actual, 1= 1 día previo); *s-1* se refiere al retraso en 1 semana.

Las larvas L3, y los términos de interacción con edad, temperatura mínima actual y temperatura máxima previa fueron los predictores más importantes del nivel de leucocitos (Tabla 16). Se observa un efecto positivo significativo de las larvas L3, que produjo incrementos en el nivel de leucocitos, pero este efecto dependió de las temperaturas mínima actual y máxima previa. Consistentemente, cuanto mayor fueron los valores de las temperaturas mínimas (Figura 14A) y máximas (Figura 14B) mayor fue el efecto de las larvas sobre el incremento en la cantidad de glóbulos blancos.

Tabla 16. Parámetros del modelo lineal mixto generalizado que están asociados con la cantidad de glóbulos blancos de los pichones de *Pi. sulphuratus* ($n= 163$).

| Parámetro | Coeficiente | Error Estándar | Intervalo de confianza | |
|---|---------------|----------------|------------------------|---------------|
| | | | Inferior | Superior |
| Intercepto | 9.146 | 0.279 | 8.595 | 9.698 |
| Edad | 0.001 | 0.017 | -0.024 | 0.042 |
| L3_{d-1} | 0.069 | 0.027 | 0.015 | 0.123 |
| Temperatura mín. _{d-0} | 0.060 | 0.050 | -0.040 | 0.159 |
| Precipitación acum. eclosión | -0.155 | 0.091 | -0.334 | 0.025 |
| Edad* L3_{d-1} | -0.005 | 0.002 | -0.009 | -0.000 |
| L3_{d-1}* Temperatura mín._{d-0} | 0.017 | 0.008 | 0.000 | 0.034 |
| L3 _{d-1} * Precipitación acum. eclosión | -0.015 | 0.014 | -0.042 | 0.013 |
| Temperatura máx. _{d-1} | -0.043 | 0.065 | -0.171 | 0.084 |
| L3_{d-1}* Temperatura máx._{d-1} | 0.020 | 0.008 | 0.003 | 0.036 |
| Precipitación _{s-1} | -0.018 | 0.095 | -0.205 | 0.170 |
| L3 _{d-1} * Precipitación _{s-1} | -0.026 | 0.018 | -0.061 | 0.010 |

d-0 y *d-1* se refieren a retrasos en días (0= día actual, 1= 1 día previo); *s-1* se refiere al retraso en 1 semana. Los coeficientes significativos están en negrita.

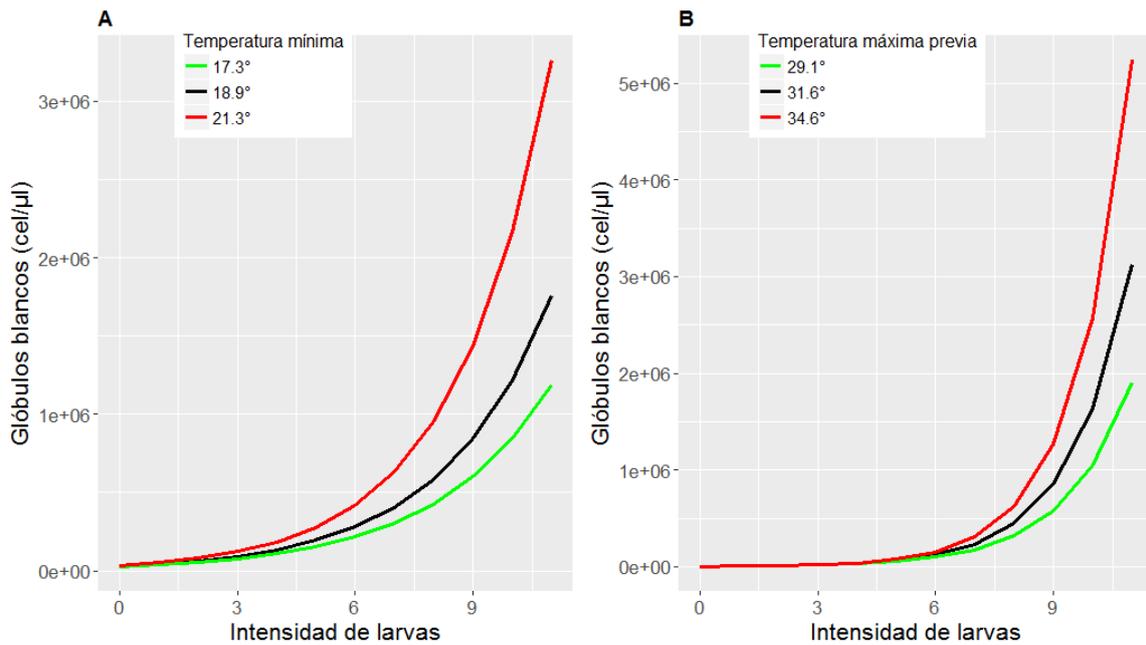


Figura 14. Cantidad de glóbulos blancos de *Pi. sulphuratus* evaluado en función de la intensidad de larvas. La figura A muestra el efecto de la interacción entre la intensidad de larvas previas y la temperatura mínima actual; y la figura B representa el efecto de la interacción entre la intensidad de larvas y la temperatura máxima 1 día previo. Las simulaciones se realizaron a los 5 días de edad y en ausencia de precipitaciones.

3.3 Sobrevida

De total de pichones muestreados durante el estudio (854), el 32.7% alcanzó los 15 días de edad (después se dificultó distinguir la ausencia por muerte, predación o abandono natural del nido). En *Ph. Ruber* la mortalidad fue del 70.8%, mientras que en *Ph. sibilatrix* y *Pi. sulphuratus* desapareció del nido el 70.3% y 63.5% de los pichones, respectivamente.

Para evaluar si las variables climáticas de interés modificaron el efecto de las larvas en la sobrevida de los pichones se realizaron MLMG. Se usaron 567 observaciones de *Ph. ruber*, 1271 de *Ph. sibilatrix*, y 821 de *Pi. sulphuratus*.

Los modelos que mejor ajustan la sobrevida de los pichones de *Ph. ruber* se muestran en la Tabla 17.

Tabla 17. Modelos lineales mixtos generalizados que explican la variación en la sobrevivencia de *Ph. ruber*. Se muestran los modelos que contienen el 80% de los pesos acumulados de AIC.

| Modelo | AIC | Δ AIC | w_i |
|---|-------|--------------|-------|
| Edad+ tamaño nidada+ temp. mín. _{s-4} + larvas+ larvas* temp. mín. _{s-4} + precip. acum. incub.+ larvas* precip. acum. incub. | 378.5 | 0.00 | 0.216 |
| Edad+ tamaño nidada+ precip. incub.+ temp. mín. _{s-4} + larvas+ larvas* precip. incub.+ larvas* temp. mín. _{s-4} | 378.5 | 0.00 | 0.216 |
| Edad+ tamaño nidada+ larvas+ precipitación _{s-1} + temp. máx. _{s-2} + larvas* precipitación _{s-1} + larvas* temp. máx. _{s-2} | 379.9 | 1.46 | 0.104 |
| Edad+ tamaño nidada+ precip. incub.+ larvas+ larvas* precip. incub+ temp. máx. _{s-2} + larvas* temp. máx. _{s-2} | 380.1 | 1.62 | 0.096 |
| Edad+ tamaño nidada+ larvas+ precip. acum. incub.+ larvas* precip. acum. incub+ temp. máx. _{s-2} + larvas* temp. máx. _{s-2} | 380.1 | 1.62 | 0.096 |
| Edad+ tamaño nidada+ larvas+ precipitación _{s-4} + temp. mín. _{d-2} + larvas* precipitación _{s-4} + larvas* temp. mín. _{d-2} | 382.1 | 3.64 | 0.035 |
| Edad+ tamaño nidada+ larvas+ precipitación _{s-1} + larvas* precipitación _{s-1} + temp. máx. _{d-0} + larvas* temp. máx. _{d-0} | 382.2 | 3.74 | 0.033 |
| Edad+ tamaño nidada+ larvas+ precip. acum. incub.+ larvas* precip. acum. incub+ temp. máx. _{d-0} + larvas* temp. máx. _{d-0} | 382.3 | 3.83 | 0.032 |

d-0 y *d-2* se refieren a retrasos en días (0= día actual, 2= 2 días previos); *s-1*, *s-2* y *s-4* se refiere a retrasos en 1, 2 y 4 semanas.

Las variables de mayor importancia que modificaron el efecto del parasitismo sobre la respuesta fueron las temperaturas mínimas ocurridas días y semanas previas, y la lluvia precipitada durante la incubación y una semana antes (Tabla 18). Se observó un efecto negativo no significativo de las larvas en la sobrevivencia de los pichones, pero aumentos en las temperaturas mínimas reducen ese efecto mientras que mayores precipitaciones lo incrementan (Tabla 18, Figura 15). Así, cuando la temperatura mínima 2 días previos incrementa en alrededor de 4.6°C respecto del valor mínimo la probabilidad de sobrevivencia aumenta en 0.36, con una intensidad de parasitismo de 10 larvas (Figura 15A). Mientras

que, con la misma intensidad de larvas, las chances de sobrevivir se reducen drásticamente cuando llueve durante el período de incubación, con precipitaciones de alrededor de 10 mm la probabilidad de sobrevivir es menor a 0.05 (Figura 15B).

Tabla 18. Parámetros del modelo lineal mixto generalizado que están asociados con la sobrevivencia de los pichones de *Ph. ruber* ($n= 567$).

| Parámetro | Coeficiente | Error estándar | Intervalo de confianza | |
|---|---------------|----------------|------------------------|---------------|
| | | | Inferior | Superior |
| Intercepto | 10.827 | 5.040 | 0.935 | 20.720 |
| Tamaño de nidada | 2.239 | 0.621 | 1.019 | 3.458 |
| Larvas | -0.502 | 0.328 | -1.146 | 0.141 |
| Edad | -0.970 | 0.158 | -1.279 | -0.660 |
| Temperatura mín._{s-4} | -0.501 | 0.173 | -0.841 | -0.160 |
| Precipitación acum. incubación | 0.013 | 0.016 | -0.018 | 0.044 |
| Larvas* Temperatura mín._{s-4} | 0.027 | 0.012 | 0.004 | 0.051 |
| Larvas* Precip. acum. incub. | -0.004 | 0.002 | -0.008 | -0.001 |
| Precipitación incubación | 0.227 | 0.261 | -0.286 | 0.740 |
| Larvas* Precip. incub. | -0.076 | 0.029 | -0.133 | -0.020 |
| Temperatura máx._{s-2} | -0.401 | 0.150 | -0.702 | -0.113 |
| Precipitación _{s-1} | 0.003 | 0.013 | -0.023 | 0.029 |
| Larvas* Temperatura máx. _{s-2} | 0.020 | 0.011 | -0.001 | 0.041 |
| Larvas* Precipitación _{s-1} | -0.009 | 0.003 | -0.014 | -0.003 |
| Temperatura mín. _{d-2} | 0.070 | 0.089 | -0.105 | 0.246 |
| Precipitación _{s-4} | -0.032 | 0.016 | -0.063 | -0.001 |
| Larvas* Temperatura mín._{d-2} | 0.026 | 0.013 | 0.000 | 0.052 |
| Larvas* Precipitación _{s-4} | 0.001 | 0.002 | -0.003 | 0.005 |
| Temperatura máx._{d-0} | -0.228 | 0.087 | -0.398 | -0.058 |
| Larvas* Temperatura máx. _{d-0} | 0.014 | 0.010 | -0.007 | 0.034 |

$d-0$ y $d-2$ se refieren a retrasos en días (0= día actual, 2= 2 días previos); $s-1$, $s-2$ y $s-4$ se refiere a retrasos en 1, 2 y 4 semanas. Los coeficientes significativos están en negrita.

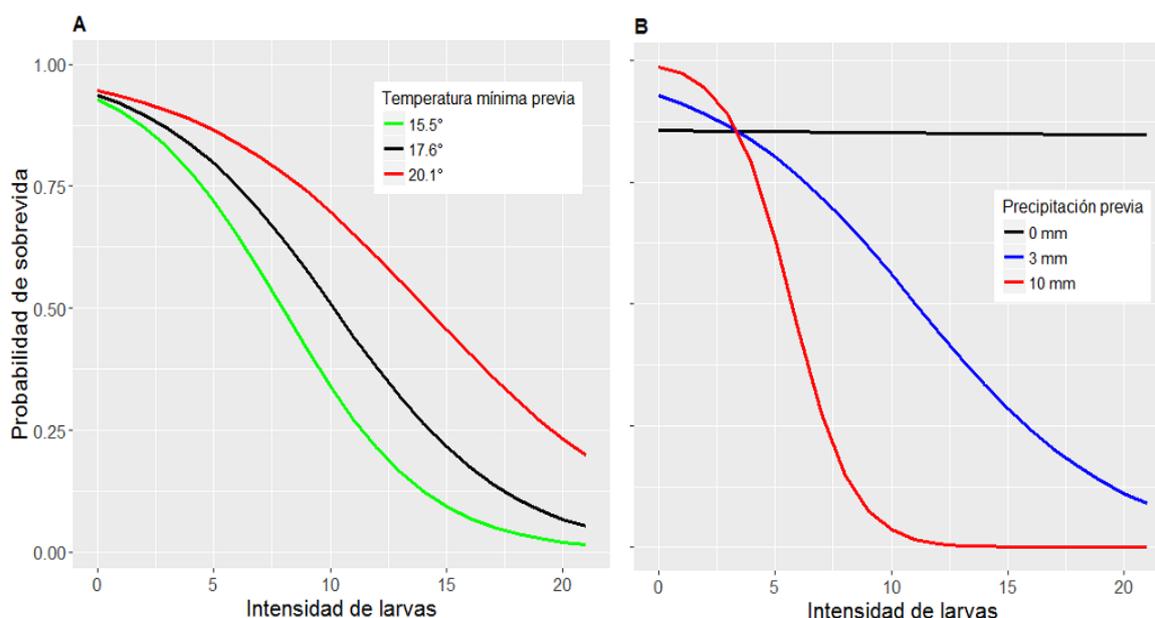


Figura 15. Probabilidad de sobrevivida (en los próximos 2-3 días) de los pichones de *Ph. ruber* en relación a la intensidad parasitaria. Se muestra el efecto de la temperatura mínima 2 días antes, en ausencia de lluvias (A), y de la precipitación media durante la incubación (B). Las simulaciones se realizaron para 7 días de edad.

Los modelos seleccionados para la inferencia de los parámetros más importantes que afectan la sobrevivida de los pichones de *Ph. sibilatrix* se muestran en la Tabla 19. La temperatura máxima actual y las precipitaciones acumuladas 3 y 4 días previos fueron los parámetros más importantes que modificaron el efecto de la miasis en la respuesta (Tabla 20). Cuando las demás variables consideradas se mantuvieron constantes, las larvas afectaron negativamente la sobrevivida de los pichones. Pero cuanto más ascendió la temperatura y la lluvia precipitada, menor fue el impacto negativo en la sobrevivida. Con lluvias de alrededor de 40 mm precipitadas 3 días antes, la probabilidad de sobrevivir cuando la intensidad de parasitismo es de 5 larvas aumenta a 0.61, es decir, es 2.4 veces mayor que cuando no llueve (Figura 16A). Asimismo, cuando la temperatura máxima actual asciende a 33°C, la probabilidad de sobrevivir es 2.7 veces mayor que cuando la temperatura se mantiene por debajo de los 27°C (Figura 16B).

Tabla 19. Modelos lineales mixtos generalizados que explican la variación en la sobrevivencia de *Ph. sibilatrix*. Los modelos que contienen el 80% de los pesos acumulados de AIC se muestran en negrita.

| Modelo | AIC | Δ AIC | w_i |
|---|---------------|--------------|--------------|
| Edad+ edad² + tamaño nidada+ precipitación_{d-3}+ temp. máx._{d-0} + larvas+ larvas* precipitación_{d-3}+ larvas* temp. máx._{d-0} | 1103.4 | 0.000 | 0.682 |
| Edad+ edad² + tamaño nidada+ temp. máx._{d-0} + larvas+ larvas*+ temp. máx._{d-0}+ precipitación_{d-4}+ larvas* precipitación_{d-4} | 1105.6 | 2.22 | 0.225 |
| Edad+ edad ² + tamaño nidada+ larvas+ precipitación _{d-4} + larvas*precipitación _{d-4} + temp. mín. _{d-0} + larvas* temp. mín. _{d-0} | 1107.4 | 3.99 | 0.093 |

d-0, *d-3* y *d-4* se refieren a retrasos en días 0, 3 y 4 días previos.

Tabla 20. Parámetros del modelo lineal mixto generalizado que están asociados con la sobrevivencia de los pichones de *Ph. sibilatrix* ($n= 1271$).

| Parámetro | Coeficiente | Error estándar | Intervalo de confianza | |
|---|---------------|----------------|------------------------|---------------|
| | | | Inferior | Superior |
| Intercepto | 2.611 | 0.112 | 2.390 | 2.831 |
| Tamaño nidada | -0.550 | 0.027 | -0.603 | -0.498 |
| Larvas | -1.426 | 0.064 | -1.552 | -1.300 |
| Edad | -0.038 | 0.002 | -0.041 | -0.035 |
| Edad² | -0.015 | 0.001 | -0.017 | -0.014 |
| Precipitación_{d-3} | 0.012 | 0.001 | 0.010 | 0.014 |
| Temperatura máx._{d-0} | 0.035 | 0.001 | 0.033 | 0.037 |
| Larvas* Precipitación_{d-3} | 0.005 | 0.001 | 0.004 | 0.007 |
| Larvas* Temperatura máx._{d-0} | 0.035 | 0.002 | 0.031 | 0.039 |
| Precipitación_{d-4} | -0.013 | 0.001 | -0.015 | -0.012 |
| Larvas* Precipitación_{d-4} | 0.013 | 0.001 | 0.011 | 0.014 |

d-0, *d-3* y *d-4* se refieren a retrasos en días 0, 3 y 4 días previos. Los coeficientes significativos están en negrita.

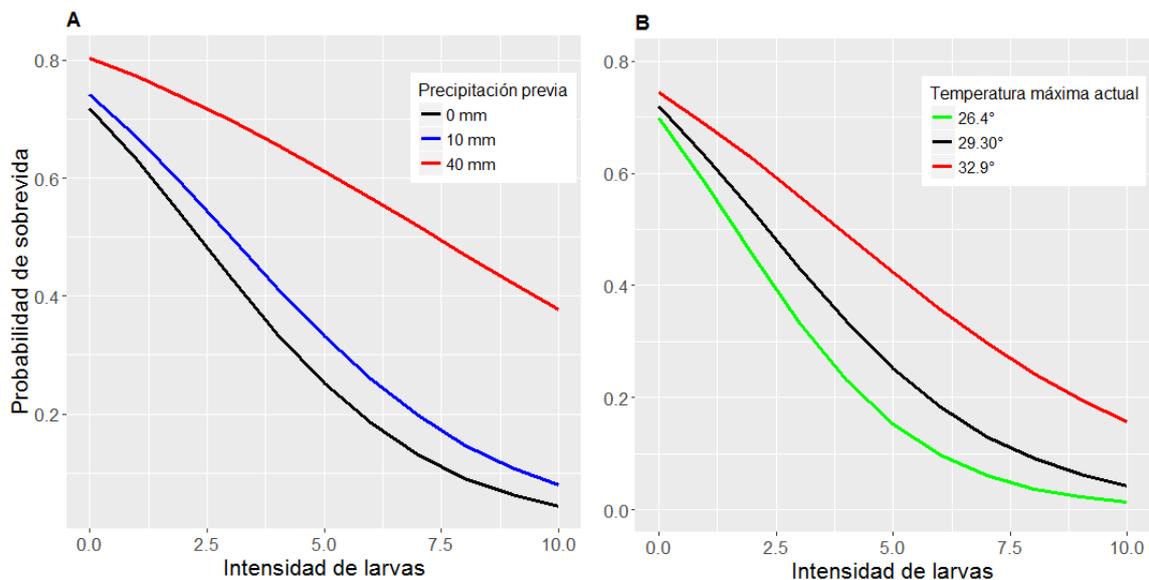


Figura 16. Probabilidad de sobrevivencia de los pichones de *Ph. sibilatrix* dentro del período de 2-3 días inmediatamente posterior, como lo determina el modelo lineal generalizado mixto. Se muestra el efecto de la intensidad de parásitos y la precipitación 3 días antes (A) y la temperatura máxima reciente (B). Las simulaciones se realizaron para 7 días de edad y tamaño de nidada de 3 pichones.

En el caso de la sobrevivencia de los pichones de *Pi. sulphuratus*, se obtuvo un solo modelo con el mejor ajuste a los datos, el valor de AIC fue menor en 5 unidades respecto del resto de los modelos generados. Los parámetros asociados con la respuesta se muestran en la Tabla 21. Se observó un efecto positivo significativo de la intensidad de larvas en la mortalidad de los pichones, pero dependiente de la temperatura mínima pasada (4 semanas antes de la observación). Cuanto más asciende la temperatura mínima, menor es el efecto positivo del parasitismo. Así, cuando la temperatura mínima asciende de 15.7° a 19.7°C (variación de 2°C), la probabilidad de sobrevivir de los pichones parasitados por 10 larvas es 1.7 veces menor (Figura 17).

Tabla 21. Parámetros del modelo lineal mixto generalizado que están asociados con la sobrevivencia de los pichones de *Pi. sulphuratus* ($n= 821$).

| Parámetro | Coeficiente | Error estándar | Intervalo de confianza | |
|---|---------------|----------------|------------------------|---------------|
| | | | Inferior | Superior |
| Intercepto | 11.075 | 2.424 | 6.324 | 15.826 |
| Tamaño nidada | -0.986 | 0.232 | -1.442 | -0.530 |
| Larvas | 0.237 | 0.108 | 0.024 | 0.449 |
| Edad | -0.296 | 0.064 | -0.422 | -0.170 |
| Temperatura mín._{s-4} | -0.251 | 0.114 | -0.475 | -0.027 |
| Larvas* Temperatura mín._{s-4} | -0.017 | 0.006 | -0.030 | -0.005 |

s-4 se refiere a retrasos en 4 semanas. Los coeficientes significativos están en negrita.

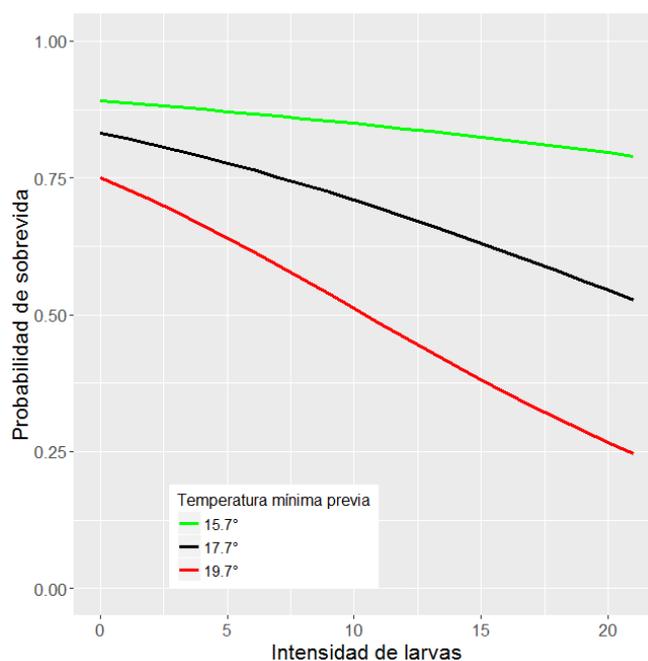


Figura 17. Probabilidad de sobrevivencia de los pichones de *Ph. sulphuratus* dentro del período de 2-3 días inmediatamente posterior, en relación a la intensidad parasitaria. Se muestra el efecto de la temperatura mínima previa. Simulación para 7 días de edad y tamaño de nidada de 3 pichones.

DISCUSIÓN

1. Aspectos del ciclo de vida *P. torquans*.

Los estudios sobre el ciclo de vida de *Philornis* son cruciales para aumentar el conocimiento sobre estas moscas parasitarias y la interacción con sus hospedadores. La información actualmente disponible es escasa y en su mayoría está restringida al estado de pupa. Estudios previos reportaron que la duración de la pupación varía entre 5 y 18 días, dependiendo de las especies de *Philornis* estudiadas y las circunstancias ambientales (Skidmore, 1985; Lincango y Causton, 2008; Spalding y col., 2002). Observaciones sobre el ciclo de vida de *P. seguyi* hallaron que la etapa de pupa dura 9 días (Quiroga y Reboveda, 2013), valor similar al que obtuvimos para *P. torquans* (10.5 días en promedio).

La presencia de un capullo espumoso se observó generalmente en las pupas. Esta estructura es de importancia sistemática para *Philornis* (Couri y col., 2007), y no fue reportada previamente en *P. torquans* (ver Ferrar, 1980; Couri y col., 2009). Ferrar (1980) y Teixeira (1999) sugirieron que el origen de un capullo en Muscidae podría estar relacionado con la protección de las pupas contra la depredación y los parasitoides. Esta especulación también es compartida por Bennet y Whitworth (1991) para *Protocalliphora* spp. (Diptera: Calliphoridae), que parasita pichones de aves. En algunas especies de *Philornis* spp. que también presentan capullos espumosos (Ferrar, 1980; Couri, 1999; Couri y col., 2006), se reporta la presencia de Microhymenoptera de los géneros *Brachymeria* y *Conura* (Hymenoptera, Chalcididae) en relación con sus pupas (Couri y col., 2006; Bulgarella y col., 2015; Delvare y col., 2017). Aunque esto puede reforzar la hipótesis de la protección de las pupas contra los parasitoides, el origen y la función del capullo en *Philornis* aún se desconocen.

Las mortalidad de las pupas criadas a partir de larvas colectadas en el campo fue de casi el 15%, similar a lo reportado para *P. seguyi* (Quiroga y Reboveda, 2013), y 3.5 veces mayor que la mortalidad de las pupas colectadas de los nidos. Aunque es posible que las larvas sufrieran daños físicos durante la extracción, se manipularon con la máxima precaución para evitar efectos perjudiciales. Como las larvas se removieron del hospedador antes del abandono natural, es posible que sus reservas nutricionales fueran

insuficientes para satisfacer los requerimientos fisiológicos para llegar a la adultez. Estudios sobre otras especies de Dípteros revelaron que las larvas desnutridas alcanzan la pupación pero mueren antes de que se complete la metamorfosis (Ulyett, 1950; Kamal, 1958). Aunque Quiroga y Rebores (2013) hallaron una tasa de mortalidad de las pupas similar a la que aquí se reporta, en dicho estudio las larvas de *P. seguyi* se recogieron después de que cayeran espontáneamente de los pichones. Alternativamente, la calidad de la pupación artificial de *P. torquans* pudo haber sido de menor calidad que la que comenzó en el nido. Para complementar nuestros hallazgos se necesitan estudios adicionales en esta y en otras especies de *Philornis* que consideren el estado de desarrollo en el que se recogen las muestras y las condiciones para un desarrollo exitoso.

Se observó que el impacto de remover las larvas (o de pupar en el laboratorio) permaneció en etapas posteriores de la vida como claras diferencias en la duración del período de pre-oviposición, el tamaño corporal y la duración de la vida de las hembras, según fueron colectadas en el estado de larva o pupa. Las hembras colectadas como pupas tuvieron un período de pre-oviposición más corto, fueron de mayor tamaño y sobrevivieron menos tiempo que las hembras colectadas como larvas. Moscas hembras de especies filogenéticamente cercanas a *Philornis*, como *Muscina levida* Harris, 1780 y *Synthesiomia nudiseta* Van Der Wulp, 1883 (Haseyama y col., 2015), oviponen una o dos semanas después de emerger del pupario (Tirone y col., 1996; Aruna Devi y col., 2011). En las hembras de *P. torquans* colectadas como pupas el periodo de pre-oviposición fue similar al reportado en especies relacionadas, mientras que en las hembras colectadas como larvas el periodo de pre-oviposición fue más largo y variable.

El período previo a la oviposición puede informar sobre la tasa de madurez reproductiva, es decir, cuanto más corto es el período, más rápido se alcanza la madurez (Ghoneim y col., 2016). El prolongado período de pre-oviposición de las pequeñas hembras de *P. torquans* colectadas como larvas puede indicar un retraso en la madurez reproductiva. Las hembras de mayor tamaño de *Ceratitis capitata* Wiedemann, 1824 (Diptera: Tephritidae) producen más huevos maduros poco después de la emergencia y tienden a copular antes que las hembras de menor tamaño (Kaspi y col., 2002). La diferencia en el tamaño de las hembras encontrada por Kaspi y col. (2002) se asoció con la calidad de la dieta durante el estado larval. Nuestros resultados refuerzan la importancia de las condiciones de la larva en la morfología y el desempeño reproductivo de los adultos.

Estudios experimentales sobre *trade-offs* (compensaciones) entre la reproducción y la duración de la vida de *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae) han encontrado una disminución de la reproducción temprana con un aumento en la duración de la vida de las hembras (Luckinbill y col., 1984; Zwann y col., 1995; Partidge y col., 1999). El tamaño muestral en este estudio fue relativamente pequeño para analizar las posibles causas de la diferencia en longevidad entre las hembras recogidas como larvas y pupas, pero parece probable que la oviposición temprana acortó el tiempo de vida de las hembras colectadas como pupas. Además, si las hembras recogidas como larvas sufrieron un retraso en la madurez reproductiva (y una oviposición tardía) esto puede en parte explicar la mayor longevidad observada. Sin embargo, otros estudios que analicen el desarrollo gonadal de las hembras a diferentes edades son necesarios para confirmar estas hipótesis.

A pesar de las diferencias en las historias de vida (subcutánea vs. semi-hematófaga), los adultos sobrevivieron un período de tiempo similar al reportado para *P. downsi* (Lincango y Causton, 2008). En *P. seguyi* se observó una menor longevidad (5.5 días en promedio, Quiroga y Reboreda, 2013), pero las condiciones de cría (composición de la dieta y tamaño de los recipientes de cría) fueron diferentes a las de *P. downsi* y las que aquí se utilizaron. Se detectaron diferencias sexuales en la longevidad de los adultos; las hembras de *P. torquans* vivieron más tiempo que los machos, como también se informó para *P. downsi* (Lincango y Causton, 2008). En varios taxones, incluyendo especies de Dipteros, los machos viven menos tiempo que las hembras (Fletcher y col., 1990; Davies y col., 2005; Pinilla y col., 2013). Varios procesos se han sugerido para explicar las diferencias sexuales en la duración de la vida (herencia asimétrica de los cromosomas sexuales, Tower y Arbeitman, 2009; herencia materna del ADN mitocondrial, Maklakov y Lummaa, 2013; presiones selectivas específicas del sexo, Wolff y Gemmell, 2013), que deben ser investigados en las especies de *Philornis*.

Casi la mitad de las hembras de *P. torquans* expuestas a machos pusieron huevos. Poder realizar comparaciones directas con los resultados reportados por Lincango y Causton (2008) para *P. downsi* se dificulta, porque en dicho estudio las parejas no se criaron separadamente. Sin embargo, estos autores no encontraron ninguna relación entre el número de hembras por caja y el número total de huevos registrados. En otras moscas parásitas (Calliphoridae y Oestridae) criadas en condiciones de laboratorio la proporción de hembras que no pusieron huevos fue alta (*Protocalliphora aenea*, *Pr. avium*, *Pr.*

metallica, *Pr. Sialia*, Bennett y Whitworth, 1991; *C. hominis*, Ribeiro y col., 1993). Las causas de este fracaso no han sido identificadas, pero pueden estar relacionadas con la incapacidad de recrear las condiciones (desconocidas) requeridas para la reproducción.

El número de huevos puestos por las hembras fue muy variable, como lo fue el número de posturas. Aunque en la mayoría de los casos las hembras pusieron sólo una postura, se encontró que pueden oviponer hasta ocho veces. El número de posturas pareció estar positivamente correlacionado con la cantidad de huevos puestos por postura. Esta gran fecundidad destaca el potencial de *P. torquans* para dañar las poblaciones de aves, ya que una sola hembra podría parasitar a varios pichones y nidos a lo largo de su vida útil.

Lincango y Causton (2008) observaron que las hembras de *P. downsi* comenzaron a oviponer entre los 12-20 días de edad, pero encontraron huevos completamente formados al diseccionar hembras de 6 días de edad. Esto coincide con la edad en que las hembras de *P. torquans* comenzaron a poner huevos, por lo que el tiempo para la formación de los huevos podría ser más corto que en *P. downsi*.

Finalmente, debido a que menos del 1% de los huevos recolectados eclosionaron, nuestras condiciones de laboratorio probablemente no fueron lo suficientemente favorables para la reproducción. Las larvas de primer estadio se detectaron cuatro días después de la colocación de los huevos. Como estaban muertas cuando se encontraron, no se pudo determinar con precisión la duración del estado de huevo, pero son necesarios por lo menos tres días para la eclosión de los huevos de *P. downsi* (Lincango y Causton, 2008).

2. Desarrollo y sobrevida de *P. torquans* en diferentes temperaturas.

La temperatura es uno de los factores ambientales que más influye sobre el desarrollo de las diversas etapas de la vida los insectos. Debido a que la formación y el desarrollo de la pupa ocurren en el material del nido, el estado de pupa de *Philornis* está sujeto a una amplia variedad de condiciones térmicas. Se ha especulado que la diapausa en este grupo de moscas ocurre en el estado de pupa (Dodge, 1971; Guimarães y col., 1983), pero hasta el momento no hay estudios que exploren el desarrollo de la metamorfosis de *Philornis* a diferentes temperaturas. Aquí se reportan los efectos de las temperaturas estivales e invernales sobre el desarrollo y la sobrevida de las pupas e imagos de *P. torquans*.

Cuando se analizó la mortalidad, se observó que a temperaturas más bajas el porcentaje de imagos obtenidos fue menor que a temperaturas más cálidas. Sin embargo, durante las fases de la metamorfosis no se hallaron diferencias significativas en la mortalidad entre los grupos tratamientos y el control, resultado que sustenta la hipótesis planteada. Es probable que la ausencia de diferencias se deba a que los valores de temperaturas utilizados en el experimento estén dentro del rango de temperaturas óptimas para *P. torquans*.

Como se esperaba, la temperatura afectó significativamente el tiempo de desarrollo del estado de pupa de *P. torquans*. Los individuos expuestos a 15°C mostraron los periodos de pupariación y pupación más prolongados, que fueron en promedio 2.5 y 4 veces más largos, respectivamente, que en los individuos control. Estos resultados son similares a los reportados para otros Dípteros holometábolos donde la temperatura estaba directamente relacionada con el tiempo de desarrollo de las pupas (Crovetti y col., 1986; Bennett y Whitworth, 1991; Telles-Romero y col., 2011).

Estudios en algunos insectos holometábolos muestran variación en la tolerancia a altas temperaturas entre las diferentes etapas del ciclo de vida, que se manifiestan como cambios en la viabilidad y el tiempo de desarrollo (Krebs y Loeschcke, 1995). En *Drosophila pseudodobscura*, por ejemplo, la correlación entre las temperaturas ambientales y la resistencia al estrés fue mayor en las pupas que en los adultos, las cuales mostraron mayor sobrevivencia (Coyne y col., 1983). En *P. torquans*, los individuos expuestos a 30°C tuvieron una fase de pupa más corta pero sobrevivieron significativamente menos días como adultos que los individuos expuestos a 18°C. Si bien es posible que exista algún tipo de compensación entre la velocidad del desarrollo y la longevidad, conocer la tolerancia térmica de las distintas etapas del ciclo de vida en esta y otras especies de *Philornis* es necesario para complementar estos resultados obtenidos.

Finalmente, el tiempo de desarrollo (pupariación y pupación) mostró una relación lineal significativa con las temperaturas: osciló entre 38 días a 15° y 9 días a 30°C. En el sitio de estudio, la temperatura promedio de verano es de 27°C, y se alcanza picos de 38° y hasta 43°C (www.climayagua.inta.gov.ar). El tiempo de desarrollo ligeramente más corto de *P. torquans* a altas temperatura puede tener un impacto significativo en la tasa potencial de aumento de la población de moscas adultas y, consecuentemente, en las cargas parasitarias de las poblaciones hospedadoras.

3. Efecto de la variabilidad climática sobre el impacto del parasitismo de *P. torquans* en la salud de sus hospedadores.

En este trabajo se analizó como algunos factores climáticos asociados a las miasis influyen en el efecto de *P. torquans* sobre el crecimiento, los parámetros hematológicos y la sobrevivencia de sus hospedadores preferenciales. El impacto que produjeron las larvas mostro diferir en cada especie hospedadora según la variable climática y el parámetro evaluado.

Rabuffetti y Rebores (2007) y Segura y Rebores (2011) reportaron un retraso en el crecimiento del tarso de los pichones de *M. saturninus* y *Paroaria coronata*, respectivamente, parasitados por *P. seguyi*. En el sistema *P. torquans* se observaron tres situaciones diferentes en la respuesta del crecimiento. En el caso de *P. ruber* mayor intensidad de larvas provocó efectos severos sobre el crecimiento del tarso, especialmente cuando los días previos no fueron lluviosos. Mientras que, en los pichones de *Ph. sulphuratus* la miasis no afectó el crecimiento del tarso cuando los días previos fueron lluviosos y la temperatura máxima fue baja. En los pichones de *Ph. sibilatrix* el crecimiento no pareció depender de la infestación. Algunos autores reportan que en las aves altriciales, los pichones parasitados son alimentados más frecuentemente por los padres (Christe y col., 1996; Hurtrez-Boussès y col., 1998), y que esto reduciría el costo fisiológico asociada con el parasitismo (Christe y col., 1996). Como la dieta de las especies estudiadas se compone de invertebrados, tales como coleópteros, formícidos, moluscos, así como anfibios, los períodos de lluvias pueden contribuir a una mayor disponibilidad de alimento e incremento de la frecuencia de provisión de alimento a la nidada, y de ese modo compensar los efectos perjudiciales de la miasis. Esto podría explicar la interacción observada con la precipitación en *Ph. ruber*. Pero en *Pi. sulphuratus* la estrategia de mayor provisión de alimento podría ser parcialmente exitosa, debido al efecto perjudicial de la interacción entre la intensidad parasitaria y las temperaturas.

Estudios observacionales y experimentales en pichones de aves de Galápagos hallaron asociaciones negativas entre la abundancia de *P. downsi* y la concentración de hemoglobina (Dudaniec y col, 2006; Fessl y col., 2006). En ambos estudios, los pichones con altos niveles de parasitismo sufrieron mayor mortalidad. Al analizar la concentración de glóbulos rojos, se observó que el incremento de larvas tipo L1 de *P. torquans*

disminuyó de manera apreciable el número de eritrocitos en *Ph. ruber*, y que ese efecto no dependió de ninguna de las variables climáticas analizadas. En el caso de *Pi. sulphuratus*, el efecto negativo de las larvas L1 no fue significativo y, en forma similar a lo observado sobre el crecimiento del tarso, la presencia de días lluviosos contrarrestó el efecto del parasitismo, lo que se tradujo en reducciones menos severas de los eritrocitos. Mientras que, en los pichones de *Ph. sibilatrix* ningún factor climático modificó el efecto (no significativo) de la infestación.

Cuando se evaluó la respuesta inmunológica que producen los hospedadores ante el parasitismo de *P. torquans*, los niveles de glóbulos blancos aumentaron en las tres especies hospedadoras. En *Ph. ruber* hubo un gran aumento de leucocitos a cantidades crecientes de larvas L1, pero la respuesta a la presencia de L3 fue cada vez menor. Se ha sugerido que esta respuesta diferencial a los distintos estadios de desarrollo de las larvas de *P. torquans* podría ocurrir por un drenaje excesivo de recursos limitados para combatir el parasitismo (Manzoli y col., en prensa). La respuesta a la infestación en los pichones de *Ph. ruber* no pareció depender de la variación climática. En el caso de *Ph. sibilatrix* se observó una respuesta elevada de glóbulos blancos a mayor intensidad de larvas, pero aumentos en las temperaturas mínimas semanas previas redujeron el efecto positivo del parasitismo. Esta asociación temporal retrasada (3 semanas) puede indicar alguna relación aún desconocida con el ciclo de vida de la mosca. Por último, en *Pi. sulphuratus* el incremento en la cantidad de leucocitos ante la presencia de las larvas L3 se intensificó cuando aumentaron las temperaturas recientes (mínima y máxima). En respuesta a estresores de corta duración (minutos a días), la función inmunitaria de vertebrados silvestres se incrementa para tolerar o recuperarse de los estresores (Martin, 2009). Se ha reportado que en pichones de aves altriciales con ectoparásitos, días más cálidos pueden producir estrés térmico con el consiguiente incremento en la secreción de corticosterona (Lobato y col., 2008), lo que podría resultar en un aumento de la función inmunológica, según lo reportado por Martin (2009). Aunque esta puede ser una explicación posible para la variación de leucocitos observada, se requieren estudios adicionales para conocer si las fluctuaciones climáticas funcionan como variables ecológicas estresantes en *Pi. sulphuratus*.

En general, el parasitismo por *Philornis* subcutáneas produce efectos deletéreos en la sobrevivencia de sus hospedadores (Arendt, 1985b; Antoniazzi y col, 2011; Quiroga y Reboreda, 2012). Un reciente trabajo (Manzoli y col., en prensa) halló que los

hospedadores preferenciales de *P. torquans* exhiben diferentes estrategias de defensa ante el parasitismo, lo que arrojó diferentes resultados en la sobrevivencia. Los pichones de *Pi. sulphuratus* toleraron el parasitismo con una inversión casi nula en respuesta inflamatoria, lo que se tradujo en una menor mortalidad. Pero los espineros son poco tolerantes y luchan para controlar la infestación. *Phacellodomus sibilatrix* fue la especie hospedadora menos tolerante, pero como su resistencia fue sostenida y eficiente, logró mantener una carga promedio baja de parásitos y el impacto del parasitismo en la mortalidad fue mucho menor que el sufrido por *Ph. ruber*, que resistió poco eficientemente y, por lo tanto, tuvo una mayor carga parasitaria. Los resultados aquí obtenidos del análisis de sobrevivencia muestran importantes diferencias sobre la influencia climática en la respuesta al parasitismo. En el caso de *Ph. ruber*, las larvas no ejercieron un efecto letal apreciable sobre los pichones, pero las asociaciones significativas con varios factores climáticos modificaron el efecto del parasitismo. Así, la presencia de días lluviosos durante el período de incubación y semanas previas intensificaron el efecto perjudicial de las larvas, mientras que las temperaturas mínimas de días y semanas pasadas reforzaron la resistencia de los pichones. En el caso de *Ph. sibilatrix*, el impacto del parasitismo mostró ser perjudicial para la sobrevivencia, especialmente en ausencia de lluvias en días previos y a bajas temperaturas máximas. Por último, en *Ph. sulphuratus* las larvas no causaron consecuencias negativas en la probabilidad de sobrevivencia cuando la temperatura mínima semanas anteriores fue baja. Cuanto mayor fue la temperatura, menor fue la tolerancia de esta especie al parasitismo. Cabe destacar que no todas las especies hospedadoras presentan la misma carga parasitaria. Los pichones de *Ph. sibilatrix* podrían, por lo tanto, tener una ventaja por sobre las restantes especies, debido a que presenta menor prevalencia e intensidad de larvas y el efecto del parasitismo depende menos del contexto climático.

CONCLUSIONES

En esta tesis se proporcionan datos sobre los estados de desarrollo de pupa y adulto, y sobre los parámetros reproductivos de *P. torquans* en condiciones de cría de laboratorio. Se mostró que la duración y la supervivencia de los estados de pupa y adultos de *P. torquans* fue similar a los reportados para otras especies de *Philornis*, también criadas en cautiverio. Se reportó la presencia de un capullo espumoso en las pupas, estructura de valor sistemático, y la oviposición. Además, se encontró que la etapa en la que se colectaron los parásitos afectó la sobrevivencia, el tamaño corporal y el período de pre-oviposición, pero no la fecundidad de las hembras. Este trabajo constituye un primer aporte al conocimiento de la biología reproductiva de cualquier especie subcutánea de *Philornis*. No obstante, se necesitan estudios adicionales para conocer los requisitos óptimos para la reproducción de esta especie en condiciones de laboratorio.

Se estudió la influencia de la temperatura durante el desarrollo post-larval y su efecto en la sobrevivencia de las fases de pupa y adulto de *P. torquans*. Los resultados más significativos del trabajo experimental fueron, por una parte, que la disminución de la temperatura prolonga los procesos de pupariación y pupación y, por otra parte, que las bajas temperaturas no afectaron la sobrevivencia de las pupas.

Los individuos incubados a 15°C mostraron un periodo de pupa de más de 30 días. Si bien es poco probable que esa temperatura constante ocurra naturalmente, los resultados hallados aportan algo de evidencia sobre la resistencia de estos parásitos a bajas temperaturas. Los imagos, debido a su movilidad y por ser de vida libre, pueden evitar las bajas temperaturas o encontrar sustratos de protección, como sucede con otros dípteros (Hall y Gerhardt, 2002). Por otra parte, la diapausa podría suceder en el estado de huevo, los cuales persistan en los nidos hasta la próxima temporada de nidificación. Sin embargo, la gran mayoría de los nidos hospedadores sucumben al deterioro ambiental, por lo que las aves suelen construir nuevos nidos al inicio de cada temporada (observación personal). Resulta evidente la necesidad de realizar estudios adicionales y considerar otras variables asociadas a la diapausa, como el fotoperíodo, para dilucidar los mecanismos de resistencia de las especies de *Philornis* durante períodos desfavorables.

En esta tesis también se valoró en condiciones naturales la influencia del contexto climático sobre la severidad de los efectos de *P. torquans* sobre sus principales hospedadores. Cada especie hospedadora mostró una respuesta particular a la infestación

y, cuando hubo interacciones significativas, un número variable de factores climáticos (temperaturas y precipitaciones) modificó el efecto de las larvas.

La miasis afectó significativamente todos los parámetros evaluados de *Ph. ruber*, pero las variables climáticas modificaron el efecto de las larvas en algunos casos (tarso y sobrevida) para incrementar o reducir su resistencia al parasitismo. En *Ph. sibilatrix* y *Ph. sulphuratus*, las larvas mostraron efectos deletéreos significativos sobre la concentración de glóbulos blancos y la sobrevida de los pichones. En *Ph. sulphuratus* las temperaturas recientes incrementaron la tolerancia al parasitismo cuando la respuesta fue cantidad de leucocitos, pero cuando la respuesta fue sobrevida la temperatura semanas previas redujo su tolerancia. Finalmente, en *Ph. sibilatrix* las variables climáticas ayudaron a la resistencia a la miasis, lo que resultó en la menor mortalidad hallada para esta especie.

Estudios previos en los mismos sitios de estudio de esta tesis revelaron que el aumento de la precipitación y la temperatura ambiente están asociados con una mayor intensidad de parasitismo de *Ph. torquans* y, consecuentemente, la mayor intensidad de parasitismo es seguida por una mayor severidad de los efectos sobre el crecimiento y la mortalidad de los pichones (Antoniazzi y col., 2011; Manzoli y col., 2013). Los resultados aquí obtenidos proporcionan evidencia de que el impacto de la miasis sobre los hospedadores es altamente inconsistente y depende de un número variable de factores climáticos que operan a distintos lapsos de tiempo. Trabajar con sistemas parásito-múltiples hospedadores en una amplia escala temporal permite distinguir esas respuestas diferentes, siendo esto novedoso para el parasitismo por *Philornis* subcutáneas.

BIBLIOGRAFÍA

- Alessio V, Beltzer A. 2010. Biología de la alimentación del espinero grande *Phacellodomus ruber* (aves: Furnariidae) en el valle de inundación del río Paraná, Argentina. R Nodo 4: 91-102.
- Anderson R M, May RM. 1978. Regulation and stability of host-parasite population interactions: I. Regulatory processes. J Anim Ecol: 219-247.
- Antoniazzi L, Manzoli D, Rohrmann D, Saravia M, Silvestri L, Beldomenico P. 2011. Climate variability affects the impact of parasitic flies (*Philornis torquans* Nielsen 1913) on Argentinean forest birds. J Zool 283: 126-134.
- Arendt WJ. 1985a. *Philornis* ectoparasitism of pearly-eyed thrashers. I. Impact on growth and development of nestlings. Auk. 102: 270-280.
- Arendt WJ. 1985b. *Philornis* ectoparasitism of Pearly-eyed Thrashers. II. Effects on adults and reproduction. Auk. 102: 281-292.
- Arendt W J. 2000. Impact of nest predators, competitors, and ectoparasites on Pearly-eyed Thrashers, with comments on the potential implications for Puerto Rican Parrot recovery. Ornitol Neotrop 11: 13-63.
- Aruna Devi A, Abu Hassan A, Kumara TK, Che Salmah MR. 2011. Life table of *Synthesiomyia nudiseta* (Van der Wulp) (Diptera: Muscidae) under uncontrolled laboratory environments—a preliminary study. Trop Biomed 28: 524-530.
- Bale JS. 2002. Insects and low temperatures: from molecular biology to distributions and abundance. Philos. Trans. R. Soc., B: 357: 849-862.
- Bates DM, Bolker B. 2011. lme4: linear mixed-effects models using S4 classes. R package version 0.999375-38.
- Beldomenico PM, Begon M. 2010. Disease spread, susceptibility and infection intensity: vicious circles? Trends Ecol Evol 25: 21-27.
- Begon M, Townsend CR, Harper JL. 2005. Ecology: From individual to ecosystems. 4th edn. Blackwell Publishing, Oxford.

- Bellagamba G, Bellagamba de Oliveira D. 2012. Primeiro registro do tio-tio-pequeno, *Phacellodomus sibilatrix* (Passeriformes: Furnariidae) no Brasil. Rev Bras Ornitol 20: 158-160.
- Bengis RG, Leighton FA, Fischer JR, Artois M, Morner T, Tate CM. 2004. The role of wildlife in emerging and re-emerging zoonoses. Rev Sci Tech. 23: 497-512.
- Bennett GF, Whitworth TL. 1991. Studies on the life history of some species of *Protocalliphora* (Diptera: Calliphoridae). Can J Zool 69: 2048-2058.
- Berger L, Speare R, Kent A. 1999. Diagnosis of chytridiomycosis in amphibians by histologic examination. Zoos Print J 15: 184-190.
- Bolek MG, Coggins JR. 2002. Observations on myiasis by the calliphorid, *Bufo lucilia silvarum*, in the eastern American toad (*Bufo americanus americanus*) from southeastern Wisconsin. J Wildl Dis 38: 598-603.
- Brown MJ, Schmid-Hempel R, Schmid-Hempel P. 2003. Strong context-dependent virulence in a host–parasite system: reconciling genetic evidence with theory. J Anim Ecol 72: 994-1002.
- Bulgarella M, Heimpel GE. 2015. Host range and community structure of avian nest parasites in the genus *Philornis* (Diptera: Muscidae) on the island of Trinidad. Ecol Evol doi: 10.1002/ece3.1621.
- Burnham KP, Anderson DR, Huyvaert KP. 2011 AIC model selection and multimodel inference in behavioral ecology: some background, observations, and comparisons. Behav. Ecol. Sociobiol. 65:23-35.
- Burnham KP, Anderson DR. 2002. Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach. Springer, New York.
- Bush AL, Fernandez JC, Esch GW, Seed JR. 2001. Parasitism: The Diversity and Ecology of Animal parasites. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Cabrera AL. 1994. Regiones fitogeográficas argentinas. En Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería. Tomo II. Fascículo I. Acme SACI, Buenos Aires.

- Campbell TW. 1997. Hematology. En: Avian Medicine: Principles and applications. (Eds.: Ritchie B, Harrison G, Harrison L). Wingers Publishing, Florida, pp. 100-114.
- Catts EP, Mullen GR. 2002. Myiasis (Muscoidea, Ostreidea). En: Medical and veterinary entomology (Eds: Mullen GR, Durden LA). Academic press. Pp: 317-348.
- Causton CE, Cunninghame F, Tapia W. 2013. Management of the avian parasite *Philornis downsi* in the Galapagos Islands: A collaborative and strategic action plan. En: Galapagos Report 2011–2012, GNPS, GCREG, CDF and GC, Puerto Ayora, Galápagos, Ecuador, pp. 167-173.
- Christie P, Richner H, Oppliger A. 1996. Begging, food provisioning, and nestling competition in great tit broods infested with ectoparasites. Behav. Ecol. 7: 127-131.
- Combes C. 2001. Parasitism: The ecology and evolution of intimate interactions. Chicago: University of Chicago Press.
- Couri MS. 1983. Descrição de 6 espécies novas de *Philornis* Meinert, 1890 (Diptera, Muscidae, Cyrtoneurinae). Revta Bras Zool 43: 297-309.
- Couri MS. 1999. Myiasis caused by obligatory parasites. Ia. *Philornis* Meinert (Muscidae). En 'Myiasis in Man and Animals in the Neotropical Region. Eds J. H. Guimarães and N. Papavero. Editora Plêiade/FAPESP: São Paulo. pp. 51-70.
- Couri MS, de Carvalho CJB. 2003. Systematic relations among *Philornis* Meinert, *Passeromyia* Rodhain and Villeneuve and allied genera (Diptera, Muscidae). Brazi J Biol 63: 223-232.
- Couri MS, Tavares MT, Stenzel RR. 2006. Parasitoidism of Chalcidid wasps (Hymenoptera, Chalcididae) on *Philornis* sp.(Diptera, Muscidae). Braz J Biol 66: 553-557.
- Couri MS, de Carvalho CJB, Löwenberg-Neto P. 2007. Phylogeny of *Philornis* Meinert species (Diptera: Muscidae). Zootaxa 1530: 19-26.
- Couri MS, Antoniazzi LR, Beldomenico P, Quiroga M. 2009. Argentine *Philornis* Meinert species (Diptera: Muscidae) with synonymic notes. Zootaxa 2261: 52-62.

- Coyne JA, Bundgaard J, Prout T. 1983. Geographic variation of tolerance to environmental stress in *Drosophila pseudoobscura*. Am Nat 122: 474-488.
- Crovetto T, Conti B, Delrio G. 1986 Effect of abiotic factors on *Ceratitis capitata* (Wied.) (Diptera: Tephritidae) - II. Pupal development under constant temperatures. En Fruit Flies of Economic Importance. (Ed: Cavalloro, R). Rotterdam, The Netherlands, Balkema. Pp. 141-147.
- Crump ML, Pounds JA. 1985. Lethal parasitism of an aposematic anuran (*Atelopus varius*) by *Notochaeta bufonivora* (Diptera: Sarcophagidae). J Parasitol 71: 588-591.
- Daszak P, Cunningham AA, Hyatt AD. 2000. Emerging infectious diseases of wildlife-threats to biodiversity and human health. Science 287: 443-449.
- Davies S, Kattel R, Bhatia B, Petherwick A, Chapman T. 2005. The effect of diet, sex and mating status on longevity in Mediterranean fruit flies (*Ceratitis capitata*), Diptera: Tephritidae. Exp Gerontol 40: 784-792.
- de Carvalho CJB, Couri MS, Pont AC, Pamplona D, Lopes S M. 1993. Part II. Muscidae. En: A catalogue of the Fanniidae and Muscidae (Diptera) of the neotropical region (Eds: de Carvalho CJB). Sociedade Brasileira de Entomologia, São Paulo, pp. 201.
- de Carvalho CJB, Couri MS, Pont AC, Pamplona DM, Lopes SM. 2005. A Catalogue of the Muscidae (Diptera) of the Neotropical Region. Zootaxa 860: 1-282.
- Deem SL, Karesh WB, Weisman W. 2001. Putting theory into practice: wildlife health in conservation. Conserv Biol 15: 1224-1233.
- del Hoyo J, Elliot A, Christie D. 2003. Handbook of the Birds of the World. Volume 8: Broadbills to Tapaculos. Lynx Edicions, Barcelona, España.
- Delannoy CA, Cruz A. 1991. *Philornis* parasitism and nestling survival of the Puerto Rican sharp-shinned hawk. En: Bird-Parasite Interactions: Ecology, Evolution, and Behaviour. (Eds.: Loye JE, Zuk M). Oxford University Press: Oxford, UK. pp. 93-103.
- de la Peña, M. 2005a. Las aves de la Reserva de Esperanza (Santa Fe). Ediciones Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina.

- de la Peña, MR. 2005a. Reproducción de las aves argentinas (con descripción de pichones). Monografía especial L.O.L.A. N° 20. Buenos Aires, Argentina.
- de la Peña MR, Antoniazzi L, Gamboa E. 2007. Guía de aves de la Provincia de Santa Fe. Consejo Federal de Inversiones, Subsecretaría de Turismo de la provincia de Santa Fe, Fundación Hábitat & Desarrollo. Ediciones Grupo Cuenca, Santa Fe, Argentina.
- de la Peña, MR. 2013. Citas, observaciones y distribución de aves argentinas: Edición ampliada. Serie Naturaleza, Conservación y Sociedad N° 7. Ediciones Biológica. Santa Fe, Argentina.
- Delvare G, Heimpel GE, Baur H, Chadee DD, Martinez R, Knutie SA. 2017. Description of *Brachymeria philornisae* sp. n. (Hymenoptera: Chalcididae), a parasitoid of the bird parasite *Philornis trinitensis* (Diptera: Muscidae) in Tobago, with a review of the sibling species. *Zootaxa* 4242: 34-60.
- Dodge HR. 1955. New muscid flies from Florida and the West Indies (Diptera: Muscidae). *Fla. Entomol* 38: 147-151.
- Dodge HR. 1963. A new *Philornis* with coprophagous larva, and some related species (Diptera: Muscidae). *J Kans Entomol Soc* 36: 239-247.
- Dodge HR, Aitken THG. 1968. *Philornis* flies from Trinidad (Diptera: Muscidae). *J Kans Entomol Soc* 41: 134-154.
- Dodge HR. 1971. Revisional studies of flies of the genus *Philornis* Meinert (Diptera, Muscidae). *Studia Entomol* 14: 458-459.
- Dominguez M, Reboreda JC, Mahler B. 2015. Impact of Shiny Cowbird and botfly parasitism on the reproductive success of the globally endangered Yellow Cardinal *Gubernatrix cristata*. *Bird Conserv Int* 25: 294-305.
- Dudaniec RY, Kleindorfer S. 2006. The effects of the parasitic flies *Philornis* (Diptera, Muscidae) on birds. *Emu* 106: 13-20.
- Dudaniec RY, Kleindorfer S, Fessl B. 2006. Effects of the introduced ectoparasite *Philornis downsi* on haemoglobin level and nestling survival in Darwin's Small Ground Finch (*Geospiza fuliginosa*). *Austral Ecol.* 31:88-94.

- Dudaniec RY, Fessl B, Kleindorfer S. 2007. Interannual and interspecific variation in intensity of the parasitic fly *Philornis downsi*, in Darwin's finches. *Biol Conserv* 139: 325-332.
- Dudaniec RY, Gardner MG, Kleindorfer S. 2010. Offspring genetic structure reveals mating and nest infestation behaviour of an invasive parasitic fly (*Philornis downsi*) of Galápagos birds. *Biol Invas* 12: 581-592.
- Fandiño B, Giraud AR. 2010. Revisión del inventario de aves de la provincia de Santa Fe, Argentina. *Revista FABICIB* 14: 116-137.
- Ferrar P. 1980. Cocoon formation by Muscidae (Diptera). *Austral Entomol* 19: 171-174.
- Fessl B, Couri M, Tebbich S. 2001. *Philornis downsi* Dodge and Aitken, new to the Galapagos Islands (Diptera, Muscidae). *Studia Dipterol* 8: 317-322.
- Fessl B, Sinclair BJ, Kleindorfer S. 2006. The life cycle of *Philornis downsi* (Diptera: Muscidae) parasitizing Darwin's finches and its impacts on nestling survival. *Parasitol* 133: 739-747.
- Fletcher MG, Axtell RC, Stinner R. E. 1990. Longevity and fecundity of *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) as a function of temperature. *J Med Entomol* 27: 922-926.
- Fournier DA, Skaug HJ, Ancheta J, Ianelli J, Magnusson A, Maunder MN, Sibert J. 2012. AD Model Builder: using automatic differentiation for statistical inference of highly parameterized complex nonlinear models. *Optim Method Softw* 27: 233-249.
- Fraga RM. 1984. Bay-winged cowbirds (*Molothrus badius*) remove ectoparasites from their brood parasites, the screaming cowbirds (*M. rufoaxillaris*). *Biotropica* 16: 223-226.
- Garamszegi LZ. 2011. Climate change increases the risk of malaria in birds. *Global Change Biol* 17: 1751-1759.
- Gillooly JF, Charnov EL, West GB, Savage VM, Brown JH 2002. Effects of size and temperature on developmental time. *Nature* 417: 70-73.
- Gilles J, David JF, Duvallet G. 2005. Temperature effects on development and survival of two stable flies, *Stomoxys calcitrans* and *Stomoxys niger niger* (Diptera: Muscidae), in La Reunion island. *J Med Entomol* 42: 260-265.

- Gortazar C, Ferroglio E, Höfle U, Frölich K, Vicente J. 2007. Diseases shared between wildlife and livestock: a European perspective. *Eur. J. Wildl. Res* 53: 241-256.
- Guimarães JH, Papavero N, Prado AP. 1983. As miases na região neotropical (identificação, biologia, bibliografia). *R Bras Zool* 1: 239-416.
- Guedes NMR, Werneck MR, Couri MS, Araújo FR. 1999. Infestação por larvas de *Philornis* em filhotes de arara-azul no Pantanal de Mato Grosso do Sul. In: Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 11, Anais, Salvador- Ba, pp. 127.
- Ghoneim K, Hamadah K, El-Hela A, Mohammad AH, Amer M. 2016. Efficacy of *Nigella sativa* (Ranunculaceae) extracts on adult performance and phase transition of the desert locust *Schistocerca gregaria* (Orthoptera: Acrididae). *Mun Ent Zool* 11: 287-302.
- Gulland FMD. 1992. The role of nematode parasites in Soay sheep (*Ovis aries* L.) mortality during a population crash. *Parasitol* 105: 493-503.
- Hall DC, Gerhardt RR. 2002. Flies (Diptera). En: *Medical and Veterinary Entomology*. (Eds: Mullen GR, Durden LA). Academic press. Pp: 127-145.
- Harvell CD, Mitchell CE, Ward JR, Altizer S, Dobson AP, Ostfield RS, Samuel MD. 2002. Climate warming and disease risk for terrestrial and marine biota. *Science* 296: 2158-2162.
- Haseyama KL, Wiegmann BM, Almeida EA, de Carvalho CJ. 2015. Say goodbye to tribes in the new house fly classification: A new molecular phylogenetic analysis and an updated biogeographical narrative for the Muscidae (Diptera). *Molecular phylogenetics and evolution* 89: 1-12.
- Huber S. 2008. Effects of the introduced parasite *Philornis downsi* on nestling growth and mortality in the medium ground finch (*Geospiza fortis*). *Biol Conserv* 141: 601-609.
- Hudson PJ, Dobson AP, Newborn D. 1998. Prevention of Population Cycles by Parasite Removal. *Science* 282: 2256-2258.
- Hughes RD. 1977. The population dynamics of the bushily: the elucidation of population events in the field. *Aust J Ecol* 2: 43-54.

- Hurtrez-Boussès S, Blondel J, Perret P, Fabreguettes J, Renaud FR. 1998. Chick parasitism by blowflies affects feeding rates in a Mediterranean population of blue tits. *Ecol Letters* 1: 17-20.
- Ibañez LM, Fiorini VD, Montalti D, DiIorio O, Turienzo P. 2015. Parasitism by Botflies *Philornis* sp. on European Starlings *Sturnus vulgaris*, an Exotic Bird in Argentina. *Ardeola*, 62: 363-372.
- ILAR. 2010. Guide for the care and use of laboratory animals, 7a ed. National Academy Press, Washington, D.C.
- IPCC 2001. Climate Change 2001: The Scientific Basis. Cambridge. University Press, Cambridge.
- Jones RH, Roughton, RD, Foster NM, Bando BM. 1977. Culicoides, the vector of epizootic hemorrhagic disease in white-tailed deer in Kentucky in 1971. *J Wild Dis* 13: 2-8.
- Jones KE, Patel NG, Levy MA, Storeygard A, Balk D, Gittleman JL, Daszak P. 2008. Global trends in emerging infectious diseases. *Nature* 45: 990-993.
- Kamal AS. 1958. Comparative study of thirteen species of sarcosaprophagous *Calliphoridae* and *Sarcophagidae* (Diptera) I. Bionomics. *Ann Entomol Soc Am* 51: 261-271.
- Kaspi R, Mossinson S, Drezner T, Kamensky B, Yuval B. 2002. Effects of larval diet on development rate and reproductive maturation of male and female Mediterranean fruit flies. *Physiol Entomol* 27: 29-38.
- Kimura M, Darbro JM, Harrington LC. 2010. Avian malaria parasites share congeneric mosquito vectors. *J Parasitol* 96: 144-151.
- Kinsella JM., Winegarner CE. 1974. Notes on the life history of *Neomusca porteri* (Dodge), parasitic on nestlings of the Great Crested Flycatcher in Florida. *J Med Entomol* 11: 633.
- Kleindorfer S, Peters KJ, Custance G, Dudaniec RY, O'Connor JA. 2014. Changes in *Philornis* infestation behavior threaten Darwin's finch survival. *Current Zool* 60: 542-550.

- Kleindorfer S, Dudaniec RY. 2016. Host-parasite ecology, behavior and genetics: a review of the introduced fly parasite *Philornis downsi* and its Darwin's finch hosts. BMC Zool 1: 1-19.
- Koop JAH, Huber SK, Lavery SM, Clayton DH. 2011. Experimental Demonstration of the Fitness consequences of an Introduced Parasite of Darwin's Finches. PLoS ONE 6: e19706.
- Koskela P, Itämies J, Pasanen S. 1974. *Lucilia bufonivora* Moniez (Diptera: Calliphoridae), a lethal parasite in *Rana temporaria* L. (Anura). Ann Zool Fenn 11: 105-106.
- Kovats R.S, Campbell-Lendrum DH, McMichael AJ, Woodward A, Cox JS. 2001. Early effects of climate change: Do they include changes in vectorborne disease? Phil Trans R Soc Ser B 356: 1057-1068.
- Loeschcke V, Krebs RA. 1996. Selection for heat-shock resistance in larval and in adult *Drosophila buzzatii*: comparing direct and indirect responses. Evol 50: 2354-2359.
- Kuttler KL. 1984. Anaplasma infections in wild and domestic ruminants: a review. J Wild Dis 20: 12-20.
- La Marca E, Lips KR, Lötters S, Puschendorf R, Ibáñez R, Rueda-Almonacid JV, García-Pérez JE. 2005. Catastrophic population declines and extinctions in neotropical harlequin frogs (Bufonidae: *Atelopus*). Biotropica 37: 190-201.
- Latino S, Beltzer AH. 1999. Ecología trófica del benteveo *Pitangus sulphuratus* (aves: Tyrannidae) en el valle de inundación del río Paraná, Argentina. Orsis: organismos i sistemas 14: 69-78.
- Lincango P, Causton CE. 2008. Crianza en cautiverio de *Philornis downsi* en las Islas Galápagos. Informe interno. Charles Darwin Foundation.
- Little SE. 2008. Myiasis in wild birds. En: Parasitic Diseases of Wild Birds. (Eds: Atkinson, Thomas NJ, Hunter DB). Wiley & Sons Inc. Pp: 546-556.
- Löwenberg-Neto P. 2008. The Structure of the Parasite-Host Interactions between *Philornis* (Diptera: Muscidae) and Neotropical Birds. J Trop Ecol 24: 575-580.

- Lobato E, Merino S, Moreno J, Morales J, Tomás G, Martínez-de la Puente J, Möstl E. 2008. Corticosterone metabolites in blue tit and pied flycatcher droppings: effects of brood size, ectoparasites and temperature. *Horm Behav* 53: 295-305.
- Lucas AM, Jamroz C. 1961 *Atlas of Avian Hematology*. United State Department of Agriculture, Washington.
- Luckinbill LS, Arking R, Clare MJ, Cirocco WC, Buck SA. 1984. Selection for delayed senescence in *Drosophila melanogaster*. *Evol* 38: 996-1003.
- Main AR, Bull CM. 2000. The impact of tick parasites on the behaviour of the lizard *Tiliqua rugosa*. *Oecologia* 122: 574-581.
- Maklakov AA, Lummaa V. 2013. Evolution of sex differences in lifespan and aging: causes and constraints. *BioEssays* 35: 717-724.
- Manzoli D, Antoniazzi L, Saravia M, Silvestri L, Rorhmann D, Beldomenico P. 2013. Multi-Level Determinants of Parasitic Fly Infection in Forest Passerines. *PLoS ONE* 8: e67104. doi:10.1371/journal.pone.0067104.
- Martin LB. 2009. Stress & immunity in wild vertebrates: Timing is everything. *Gen Comp Endocrinol* 163: 70-76.
- Martínez-de la Puente J, Merino S, Lobato E, Rivero-de Aguilar J, Del Cerro S, Ruiz-de-Castañeda R, Moreno J. 2009. Does weather affect biting fly abundance in avian nests? *J Avian Biol* 40: 653-657.
- McCarty JP, Wolfenbarger, Wilson JA. 2009. *Biological Impacts of Climate Change*. En: *Encyclopedia of Life Sciences* (Eds: Wiley J & Sons) Ltd: Chichester.
- Merino S, Potti J. 1996. Weather dependent effects of nest ectoparasites on their bird hosts. *Ecography* 19: 107-113.
- Monje LD, Quiroga M, Manzoli D, Couri MS, Silvestri L, Venzal JM, Cuervo P, Beldomenico PM. 2013. Sequence analysis of the internal transcribed spacer 2 (ITS2) from *Philornis seguyi* (García, 1952) and *Philornis torquans* (Nielsen, 1913) (Diptera: Muscidae). *Syst Parasitol* 86: 43-51.
- Mullen GR, Durden LA. 2002. *Medical and veterinary entomology*. Academic press.

- Muller HJ. 1970. Formen der Dormanz bei Insekten. Nova Acta Leopold 35: 1-27.
- Murray DL, Cary JR, Keith LB. 1997. Interactive effects of sublethal nematodes and nutritional status on snowshoe hare vulnerability to predation. J Animal Ecol 66: 250-264.
- Narosky T, Yzurieta D. 2003 Guía para la identificación de la Aves de Argentina y Uruguay. 15a ed. Buenos Aires: Vazquez Mazzini.
- Nores AI. 1995. Botfly ectoparasitism of the Brown Cacholote and the Firewood-gatherer. Wilson Bull 107: 734-738.
- O'connor J, Sulloway F, Robertson J, Kleindorfer S. 2010. *Philornis downsi* parasitism is the primary cause of nestling mortality in the critically endangered Darwin's medium tree finch (*Camarhynchus pauper*). Biodivers Conserv 19: 853-866.
- Partridge L, Green A, Fowler K. 1987. Effects of egg-production and of exposure to males on female survival in *Drosophila melanogaster*. J Insect Physiol 33: 745-749.
- Paterson S, Lello J. 2003. Mixed models: getting the best use of parasitological data. Trends Parasitol 19: 370-375.
- Pedersen AB, Jones KE, Nunn CL, Altizer S. 2007. Infectious Diseases and Extinction Risk in Wild Mammals. Cons Biol 21:1269-1279.
- Pinilla YT, Patarroyo MA, Bello FJ. 2013. *Sarconesiopsis magellanica* (Diptera: Calliphoridae) life-cycle, reproductive and population parameters using different diets under laboratory conditions. Forensic science international 233: 380-386.
- Price PW. 1980. Evolutionary biology of parasites. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- Pont AC. 1974. A revision of the genus *Passeromyia* Rodhain & Villeneuve (Diptera, Muscidae). Bull Brit Mus (Nat Hist) 30: 339-372.
- Quiroga R, Reboreda JC. 2012. Lethal and sublethal effects of botfly (*Philornis seguyi*) parasitism on House Wren (*Troglodytes aedon*) nestlings. Condor 114: 197-202.

- Quiroga MA, Reboreda JC. 2013. Sexual differences in life history traits of *Philornis seguyi* (Diptera: Muscidae) parasitizing House Wrens (*Troglodytes aedon*). *Ann Entomol Soc Am* 106: 222-227.
- Rabufetti F, Reboreda JC. 2007. Early infestations by botflies (*Philornis seguyi*) survival and nesting success in Chalk-Browed Mockingbirds (*Mimus saturninus*). *Auk* 124: 898-906.
- Radmacher S, Strohm E. 2011 Effect of constant and fluctuating temperatures on the development of the solitary bee *Osmia bicornis* (Hymenoptera: Megachilidae). *Apidologie* 42: 711-720.
- Retallick RW, McCallum H, Speare R. 2004. Endemic infection of the amphibian chytrid fungus in a frog community post-decline. *PLoS Biol* 2: e351.
- Ribeiro PB, Vianna EES, Costa PRP, Scholl PJ. 1993. Período de vida e capacidade de postura da *Dermatobia hominis*, em laboratório. *Rev Bras Parasitol Vet* 2: 29-31.
- Richner H, Oppliger A, Christe P. 1993. Effect of an ectoparasite on reproduction in great tits. *J Animal Ecol* 62: 703-710.
- Ridgely RS, Tudor G. 1994. The birds of South America, vol. II: the suboscine passerines. Univ. of Texas Press, Austin.
- Roelke-Parker ME, Munson L, Packer C, Kock R. 1996. Correction: A canine distemper virus epidemic in Serengeti lions (*Panthera leo*). *Nature* 381: 441-445.
- Romero LM, Reed JM. 2005. Collecting baseline corticosterone samples in the field: is under 3 min good enough? *Comp. Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 140: 73-79.
- Sabrosky CW, Bennett GF, Whitworth TL. 1989. Bird blow flies (*Protocalliphora*) in North America (Diptera: Calliphoridae) with notes on Palearctic species. Smithsonian Institution Press.
- Salvador SA, Bodrati A. 2013. Aves víctimas del parasitismo de moscas del Género *Philornis* en Argentina. *Nuestras Aves* 58: 16-21.
- Schrag S J, Wiener P. 1995. Emerging infectious disease: what are the relative roles of ecology and evolution?. *Trends Ecol Evol* 10: 319-324.

- Scott ME, Dobson A. 1989. The role of parasites in regulating host abundance. *Parasitol Today* 5: 176-183.
- Segura L, Reboresda JC. 2011. Botfly parasitism effects on nestling growth and mortality of red-crested cardinals. *Wilson J Ornithol* 123: 107-115.
- Silvestri L, Antoniazzi LR, Couri MS, Monje LD, Beldomenico PM. 2011. First record of the avian ectoparasite *Philornis downsi* Dodge & Aitken, 1968 (Diptera: Muscidae) in Argentina. *Sys Parasitol* 80: 137-140.
- Skidmore P. 1985. *The Biology of the Muscidae of the World*. Dr W. Junk Publishers, Dordrecht.
- Smith KF, Acevedo-Whitehouse K, Pedersen AB. 2008. The role of infectious diseases in biological conservation. *Animal Cons* 12: 1-12.
- Smith RN, Cain SL, Anderson SH, Dunk J, Williams ES. 1998. Blackfly-induced mortality of nestling red-tailed hawks. *Auk* 115: 368-375.
- Spalding MG, Mertins JW, Walsh PB, Morin KC. 2002. Burrowing fly larvae (*Philornis porteri*) associated with mortality of eastern bluebirds in Florida. *J Wild Diseases* 38: 776-783.
- Spradbery JP. 1994. Screw-worm fly: a tale of two species. *Agric Zool Rev* 6:1-62.
- Stange EE, Matthew AP. 2010 *Climate Change Impacts: Insects*. In: *Encyclopedia of Life Sciences* (Eds: Wiley J & Sons). Ltd: Chichester.
- Stenseth NC, Mysterud A, Ottersen G, Hurrell JW, Chan KS, Lima M. 2002. Ecological effects of climate fluctuations. *Science* 297: 1292-1296.
- Tauber MJ, Tauber CA, Masaki S. 1986. *Seasonal adaptations of insects*. Oxford University Press on Demand.
- Teixeira DM. 1999. Myiasis caused by obligatory parasites. In: *General observations on the biology of species of the genus Philornis Meinert, 1980 (Diptera, Muscidae)*. Pp. 71-96. En: *Myiasis in Man and Animals in the Neotropical Region*. (Eds: Guimaraes J. y N. Papavero). Pleidae, Sao Paulo, Brazil.

- Telles-Romero R, Toledo J, Hernández E, Quintero-Fong JL, Cruz-López L. 2011. Effect of temperature on pupa development and sexual maturity of laboratory *Anastrepha obliqua* adults. Bull Entomol Res 101: 565-571.
- Tirone G, Parise PP, Avancini RMP. 1996. Ovarian development in *Muscina stabulans* (Diptera, Muscidae) on different diets. Rev Bras Entomol 40: 105-106.
- Tompkins DM, Begon M. 1999. Parasites can regulate wildlife populations. Parasitol Today 15: 311-313.
- Tower J, Arbeitman M. 2009. The genetics of gender and life span. J Biol 8: 1-3.
- Uhazy LS, Arendt WJ. 1986. Pathogenesis associated with philornid myiasis (Diptera: Muscidae) on nestling pearly-eyed thrashers (Aves: Mimidae) in the Luquillo Rain Forest, Puerto Rico. J Wild Diseases 22: 224-237.
- Ulyett GC. 1950. Competition for food and allied phenomena in sheep-blowfly populations. Philos Trans R Soc, B 234: 77-174.
- Vezzani D, Eiras DF, Wisnivesky C. 2006. Dirofilariasis in Argentina: historical review and first report of *Dirofilaria immitis* in a natural mosquito population. Vet Parasitol 136: 259-273.
- Wallingford AK, Lee JC, Loeb GM. 2016. The influence of temperature and photoperiod on the reproductive diapause and cold tolerance of spotted-wing drosophila, *Drosophila suzukii*. Entomol Exp Appl 159: 327-337.
- Wharton DA. 1999. Parasites and low temperatures. Parasitol 119: S7-S17.
- Winker K. 1998. Suggestions for measuring external characters of birds. Ornitol Neotrop 9: 23-30.
- Wolff JN, Gemmell NJ. 2013. Mitochondria, maternal inheritance, and asymmetric fitness: why males die younger. BioEssays 35: 93-99.
- Woodford MH. 1992. The potential impact of New world screwworm *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel) on wildlife in Africa, the Mediterranean Basin, the Near East and Asia. FAO, SCNA/INT/MUL Technical Report, March 1992, 27 pp.

- Woolaver LG, Nichols RK, Morton ES, Stutchbury BJ. 2015. Breeding ecology and predictors of nest success in the Critically Endangered Ridgway's Hawk *Buteo ridgwayi*. *Bird Conserv Int* 25: 385-398.
- Yeates DK, Wiegmann BM. 2005. *The evolutionary biology of flies*. Columbia University Press.
- Young BE. 1993. Effects of the parasitic botfly *Philornis carinatus* on nestling house wrens, *Troglodytes aedon*, in Costa Rica. *Oecologia*. 93:256-262.
- Zumpt F. 1965. *Myiasis in Man and Animals in the Old World: A Textbook for Physicians, Veterinarians and Zoologists*. Surrey: Butterworth.
- Zwaan B, Bijlsma R, Hoekstra RF. 1995. Direct selection on life span in *Drosophila melanogaster*. *Evol* 49: 649-659.

ANEXO I: Artículos publicados.

- Patitucci LD, Quiroga M, Couri MS, Saravia-Pietropaolo MJ. 2017. Oviposition in the bird parasitic fly *Philornis torquans* (Nielsen, 1913) (Diptera: Muscidae) and eggs' adaptations to dry environments. *Zoologischer Anzeiger -A Journal of Comparative Zoology* 267:15-20.

- Saravia-Pietropaolo MJ, Arce SI, Manzoli Dario, Quiroga MA., Beldomenico PM. 2018. Aspects of the life a cycle of the avian parasite *Philornis torquans* (Diptera: Muscidae) under laboratory rearing conditions. *The Canadian Entomologist* 150: 317-325.