



TESINA PARA OPTAR POR EL GRADO DE LICENCIADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

**Estudio de la agresión entre machos de
Austrolebias reicherti y *A. charrua* y su efecto
sobre el aislamiento sexual entre ambas
especies.**

Noelle Rivas

Orientador: Dr. Carlos Passos

Co-orientadora: Dra. Bettina Tassino

Sección Etología, Facultad de Ciencias, UdelaR.

Mayo 2018.

Agradecimientos

A mis orientadores, Caco y Betta, por haberme orientado en la medida justa, guiándome pero dejándome crecer por mi cuenta en el trayecto; y por empujarme a presentar mi primer poster en un congreso.

A Betta por haberme presentado en la Sección Etología y al resto de la sección por aceptarme siempre con buena onda, en especial Caco y Federico, que junto con Betta fueron los primeros en recibirme. También gracias por el intercambio de bibliografía.

A mi vieja y mi hermana, que siempre estuvieron para apoyar en los momentos importantes y alcanzar un mate silencioso mientras analizaba los datos. También a Lucy, que fue la primera en leer extra oficialmente la tesina, y que aportó en cada etapa.

Y por último, a todos los muchos que me apoyaron a su modo en los momentos de estrés.

Introducción

Según el concepto biológico las especies son grupos de poblaciones que se reproducen entre sí y que están reproductivamente aisladas de otros grupos similares (Mayr, 1963). Dicho aislamiento se da mediante mecanismos de aislamiento reproductivo, pre-cigóticos y post-cigóticos, que actúan antes o después de la fertilización, respectivamente (Coyne & Orr, 1998), y disminuyen la probabilidad de generar descendencia entre individuos de distinta especie.

El estudio del aislamiento sexual entre especies cercanamente emparentadas se enfoca principalmente en las preferencias de apareamiento tanto de hembras (Ryan & Wagner, 1987; Conte & Schluter, 2013) como de machos (Roberts & Mendelson, 2017), ya que se consideran mecanismos de aislamiento reproductivo (Coyne & Orr, 1998) al impedir o facilitar el flujo genético. Sin embargo, otros comportamientos como las interacciones competitivas entre machos pueden influir en el mantenimiento del aislamiento reproductivo, (Nevo et al., 1975; Seehausen & Schluter, 2004; Vallin et al, 2012a; Dijkstra & Border, 2018) al favorecerlo (Vallin & Qvarnström, 2011; Zhou et al., 2015) o impedirlo (Bronson et al., 2003). Una de las maneras de favorecer el aislamiento reproductivo y la diversificación, es mediante la segregación espacial por competencia, ya que, en general, el aislamiento geográfico facilita la especiación (Coyne & Orr, 1998). En roedores del género *Spalax*, se propuso la que agresión interespecífica determinaría la distribución parapátrida mediante segregación espacial de las especies emergentes, y que entonces, la agresión interespecífica reforzaría su identidad actuando como un mecanismo de aislamiento pre-apareamiento (Nevo et al., 1975). Un escenario similar está documentado para las aves del género *Ficedula*: *F. hypoleuca* prefiere ambientes de follaje caduco en los que presenta alta propensión a hibridar. Sin embargo muestra dificultades para establecer territorios en ambientes habitados por *F. albicollis*, que mediante competencia lo desplazó a territorios con follaje no caduco, en los cuales el riesgo de hibridación disminuye (Vallin & Qvarnström, 2011). De esta manera se estaría reforzando el aislamiento pre-apareamiento mediante la segregación espacial por competencia interespecífica. En peces, también se ha demostrado que la competencia entre machos puede facilitar el aislamiento reproductivo. En

el género *Etheostoma* se ha propuesto que la competencia entre machos es el principal mecanismo de aislamiento reproductivo. En este caso, los machos son más agresivos con heteroespecíficos, y ese comportamiento parece asegurar que las hembras se encuentren más frecuentemente con machos homoespecíficos que con heteroespecíficos (Zhou et al., 2015). El género *Gastrosteus* presenta dos variantes de coloración que influyen en la competencia y en las preferencias de apareamiento. Los individuos de morfo negro suelen ganar los encuentros frente a los de morfo rojo, desplazándolos territorialmente, mientras el morfo rojo es preferido por todas las hembras para aparearse. Las capacidades competitivas del morfo negro permiten desplazar a su competidor por pareja a sitios alejados, y disminuyen las probabilidades de las hembras homotípicas se apareen con el morfo rojo. De este modo, mediante la segregación espacial, los machos favorecen las barreras de aislamiento reproductivas y facilitan la divergencia (Tinghitella et al., 2018). En cíclidos también se ha propuesto a la competencia entre machos como un mecanismo diversificador. Khoda (1998) propuso que la distribución de tres especies del género *Petrochromis* estaría mediada por el comportamiento agresivo y territorial hacia los machos homoespecíficos; y por su parte, Seehausen y Schluter (2004) plantearon que la agresión hacia los machos homotípicos generaría un efecto de selección negativa dependiente de frecuencia. En este contexto, las variantes raras podrían ser favorecidas por la selección sexual y de este modo establecerse, auspiciando la diversificación (Seehausen & Schluter, 2004; Qvarnström et al., 2012). En este caso, la competencia entre machos establecería escenarios que, en conjunto con la selección de caracteres sexuales, podría derivar en procesos de especiación. Por su parte, Dijkstra y Border (2018) plantean que la competencia puede facilitar la divergencia actuando a varios niveles; ya que sería capaz de generar nuevas variantes “raras” favorecidas por selección negativa dependiente de frecuencia. Además proponen que la competencia puede mejorar el aislamiento reproductivo cuando sus caracteres están bajo selección disruptiva, y por último, que cuando las especies ya se han establecido como especies independientes, la competencia entre machos podría facilitar su coexistencia (Dijkstra & Border, 2018)

Por el contrario, la competencia interespecífica podría interrumpir la diversificación al promover el flujo génico entre especies. Por un lado, la competencia entre machos puede propiciar el flujo génico al limitar las opciones de parejas disponibles para la reproducción; ya que cuando las hembras no pueden elegir libremente, los apareamientos heteroespecíficos se vuelven más comunes (Qvarnström et al., 2012). Las hembras ajustan su selectividad dependiendo de la disponibilidad de parejas, y se vuelven menos selectivas cuando disminuye la cantidad de potenciales parejas (Wirtz, 1999; Mullica, 1999, Passos et al, 2014). Es frecuente que cuando una hembra pueda elegir, prefiera al macho de su especie, sin embargo, en ausencia de machos homoespecíficos pueden aparearse con machos heteroespecíficos (Wirtz, 1999). La competencia puede reducir la disponibilidad de parejas debido a que es altamente costosa; implica costos que van desde la pérdida de tiempo y energía hasta el riesgo de lesiones y el aumento del riesgo de predación (Marler & Moore, 1988; Jakobsson et al., 1995; Briffa & Elwood, 2004; Qvarnström et al., 2012). También, se ha propuesto que puede modelar cambios en la proporción operacional de sexos (Passos et al, 2014) afectando directamente la cantidad de machos disponibles para reproducirse y generando un sesgo a la hora de la elección de pareja. Las hembras de *F. hypoleuca* y *F. albicollis* prefieren parejas homoespecíficas pero cuando no están disponibles, se aparean con heteroespecíficos e incluso con híbridos (Sætre et al., 1999). Vallin y colaboradores (2012a) proponen que la competencia entre machos de estas especies es el principal responsable de la hibridación entre hembras de *F. hypoleuca* y machos de *F. albicollis*, ya que en presencia de *F. albicollis* los machos de *F. hypoleuca* son desplazados de su área preferida. A medida que aumenta la densidad de *F. albicollis*, también aumenta el riesgo de hibridación para las hembras de *F. hypoleuca*, que demoran más tiempo que los machos en dejar el área. Los investigadores encontraron que, durante una estación reproductiva, la mayoría de las hembras que permaneció en área preferida se apareó con machos heteroespecíficos (Vallin et al., 2012a). Sin embargo, el riesgo de hibridación no aumenta sólo para las hembras de *F. hypoleuca*, sino que también aumenta para una variante de sus machos. Los machos de esta especie presentan dos variantes de coloración; marrón y negra. La variante negra es la más desplazada por *F. albicollis*, que, como hemos señalado anteriormente, es segregada hacia territorios donde el

riesgo de hibridación disminuye (Vallin & Qvarnström, 2011). Por su parte, la variante marrón es menos desplazada por *F. albicollis* y puede mantenerse en su territorio. La ausencia de la variante negra aumenta el éxito reproductivo de la marrón, que además, está en un territorio en el que tiene alta probabilidad de hibridar con *F. albicollis*. En este caso, la exclusión del morfo negro por competencia con *F. albicollis*, genera que la variante marrón aumente el riesgo de hibridación y aumente el flujo entre esta variante de *F. hypoleuca* y *F. albicollis* (Vallin et al., 2012b), a pesar de que, como ya se mencionó, también favorece el aislamiento entre estas especies cuando se trata de la variante negra (Vallin & Qvarnström, 2011). Asimismo, en poecílicos (*Poecilia reticulata*) otro tipo de competencia lleva a hibridación al impedir que las hembras expresen sus preferencias de apareamiento. Aunque las preferencias sexuales de las hembras favorecerían la evolución de barreras de aislamiento reproductivo entre poblaciones, dichas barreras no se han establecido debido a que el comportamiento “sneaky” de los machos impide la interrupción del flujo génico (Magurran, 1998).

Anteriormente, se presentaron casos en los que la competencia entre machos de distinta especie impide que las hembras expresen sus preferencias de apareamiento. Pero sin embargo, la competencia interespecífica puede llevar también a una modificación de las preferencias sexuales de las hembras aun cuando hay parejas homoespecíficas disponibles. Cuando dos especies comparten recursos para el apareamiento y una de ellas es dominante, ya sea porque exhibe superioridad en agresión, habilidades competitivas o tamaño, es probable que ocurra hibridación (Lipshutz, 2018). En el género *Calopteryx*, se ha propuesto que la competencia entre machos altera las preferencias de elección de las hembras debido a que afecta la calidad de territorio que los machos pueden obtener, y crea así un compromiso al elegir entre una pareja de alta calidad o una pareja con un territorio de alta calidad (Tynkkynen et al., 2004). Además, existen evidencias de que, en ocasiones, las hembras prefieren aparearse con machos dominantes sin importar su especie. En las lagartijas del género *Podarcis* los machos de un linaje del centro de Italia poseen rasgos exagerados que los vuelven dominantes en la competencia con machos de un linaje del oeste europeo. Esto aumenta el éxito reproductivo de estos machos, y

provoca que aumente el nivel de hibridación con las hembras del linaje opuesto (MacGregor et al., 2016; While et al., 2015). Algo similar ocurre en cíclidos del género *Tropheus*. En estos peces, los machos de color rojo dominan en los encuentros diádicos frente a otros dos morfos, lo que influye en la preferencia de apareamiento de todas las hembras aumentando la preferencia por el morfo rojo y evitando que las hembras rojas se apareen con machos de otras variantes (Sefc et al., 2015). Este tipo de comportamientos ocurre incluso en especies monógamas, como es el caso de los carboneros, *Poecilia atricapillus* y *P. gambelli*. En la zona de contacto entre estas especies, *P. atricapillus* es claramente dominante, y esto provoca que las hembras de *P. gambelli* tengan una alta cantidad de apareamientos extra pareja con los machos de *P. atricapillus*; por el contrario, las hembras de *P. atricapillus* casi no hibridan con machos de *P. gambelli* (Grava et al., 2012).

***Austrolebias* como modelo**

Los peces anuales habitan charcos temporales que se secan durante la primavera y el verano. Mientras los charcos persisten, los peces se reproducen mediante huevos resistentes a la desecación que permanecen latentes en el sustrato durante toda la temporada de verano. Al otoño siguiente, con la formación de nuevos charcos los embriones eclosionan, dando lugar a una nueva generación que rápidamente llega a la adultez y comienza su etapa reproductiva (Berois et al., 2016) (Fig. 1).

El género *Austrolebias* incluye más de 40 especies distribuidas en la cuenca Paraná-Plata y en el sistema de lagunas costeras Patos-Merín (Loureiro et al., 2016). *Austrolebias charrua* y *A. reicherti* son especies hermanas de divergencia reciente y distribución parapátrida con una zona de contacto en la parte baja del Río Cebollatí, Departamento de Treinta y Tres (García et al., 2009). Ambas especies presentan dimorfismo sexual, tanto en comportamiento como en morfología. El patrón de coloración de los machos es la diferencia morfológica básica entre las especies (Loureiro, 2004), que se diferencian por el patrón de bandas verticales del cuerpo y la pigmentación de sus aletas impares; *A. reicherti* se caracteriza por un patrón de bandas oscuras delgadas sobre un fondo claro

en sus flancos, y por tener las aletas dorsal y anal uniformemente pigmentadas; mientras que las bandas oscuras de *A. charrua* son más gruesas que las claras, y sus aletas dorsal y anal presentan puntos claros en sus bases (Loureiro y García, 2008). Por su parte, las hembras de ambas especies son relativamente similares entre sí, marrones y sin pigmentos en sus aletas (Loureiro y García, 2008) (Fig. 2).



Fig. 1. Charco temporal, donde habita *A. charrua*, en invierno (junio).



Fig. 2. Individuos adultos de *A. charrua* (izquierda) y *A. reicherti* (derecha), arriba ejemplares de hembras mostrando su coloración marrón y relativa similaridad. Abajo se muestran machos, cuyo patrón de bandas corporales y pigmentación de las aletas marca la diferencia entre las especies.

Por su parte, el dimorfismo sexual también se expresa mediante el comportamiento reproductivo, que es similar en ambas especies, y que consta de un cortejo durante el que la hembra tiene un rol evaluador mientras que el macho desarrolla una serie de despliegues que implican movimientos corporales y cambios en la coloración corporal y disposición de sus aletas (García et al., 2008). La selección sexual incide en la dinámica reproductiva de ambas especies, mediante la elección de pareja de las hembras y la competencia entre machos (Passos et al., 2016). Mientras que los machos no discriminan entre las hembras de ambas especies (Passos com pers), éstas muestran preferencia por los machos de su propia especie (Passos, 2013) y en general prefieren a los machos más grandes (Passos et al., 2013). Aunque las hembras prefieren machos homoespecíficos, en la zona de contacto se encuentran individuos de morfología intermedia entre ambas especies que coincide con la de individuos híbridos obtenidos en cautiverio, lo que evidencia que dichas especies hibridan en la naturaleza (Passos, 2013). Aunque los cruzamientos heteroespecíficos en cautiverio producen descendencia viable y fértil, y en la zona de contacto se encuentran “híbridos morfológicos”, estudios en laboratorio evidenciaron mecanismos de aislamiento pre y post-apareamiento (Passos, 2013). Por su parte, el aislamiento post-apareamiento se manifiesta en que los individuos

híbridos presentan una performance reproductiva disminuida respecto a las especies parentales ya que los huevos resultantes de cruza entre híbridos y retrocruzamientos dan lugar a peces adultos en menor proporción que los huevos de cruzamientos homoespecíficos. (Passos, 2013). El aislamiento pre-apareamiento se evidencia en que las hembras de ambas especies prefieren aparearse con machos homoespecíficos y esta preferencia es más pronunciada en las poblaciones provenientes de la zona de contacto que en las áreas de alopatria (Passos, 2013). Esto se ve reforzado por desplazamiento de caracteres reproductivos, ya que se observa un aumento de la diferencia entre sus caracteres sexuales de los machos (patrones de pigmentación corporal) a medida que se acercan a la zona de contacto (Passos, 2013). Esta característica provocaría que el aislamiento pre-apareamiento sea mayor en las áreas de contacto que en las zonas alopátridas, de modo de evitar así la hibridación. Sin embargo, resta evaluar si la competencia entre los machos de ambas especies afecta la dinámica reproductiva en la zona de contacto y por tanto influye en la hibridación.

En ambas especies la selección intrasexual se manifiesta mediante la competencia entre machos y el establecimiento de jerarquías (Passos et al., 2016). El comportamiento agresivo consiste en una serie de despliegues locomotores alternados con ataques (Fabra, 2011; Passos et al., 2013, Passos et al., 2016). El encuentro agresivo se desarrolla en tres etapas bien diferenciadas.; el 1) pre-conflicto o etapa de evaluación, en que los machos no atacan pero realizan despliegues laterales o sigmoides; 2) conflicto, etapa que se inicia con el primer ataque del encuentro y 3) resolución o etapa de post-conflicto caracterizada por el establecimiento de la dominancia. En esta última etapa el macho subordinado disminuye su coloración, repliega sus aletas y huye frecuentemente, mientras el dominante intensifica su coloración, despliega las aletas y ataca (Fabra, 2011; Passos et al., 2013, Passos et al., 2016). Este establecimiento de jerarquía está mediado por el tamaño corporal siendo los machos grandes quienes suelen dominar (Fabra, 2011; Passos et al., 2013, Passos et al., 2016). Además, cuanto más grande es la diferencia de tamaño entre los oponentes, más rápido se resuelve el conflicto (Fabra, 2011).

Passos y colaboradores (2014) demostraron que la proporción de machos de las poblaciones naturales disminuye a medida que avanza la estación reproductiva, cambio propuesto como resultado de la intensa competencia entre machos, el gasto energético de los despliegues de cortejo y posiblemente mayor tasa de predación debido a la coloración. A su vez, este cambio en la proporción sexual se acompaña de la disminución de la selectividad de las hembras a medida que avanza la estación reproductiva: la marcada preferencia por los machos grandes que muestran al inicio de la temporada, se pierde hacia el final (Passos et al., 2014).

A pesar de las preferencias de las hembras hacia parejas homoespecíficas, los altos niveles de competencia entre machos plantean como interrogante si la competencia y las interacciones agresivas entre los machos de ambas especies afectan la dinámica reproductiva en la zona de contacto y por tanto influyen en la hibridación.

Objetivos

El objetivo general de este trabajo es estudiar el comportamiento agonístico entre machos de *A. charrua* y *A. reicherti* y evaluar un posible efecto en la hibridación entre ambas especies.

Los objetivos específicos son: (1) evaluar el nivel de agresión interespecífica de ambas especies, y (2) estimar si existe agresión diferencial hacia machos homo y heteroespecíficos.

En base al análisis de dos tipos de experiencias se evalúa la intensidad y preferencia de la agresión en estas especies, intentando responder si hay una diferencia en la agresividad, cuál especie es más agresiva; y si despliega más agresión frente a hetero u homoespecíficos. Mediante pruebas de interacción diádica se evalúa si la competencia interespecífica puede favorecer el flujo génico mediante el enmascaramiento de las preferencias sexuales de las hembras, y a través de pruebas de elección dual se espera responder si la competencia entre ambas especies puede estar favoreciendo las barreras de aislamiento pre-apareamiento al causar segregación espacial.

Existen múltiples trabajos que demuestran la fiabilidad de los resultados obtenidos al emplear encuentros diádicos (Fabra, 2011; Passos et al., 2013) y pruebas de elección dual (Reyes, 2011; Passos, 2013; Passos et al., 2013; Passos et al., 2014) en *Austrolebias*. Además, que exista un protocolo de cría (Berois et al., 2016), el corto ciclo vital, el pequeño tamaño, y la facilidad de manipulación hacen de *Austrolebias* un modelo adecuado para el estudio comportamental en laboratorio.

Metodología

Colecta y mantenimiento de ejemplares

Se utilizaron ejemplares adultos de *A. reicherti* y *A. charrua* colectados en poblaciones parapátridas del Departamento de Treinta y Tres (Fig. 3), durante la temporada reproductiva 2011. La colecta se realizó utilizando red manual, y los peces fueron trasladados al acuario de Facultad de Ciencias. Los machos se alojaron en acuarios individuales (20 x 9 x 15 cm., largo x ancho x altura) para prevenir interacción y establecimiento de jerarquías, y las hembras en acuarios comunales (40 x 15 x 5 cm.), con un máximo de 5 hembras por acuario. Todos los ejemplares fueron alimentados diariamente con *Tubifex sp.*, y mantenidos en condiciones de fotoperíodo natural y temperatura constante (19°C). Luego de ser utilizados, los ejemplares formaron parte del stock de cría en cautiverio.

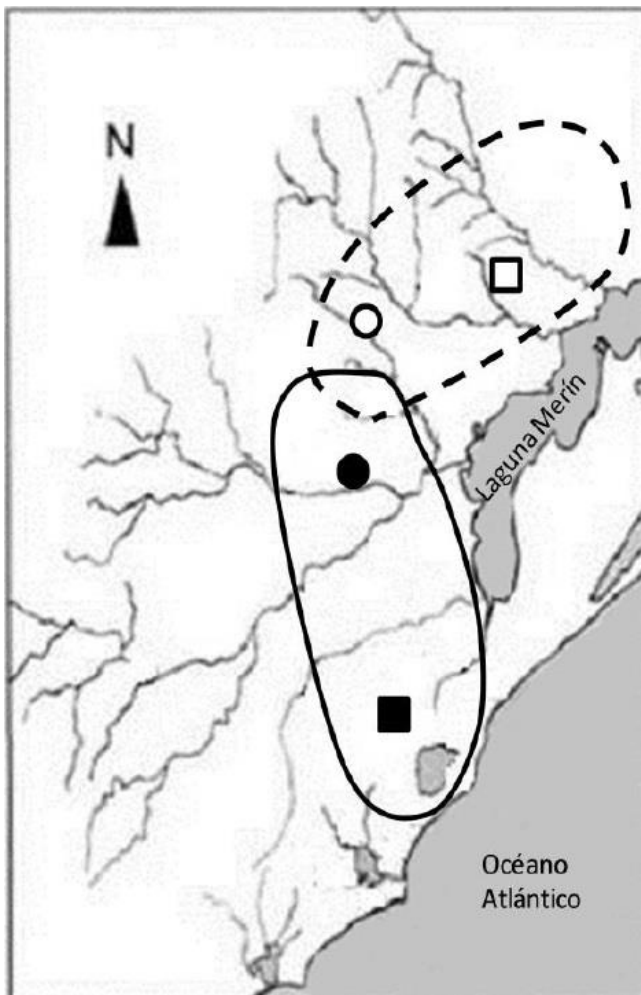


Fig. 3. Distribución espacial de *Austrolebias reicherti* (línea punteada) y *A. charrua* (línea entera). Los puntos representan las zonas de distribución parapátrida (*A. reicherti* punto blanco, *A. charrua* punto negro).

Actividades experimentales

Se realizaron dos tipos de experiencias relacionadas con los objetivos específicos: (1) para evaluar si existe agresión diferencial hacia machos homo y heteroespecíficos se realizaron pruebas de elección dual sin contacto físico entre los individuos; y (2) para evaluar el nivel de agresión interespecífica se realizaron pruebas de interacción directa entre díadas de machos. Todos los ensayos se realizaron en el laboratorio de la Sección Etología de la Facultad de Ciencias bajo temperatura constante (19°C).

(1) Pruebas de elección dual:

El acuario experimental (40 x 20 x 20 cm.) (Fig. 4) constó de tres secciones separadas entre sí por tabiques verticales perforados, que permitieron el paso del agua de una sección a otra; se definieron así dos secciones laterales, de 5 cm. de largo, y una central de 30 cm. de largo. Dentro de la zona central se hicieron marcas externas cada 10 cm., marcando así dos zonas de elección en los extremos, y una zona neutral en el centro. Las paredes laterales y posteriores fueron cubiertas con plástico blanco a modo de evitar perturbaciones durante las experiencias. En la zona neutral se dispuso un recipiente con turba a modo de territorio con sustrato apto para la oviposición y se colocó un macho (a ser macho focal) y dos hembras, una de cada especie, durante 24hs, con el fin de aumentar la motivación de los machos. Luego, las hembras fueron retiradas y se contuvo al macho focal en un prisma de acrílico opaco (10 x 10 x 20 cm.) en el centro del compartimiento durante 5 minutos. En ese momento se colocaron los machos estímulo; un macho *A. charrua* de un lado y un macho *A. reicherti* del otro, en orden aleatorio. Los machos estímulo fueron elegidos visualmente similares entre sí y de menor tamaño que los machos focales. Luego, se retiró el acrílico contenedor del macho focal y se videograbó su comportamiento durante 15 minutos. A continuación, se volvió a recluir al macho focal en el acrílico contenedor durante otros 5 minutos, y los machos estímulos fueron intercambiados de posición. Una vez más, se retiró el acrílico contenedor y se videograbó durante otros 15 minutos el comportamiento del macho focal.

Se realizaron un total de 30 réplicas de este ensayo, en las cuales 15 machos focales fueron *A. reicherti*, y los otros 15 fueron *A. charrua*. Cada diada de machos estímulo fue utilizada para evaluar el comportamiento de un macho focal *A. charrua* y un focal *A. reicherti*. Al día siguiente, cada diada de machos estímulo fue utilizada para realizar las pruebas de interacción diádica.

Se registró la masa corporal y la medida del largo del cuerpo de los machos estímulo y focales. Para la medición de la masa corporal los peces se retiraron del acuario y se los colocó sobre una hoja de papel absorbente para retirar el agua superficial, inmediatamente fueron colocados sobre una balanza digital de precisión ± 0.01 g. Con el fin de obtener la longitud corporal de los machos se los colocó sobre un vidrio con una referencia métrica y se les tomó una fotografía de la que luego se extrajeron las medidas. Utilizando el programa tpsDig232 se midió el largo desde el margen anterior de la cabeza hasta el margen distal del pedúnculo caudal. Además se calculó la Condición Corporal de Fulton, que se define como: $K = 100 \times (\text{peso}/\text{largo}^3)$.

(2) Interacciones diádicas:

En un acuario (40 x 20 x 20 cm.), cuyas las paredes se cubrieron de plástico al igual que el acuario anterior, (Fig. 4) y que contuvo un recipiente con sustrato apto para la oviposición en el centro, se dispuso una diada de machos acompañada de dos hembras, una de cada especie, y se permitió la libre interacción entre todos los individuos. Las hembras se colocaron primero, y luego de un tiempo de aclimatación se introdujeron ambos machos al mismo tiempo. A continuación, se registró mediante videograbaciones los primeros 20 minutos, y una vez transcurrida la primer hora de la interacción se registró el estado de dominancia/subordinación de la diada. Se realizaron 14 ensayos utilizando sólo una vez a cada ejemplar.

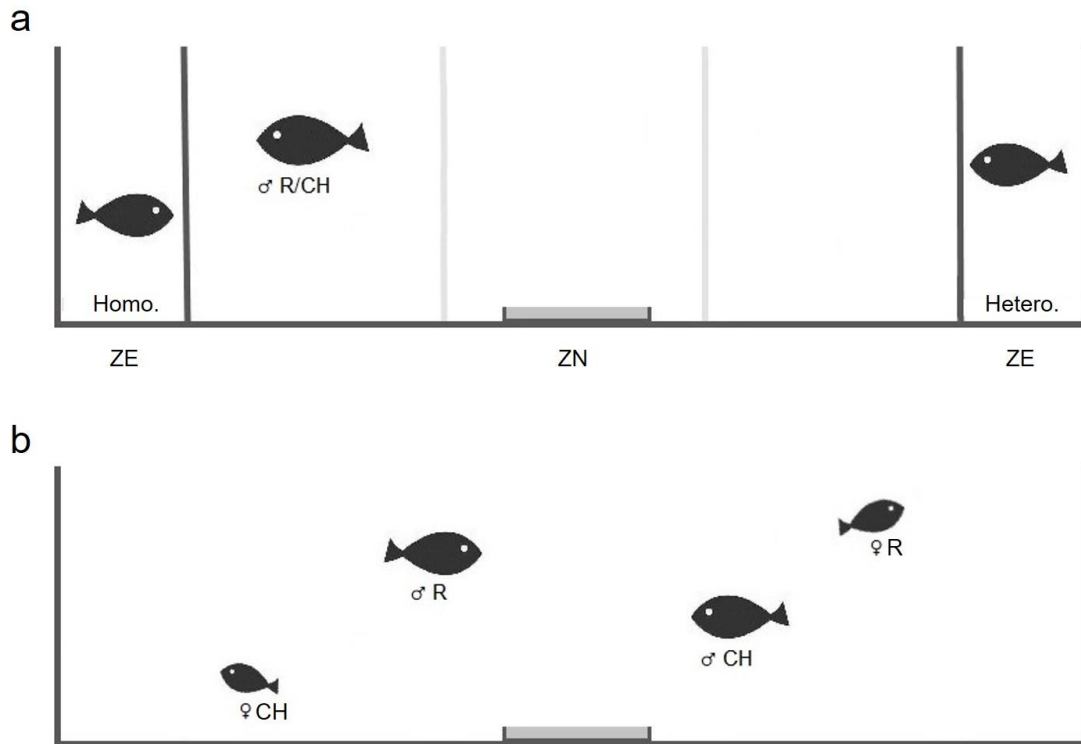


Fig. 4. Acuarios experimentales para las pruebas de elección dual (a) e interacciones diádicas (b). a. El acuario constó de tres secciones separadas por tabiques perforados (gris oscuro). A su vez, la zona central se dividió mediante marcas externas (gris claro) en dos zonas laterales de elección (ZE) y una zona central neutra (ZN). En la ZN se colocó un recipiente con turba y en cada ZE un macho estímulo. Homo: macho estímulo homoespecífico; Hetero: macho estímulo heteroespecífico. b. El acuario, conteniendo un recipiente con turba en el centro, alojó dos hembras y dos machos de cada especie, a los que se le permitió la libre interacción.

Variables y análisis estadístico

A partir de las videograbaciones de las experiencias se registraron las siguientes variables:

(1) Pruebas de elección dual:

Para los machos focales se registró el tiempo que éste permaneció en cada zona de elección. También se registró, en cada zona, la frecuencia y duración de las siguientes unidades comportamentales: orientado quieto, ataque con vibración, ataque puntual, despliegue lateral y despliegue sigmoide (Tabla 1). Los machos estímulo también fueron observados y se registró la duración de las mismas unidades

comportamentales. Algunas de las unidades comportamentales consideradas fueron previamente descritas (Passos et al., 2016), y se describió además dos nuevas unidades comportamentales. La unidad ‘persigue’ se describió en los encuentros diádicos, luego de su resolución; y en las pruebas de elección dual se describió la unidad ‘ataque con vibración’ (Tabla 1).

Se calculó la preferencia del macho focal como el tiempo de agresión hacia un estímulo en relación al tiempo de agresión dirigida hacia ambos estímulos. Este mismo cálculo se realizó para las frecuencias de unidades comportamentales hacia los estímulos. Un macho estímulo fue considerado preferido cuando el focal pasó más del 55% del tiempo agrediendo, o cuando dirigió hacia él más del 55% de las unidades agresivas.

Tabla 1. Descripción de las unidades comportamentales agresivas de los machos de *Austrolebias*.

Unidad	Descripción
Ataque (A)	El actor muerde, o intenta morder al otro. Usualmente dirigido a las aletas.
Ataque con vibración (AV)	El actor realiza repetidos intentos de ataque a la vez que hace vibrar su cuerpo.
Despliegue lateral (DL)	El individuo extiende y hace vibrar sus aletas mientras permanece quieto.
Despliegue lateral con contacto (DLC)	Despliegue lateral con ambos actores tocándose en posición paralela o antiparalela.
Despliegue sigmoide (DS)	Despliegue lateral con ondulaciones del cuerpo.
Persigue (P)	Persecución rápida de otro individuo.
Sumisión (S)	Desplazamiento rápido hacia los bordes o esquinas, acompañado de pérdida de coloración y repliegue de aletas.

(2) Interacciones diádicas:

En cada caso, se registró la latencia del primer ataque (tiempo transcurrido desde el comienzo del ensayo hasta que se da el primer ataque), latencia de la primer unidad conductual (tiempo transcurrido desde el inicio del ensayo hasta que se realiza la primer unidad agresiva), la duración del conflicto (tiempo transcurrido desde que se da el primer ataque hasta que se establece la dominancia), y relación de dominancia al momento de la resolución y a la hora de haber comenzado el ensayo. Se consideró que un conflicto estaba resuelto cuando no hubo un nuevo

inicio de la contienda por un período de al menos 3 minutos luego de la resolución.

Por otro lado, también se registraron la frecuencia y el tiempo total en el que cada individuo realizó las siguientes unidades comportamentales: ataque, despliegue lateral, despliegue lateral con contacto, despliegue sigmoide, persigue y sumisión (Tabla 1).

Se aplicaron pruebas paramétricas (pruebas t) a los datos, salvo en aquellos casos en que no se ajustaron a la normalidad, en cuyos casos se utilizaron pruebas no paramétricas (Prueba de Wilcoxon para muestras pareadas o Prueba de Mann-Whitney según correspondiera). Se utilizó prueba Binomial, con $p = 0.5$, para analizar las preferencias de las pruebas de elección dual y algunas variables de las pruebas de interacción diádica, aquellos casos donde no se pudo determinar preferencia no fueron tomados en cuenta para el análisis Binomial. La normalidad de las muestras se analizó mediante el test Kolmogorov-Smirnov. En todos los casos el nivel de significancia considerado fue $\alpha = 0.05$; y todos los datos fueron analizados utilizando los software Minitab y Past. Los valores representan la media \pm el desvío estándar, salvo que se indique otra cosa.

Resultados

Medidas, pesos y condiciones corporales de Fulton

Los valores de la medida de la longitud del cuerpo, el peso, y la condición corporal de Fulton no fueron significativamente distintos entre los machos estímulo de ambas especies (longitud del cuerpo, prueba de Wilcoxon para muestras pareadas, $z = 0.511$, $p = 0.609$; peso, prueba t para muestras pareadas, $t_{15} = 1.266$, $p = 0.226$; condición corporal de Fulton, prueba t para muestras pareadas, $t_{15} = 1.451$, $p = 0.169$). Por su parte, los machos focales de ambas especies fueron significativamente más grandes que los machos estímulo en el largo corporal (*A. reicherti*, prueba t para muestras pareadas, $t_{15} = 4.261$, $p < 0.001$; *A. charrua*, prueba t para muestras pareadas, $t_{15} = 3.428$, $p = 0.004$), los pesos (*A. reicherti*, prueba t para muestras pareadas, $t_{15} = 4.002$, $p = 0.001$; *A. charrua*, prueba de Wilcoxon para muestras pareadas, $z = 3.045$, $p = 0.002$) y la condición corporal de Fulton (*A. reicherti*, prueba t para muestras pareadas, $t_{15} = 4.063$, $p = 0.001$; *A. charrua*, prueba de Wilcoxon para muestras pareadas, $z = 3.181$, $p = 0.002$) (Tabla 2).

Tabla 2. Valores para la longitud, peso y condición corporal de los machos focales y estímulos de ambas especies. (a) media \pm DE.

	Longitud (cm) ^a	Peso (gr) ^a	Condición corporal de Fulton (gr/cm ³) ^a
Estímulos	<i>A. Reicherti</i>	4 \pm 0,36	1,57 \pm 0,40
	<i>A. charrua</i>	3,96 \pm 0,28	1,49 \pm 0,28
Focales	<i>A. reicherti</i>	4,45 \pm 0,34	1,95 \pm 0,43
	<i>A. charrua</i>	4,29 \pm 0,27	1,83 \pm 0,36

Pruebas de elección dual

A diferencia de lo que ocurre en un encuentro diádico donde los individuos tienen contacto físico, en las pruebas de preferencia no se pueden distinguir las etapas; en ninguno de los encuentros se constató resolución del conflicto y establecimiento de jerarquías.

Los machos focales de ambas especies pasaron significativamente más tiempo asociados a las zonas de elección que a la zona neutra (*A. reicherti*, prueba de Wilcoxon para muestras pareadas, $z = 3.408$, $p < 0.001$; *A. charrua*, prueba de Wilcoxon para muestras pareadas, $z = 3.408$, $p < 0.001$) (Fig. 11)

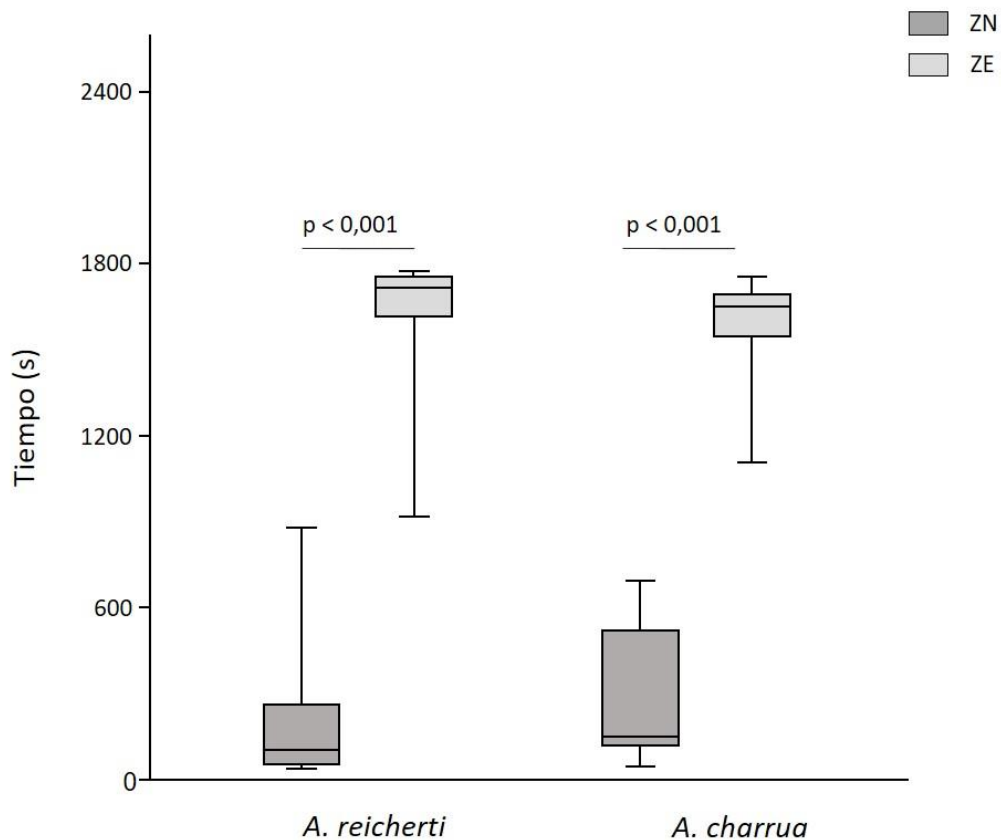


Fig. 11. Tiempo de asociación (mediana \pm ES) de los machos focales a las zonas neutras (ZN) y zonas estímulo (ZE).

Con respecto al tiempo total en que los machos focales agreden a ambos machos estímulo, *A. reicherti* y *A. charrua* no mostraron diferencias significativas (prueba de Wilcoxon para muestras pareadas, $z = 0.909$, $p = 0.363$) (Fig. 12)

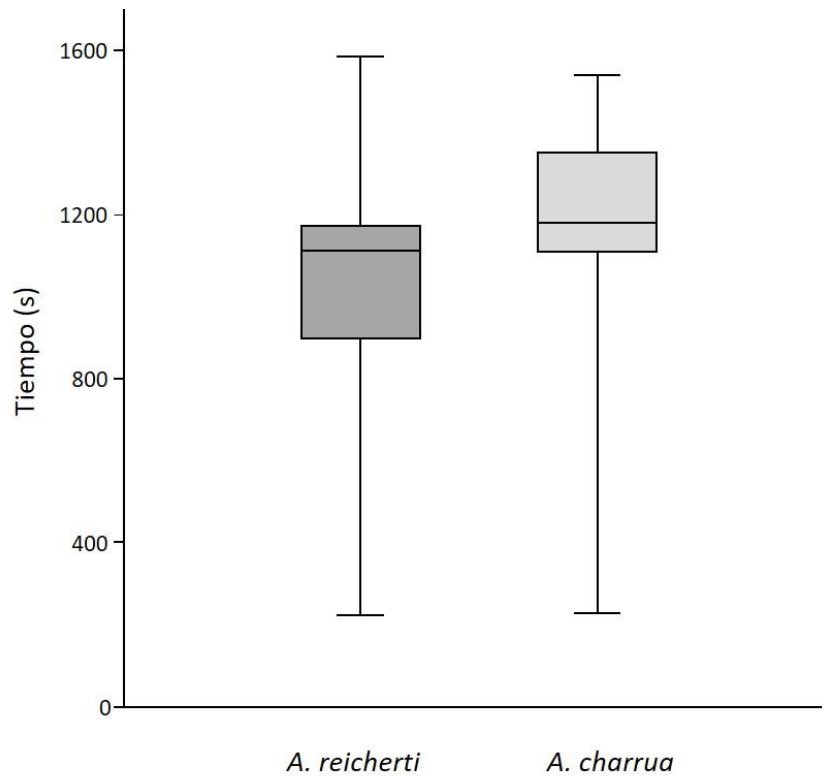


Fig. 12. Duración de conductas agresivas (mediana \pm ES) de los machos focales hacia ambos machos estímulo.

Sin embargo, en cuanto a preferencias, los machos focales de *A. reicherti* mostraron preferencias significativas por el macho homoespecífico tanto en el tiempo de asociación con las zonas de elección como en el tiempo de realización de conductas agresivas (prueba Binomial, $N = 10$, $p = 0.044$). Por su parte, *A. charrua* no mostró preferencia significativa por ninguno de los machos estímulo ni en el tiempo de asociación a las zonas de elección (prueba Binomial, $N = 11$, $p = 0.226$) ni en el tiempo de agresión (prueba Binomial, $N = 9$, $p = 0.164$) (Tabla 4).

Tabla 4. Preferencias de asociación de los machos focales a zonas de elección y de realización de unidades comportamentales agresivas hacia machos estímulo homo y heteroespecíficos. ‘Prefiere’ indica la cantidad de veces que el macho focal prefirió a su homoespecífico, N indica la cantidad de veces que se determinó preferencia por alguno de los estímulos, p representa los valores de probabilidad de la prueba Binomial.

	Tiempo en zonas de elección			Tiempo de agresión		
	Prefiere	N	p	Prefiere	N	p
<i>A. reicherti</i>	8	10	0.044	8	10	0.044
<i>A. charrua</i>	5	11	0.226	3	9	0.164

Los machos focales de *A. reicherti* pasaron significativamente más tiempo en la zona de elección del homoespecífico (prueba t para muestras pareadas, $t_{15} = 2.244$, $p = 0.042$), y el tiempo que invirtieron realizando conductas agresivas hacia el estímulo homoespecífico fue marginalmente mayor (prueba t para muestras pareadas, $t_{15} = 2.090$, $p = 0.055$). Sin embargo, los machos focales de *A. charrua* no presentaron diferencias significativas ni en el tiempo asociado a las zonas de elección homo y heteroespecíficas (prueba t para muestras pareadas, $t_{15} = -0.267$, $p = 0.793$), ni en el tiempo de realización de conductas agresivas entre ambos machos estímulo (prueba t para muestras pareadas, $t_{15} = 0,396$, $p = 0.698$) (Fig.13).

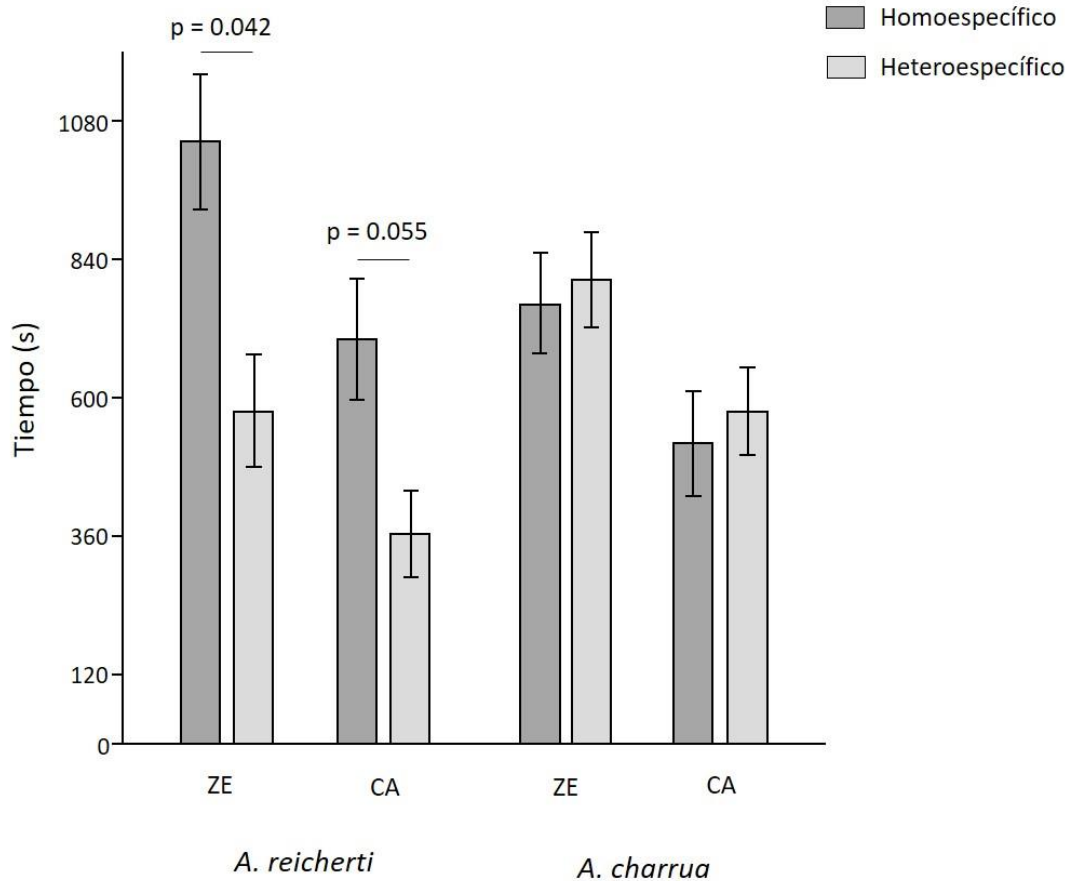


Fig. 13. Tiempo que pasan los machos focales de *A. reicherti* y *A. charrua* asociados a la zona de elección (ZE) o realizando comportamientos agresivos (CA) (media \pm ES) a los machos estímulo homo o heteroespecífico.

Con el fin de descartar efectos de los machos estímulo en el comportamiento agresivo de los machos focales, se evaluó las diferencias en el tiempo de realización de comportamientos agresivos de ambos machos estímulo hacia el mismo macho focal. No se constataron diferencias significativas en los tiempos de agresión hacia el mismo macho focal entre los machos estímulos de *A. reicherti* y *A. charrua* (prueba t para muestras pareadas, $t_{24} = 0.921$, $p = 0.367$) (Fig. 14).

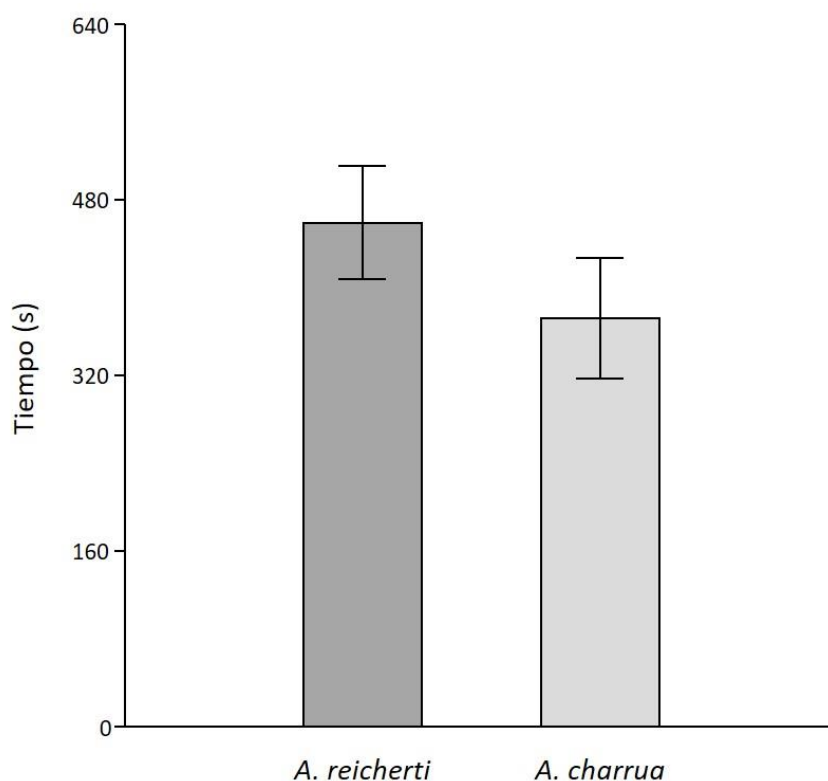


Fig. 14. Duración de conductas agresivas (media \pm ES) de los machos estímulo de *A. reicherti* y *A. charrua* a su macho focal.

Con respecto a la preferencia de unidades comportamentales *A. reicherti* prefirió significativamente al macho estímulo homoespecífico a la hora de realizar ataques de puntuales (prueba Binomial, $N = 13$, $p = 0.035$) y unidades comportamentales totales (prueba Binomial, $N = 10$, $p = 0.044$), además también presenta preferencias marginalmente significativas por el homoespecífico en los ataques con vibración y despliegues laterales (prueba Binomial, $N = 12$, $p = 0.054$); por otro lado, no tiene preferencias significativas con respecto a la realización de despliegues sigmoides (prueba Binomial, $N = 14$, $p = 0.183$). Por su parte, *A. charrua* no muestra preferencias significativas por ninguno de los machos estímulo en tres de las unidades comportamentales ni tampoco en el total de éstas (A, prueba Binomial, $N = 11$, $p = 0.226$; despliegues DL, prueba Binomial, $N = 13$, $p = 0.157$; DS, prueba Binomial, $N = 12$, $p = 0.193$; T, prueba Binomial, $N = 10$, $p = 0.205$); pero si presenta una preferencia marginalmente significativa por el macho estímulo heteroespecífico a la hora de realizar ataques con vibración (prueba Binomial, $N = 11$, $p = 0.081$).

Los machos focales de *A. reicherti* realizaron significativamente más ataques con vibración (prueba t para muestras pareadas, $t_{15} = 0.229$, $p = 0.043$), despliegues laterales (prueba t para muestras pareadas, $t_{15} = 0.227$, $p = 0.043$) y unidades totales (prueba t para muestras pareadas, $t_{15} = 0.237$, $p = 0.042$), hacia el macho homoespecífico que hacia el heteroespecífico; los ataques puntuales (prueba de Wilcoxon para muestras pareadas, $z = 1.749$, $p = 0.08$) y los despliegues sigmoides (prueba de Wilcoxon para muestras pareadas, $z = 1.733$, $p = 0.083$) tuvieron tendencias marginalmente significativas, siendo mayor la cantidad de unidades dirigidas hacia el macho homoespecífico (Fig. 15).

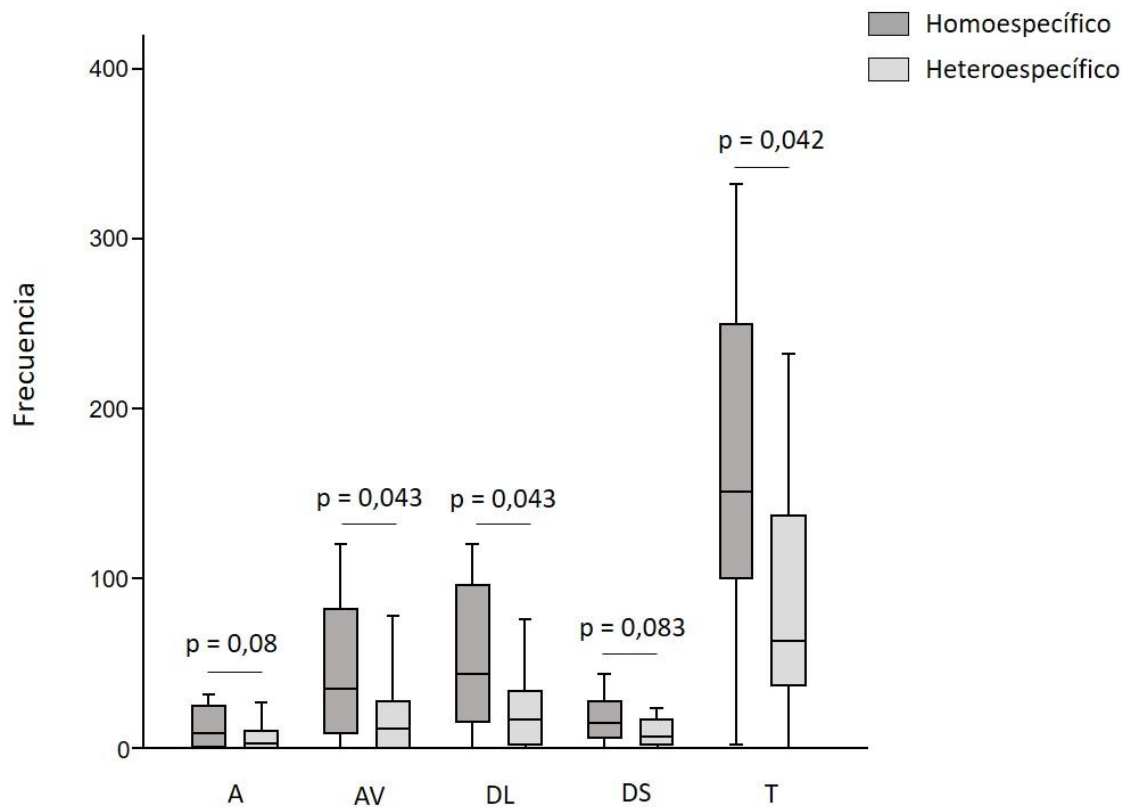


Fig. 15. Frecuencia de unidades comportamentales (mediana \pm ES) de *A. reicherti*, A = ataques puntuales, AV = ataques con vibración, DL = despliegues laterales, DS = despliegues sigmoides, T = unidades totales.

A. charrua no presentó diferencias significativas en la frecuencia de ninguna de las unidades agresivas dirigidas a los machos estímulo homo y heteroespecífico (Fig. 16). (A, prueba t para muestras pareadas, $t_{15} = -1.262$, $p = 0.227$; AV, prueba de Wilcoxon para muestras pareadas, $z = 1.449$, $p = 0.147$; DL, prueba de Wilcoxon para muestras pareadas, $z = 1.052$, $p = 0.293$; DS, prueba de Wilcoxon para muestras pareadas, $z = 0.682$, $p = 0.495$, T = prueba de Wilcoxon para muestras pareadas, $z = 0.908$, $p = 0.364$)

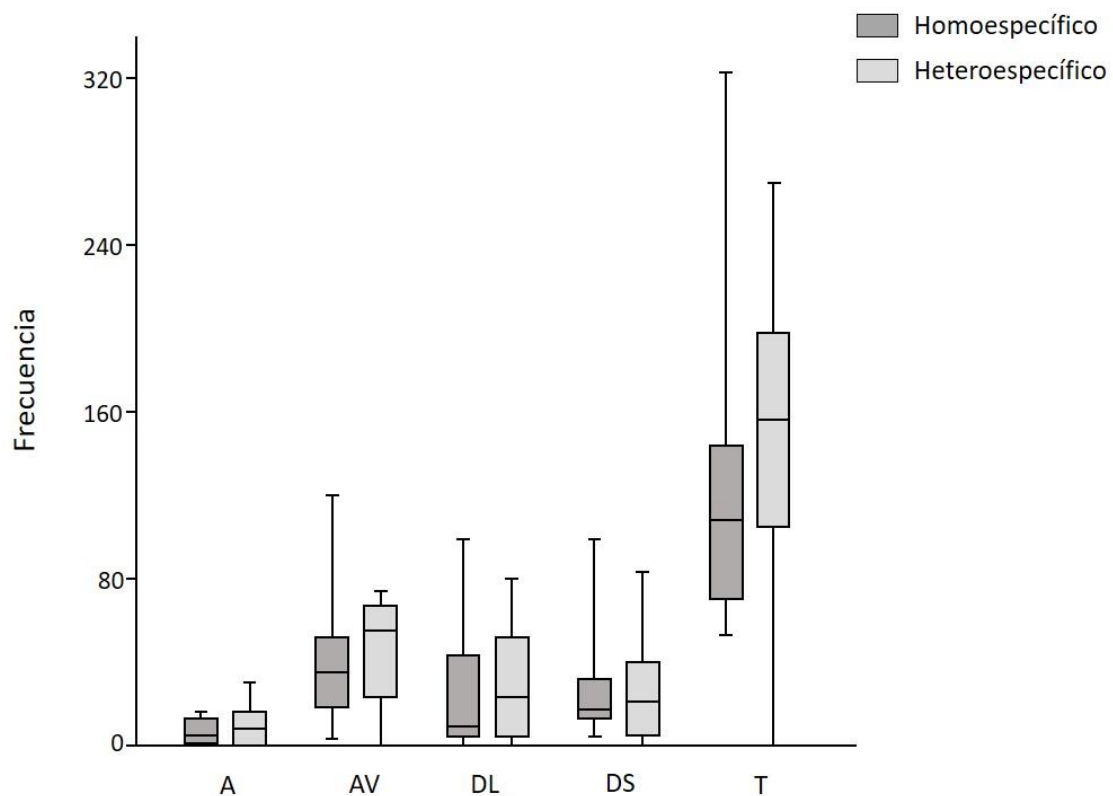


Fig. 16. Frecuencia de unidades comportamentales (mediana \pm ES) de *A. charrua*, A = ataques puntuales, AV = ataques con vibración, DL = despliegues laterales, DS = despliegues sigmoides, T = unidades totales.

Interacción diádica

(1) Dinámica del encuentro

El encuentro agresivo entre las díadas mostró la misma configuración que un encuentro intraespecífico (Fabra, 2011; Passos et al., 2013; Passos et al., 2016) donde se detectaron las etapas de evaluación, conflicto y post-conflicto; con resolución del encuentro e individuos dominantes y subordinados. En 13 de los 14 ensayos estuvieron presentes las tres etapas, mostrando una similitud con respecto a los encuentros agresivos intraespecíficos (Fabra, 2011; Passos et al., 2013; Passos et al., 2016). En un encuentro faltó el conflicto, y la dominancia se estableció al primer ataque. En todos los ensayos hubo resolución y establecimiento de dominancia, y los individuos dominantes y subordinados presentaron las señales típicas de cada caso (Fabra, 2011; Passos et al., 2013; Passos et al., 2016); los dominantes mostraron colores intensos en cuerpo y aletas, desplegaron la aleta dorsal y se movieron libremente por el acuario con ataques y persecución al macho subordinado; por el contrario los machos subordinados disminuyeron la intensidad de coloración, replegaron su aleta dorsal y se mantuvieron mayormente inactivos o huyendo del macho dominante (Fig. 5)

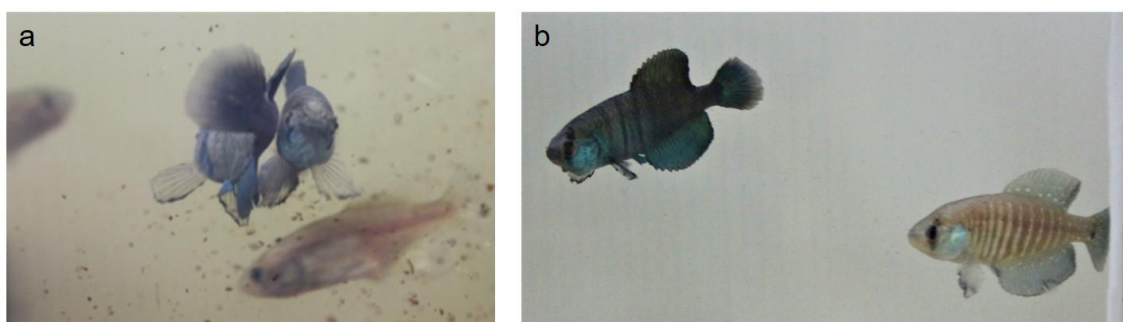


Fig. 5. (a) díada de machos realizando despliegues agresivos; (b) díada cuya jerarquía se ha establecido, a la izquierda macho dominante (*A. reicherti*) mostrando una intensa coloración y aletas desplegadas, a la derecha macho subordinado (*A. charrua*) exhibe pérdida de coloración y repliegue de aletas.

La latencia a la primer unidad fue de 59.3 ± 70.4 s., la duración de la etapa de evaluación fue de 132.3 ± 119.9 s. y el conflicto duró 288.7 ± 293.6 s.

La dominancia se mantuvo en 9 de 12 casos (prueba Binomial, $N = 12$, $p = 0.054$) y en los otros 2 casos no se pudo definir el estado jerarquía de la diada.

(2) Intensidad de agresión

En cuanto a la primera unidad, en 10 ensayos fue despliegue lateral o sigmoide, y en 4 ensayos fue ataque (prueba Binomial, $N = 14$, $p = 0.061$). No se encontraron diferencias significativas en cuanto a la cantidad de veces que *A. reicherti* y *A. charrua* realizaron la primer unidad (prueba Binomial, $N = 14$, $p = 0.122$) o el primer ataque de la contienda (prueba Binomial, $N = 14$, $p = 0.183$) (Tabla 3); y tampoco hubo diferencias significativas en cuanto a la latencia al primer ataque entre ambas especies, (prueba t para muestras independientes, $t_{14} = 0.029$, $p = 0.979$) (Fig. 6).

Tabla 3. Número de veces que cada especie realiza la primera unidad comportamental, el primer ataque, resulta dominante y mantiene la dominancia.

	Primer unidad	Primer ataque	Dominancia	Mantiene dominancia
<i>A. Reicherti</i>	9	8	9	5
<i>A. charrua</i>	5	6	5	4

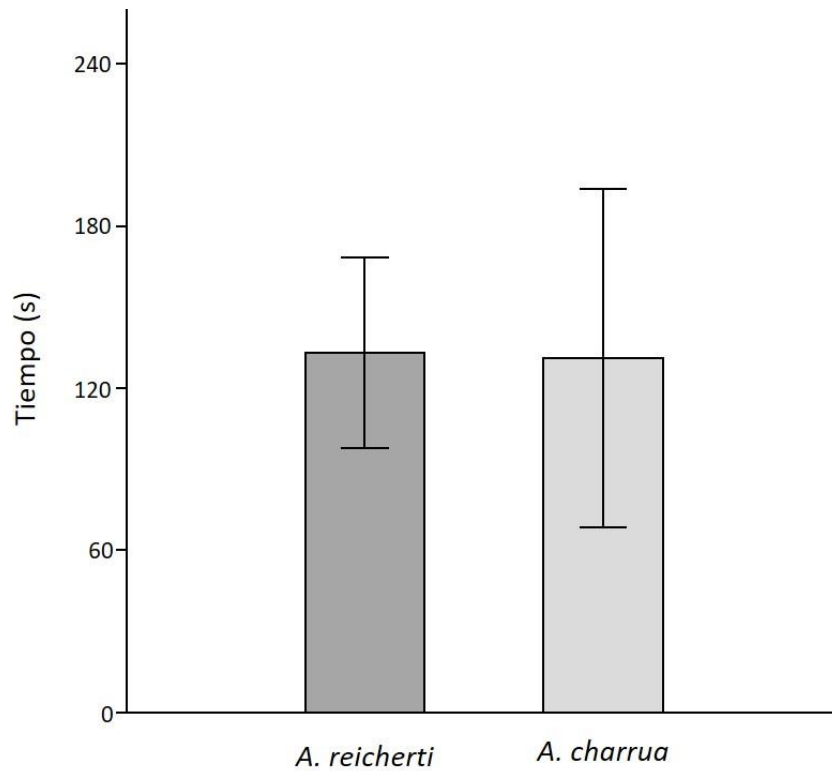


Fig. 6. Latencia al primer ataque (media \pm ES) para *A. reicherti* vs. *A. charrua*.

No hubo diferencias significativas en el tiempo total que cada especie realizó despliegues agresivos al analizarlo entre especies (prueba t para muestras pareadas, $t_{14} = -1.223$, $p = 0.243$) (Fig. 7). Sin embargo, se constataron diferencias significativas en el tiempo de agresión entre individuos subordinados y dominantes, independientemente de su especie, siendo mayor el tiempo de agresión del individuo dominante (prueba t para muestras pareadas, $t_{14} = 5.814$, $p < 0.001$) (Fig. 8).

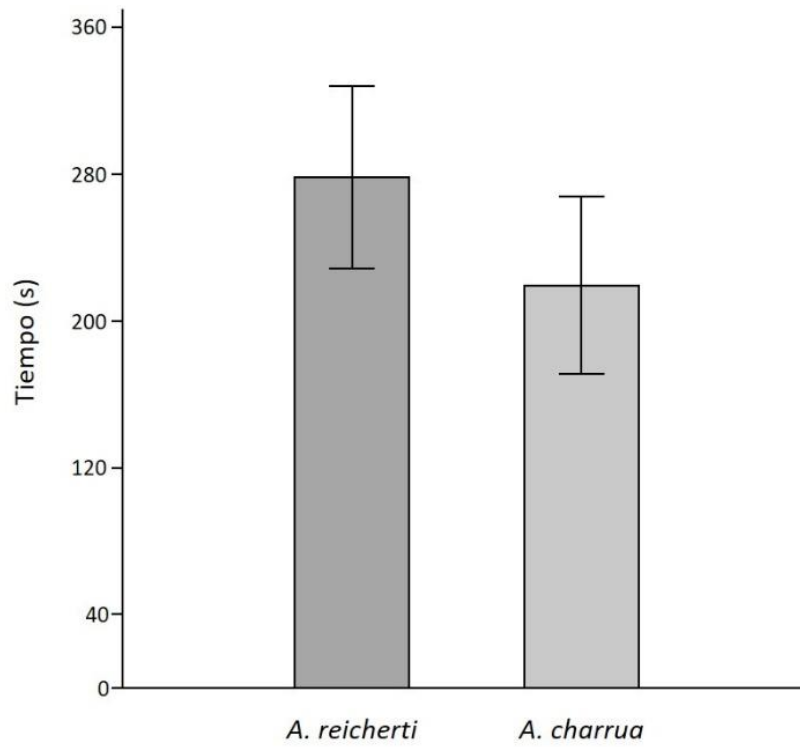


Fig. 7. Tiempo total en que cada especie realizó conductas agresivas (media ± ES), se muestra *A. reicherti* vs. *A. charrua*.

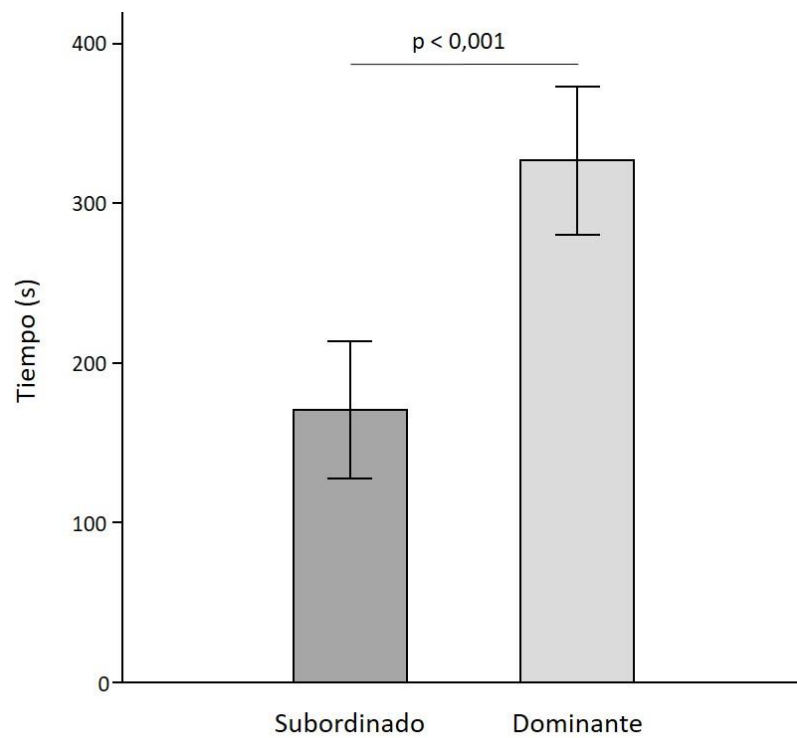


Fig. 8. Tiempo de realización de conductas agresivas (media ± ES) de los individuos subordinados y dominantes.

La frecuencia de las unidades que realizó *A. reicherti* no fue significativamente diferente de la frecuencia de *A. charrua* y no se constataron diferencias significativas al discriminar por unidad ni en el total de unidades (Fig. 9). (A: prueba de Wilcoxon para muestras pareadas, $N = 14$, $z = 0.875$, $p = 0.381$; DL: prueba t para muestras pareadas, $t_{14} = -1.238$, $p = 0.238$; DS: prueba t para muestras pareadas, $t_{14} = 0.354$, $p = 0.729$; T: prueba t para muestras pareadas, $t_{14} = -0.521$, $p = 0.611$).

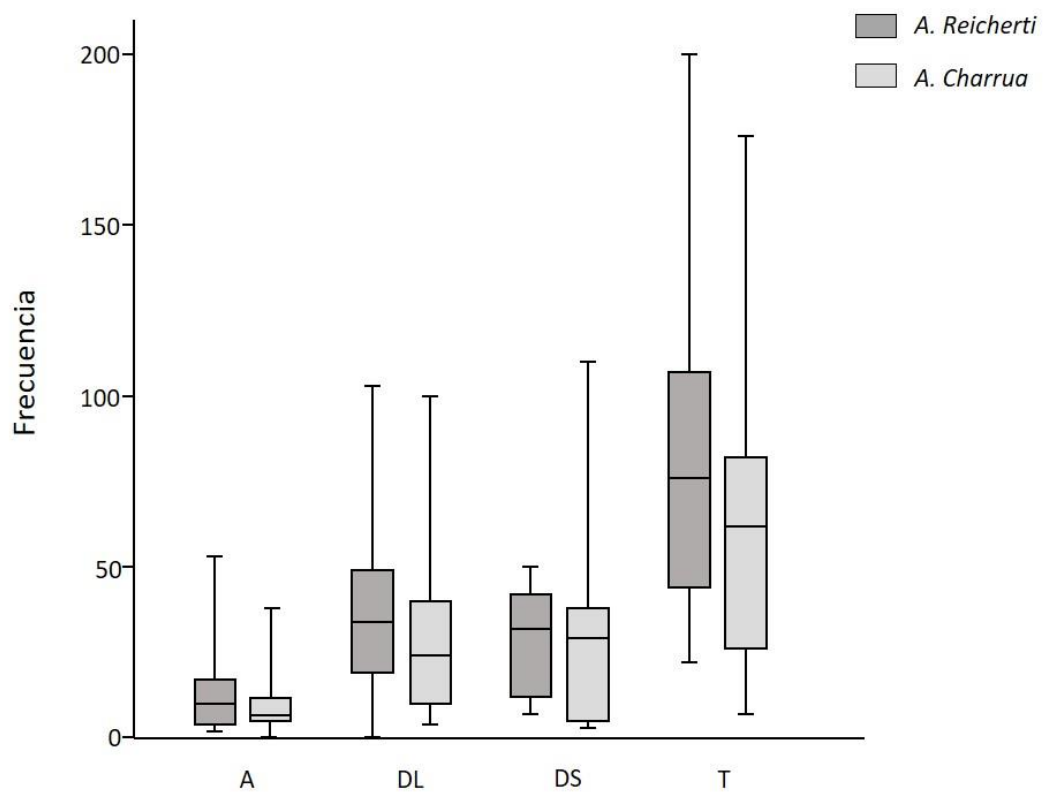


Fig. 9. Frecuencia de unidades comportamentales (mediana \pm ES) de cada especie. A = ataques, DL = despliegues laterales, DS = despliegues sigmoides, T = unidades totales.

La duración del conflicto no fue significativamente diferente dependiendo de qué especie resultara dominante (prueba de Mann-Whitney, $z = -0.267$, $p = 0.790$) (Fig. 10)

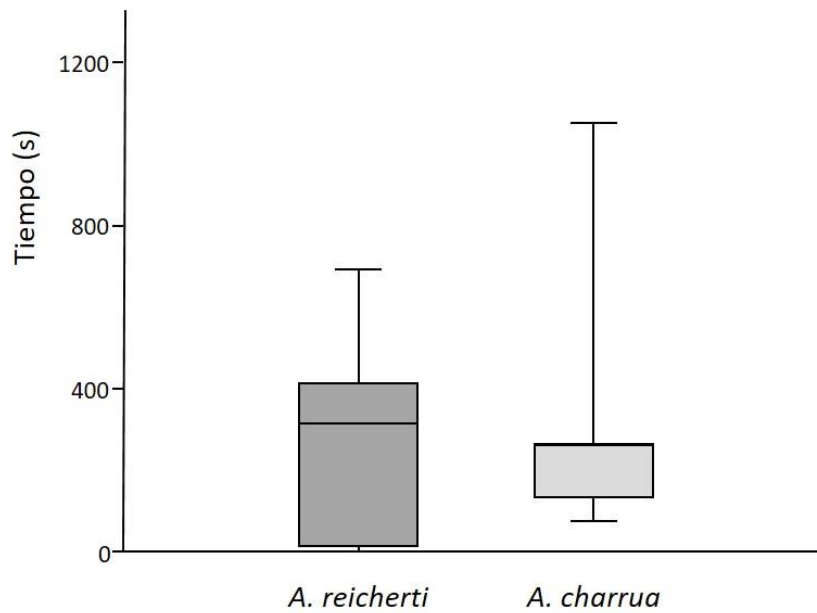


Fig. 10. Duración del conflicto (mediana \pm ES) cuando *A. reicherti* o *A. charrua* son la especie dominante.

Con respecto a la cantidad de veces que dominó cada especie no hubo diferencias significativas (prueba Binomial, $N = 14$, $p = 0.122$). Así mismo, ninguna de las dos especies mantuvo la dominancia de modo significativo (*A. reicherti*, prueba Binomial, $N = 7$, $p = 0.164$; *A. charrua*, prueba Binomial, $N = 5$, $p = 0.156$), para este último, dos de los ensayos no fueron considerados para el análisis Binomial ya que no se pudo definir el estado de jerarquía de la díada.

Discusión

Este trabajo evidencia que los machos de *A. reicherti* y *A. charrua* muestran un comportamiento de competencia asimétrica. Si bien en las pruebas de interacción diádica no hay diferencia en la agresión de ambas especies, en las pruebas de preferencia, mientras los machos de *A. charrua* no exhiben agresión diferencial los machos de *A. reicherti* son más agresivos con sus homoespecíficos.

Debido a que la competencia es un determinante importante en el éxito reproductivo (Clutton-Brock, 2008), principalmente cuando los individuos compiten por territorio involucrado en la atracción de pareja y o espacio que asegure eventos reproductivos (Grether et al., 2009), la competencia asimétrica puede influir en el éxito reproductivo individual y en la dinámica poblacional de las especies que compiten. Si bien podría impedir el flujo génico y generar aislamiento reproductivo mediante la exclusión de una de las especies (Gröning & Hochkirch, 2008; Vallin & Qvarnström, 2011; Lackey et al., 2018; Tinghitella et al., 2018), también podría facilitar el flujo génico entre especies mediante la promoción de la hibridación (Sefc et al., 2015; While et al., 2015; MacGregor et al., 2016; Lipshutz, 2018). Esto último ocurre cuando la especie dominante es capaz de monopolizar los recursos de atracción de parejas homo y heteroespecíficas y el aislamiento reproductivo es aún incompleto (Lipshutz, 2018). En el caso de *A. reicherti* y *A. charrua*, el aislamiento reproductivo es incompleto, y está documentada la hibridación (Passos, 2013), lo que sugiere que el efecto de la agresión asimétrica sea la promoción de la hibridación y no del aislamiento reproductivo. El hecho de que los machos de *A. reicherti* agredan más a los de su especie, y que a su vez sean igualmente agredidos por *A. charrua*, permite suponer que *A. reicherti* es la especie más afectada por la agresión, ya que para estas especies se propone la agresión como un mecanismo importante que influye de la proporción de machos a medida que avanza la temporada reproductiva (Passos et al., 2014). Si nos ubicáramos en un contexto hipotético de inicio de temporada en el que los machos de ambas especies se encontraran en proporciones similares, la agresión más intensa sufrida por *A. reicherti* podría significar una disminución más rápida de cantidad

y calidad de potenciales parejas para las hembras homoespecíficas. Al igual que ocurre en otros animales (Wirtz, 1999; Mullica, 1999) las hembras de estas especies reducen su selectividad de pareja a medida que avanza la temporada reproductiva (Passos et al., 2014). En este escenario es esperable que ante una disminución de cantidad y calidad de parejas homoespecíficas, las hembras de *A. reicherti* hibriden con machos de *A. charrua*, ya que existen evidencias de que las hembras en ausencia de machos homoespecíficos o ante machos heteroespecíficos de mejor calidad tienden a preferir aparearse con un macho de otra especie (Saertre et al., 1999; Randler, 2001; Vallin et al., 2012a; MacGregor et al., 2012; Grava et al., 2012; While et al., 2015; Lipshutz, 2018). Se ha propuesto que la hibridación entre especies cercanas puede ser producto de errores de las hembras en el reconocimiento de los machos (Gröning & Hochkirch, 2008), pero también, en algunos contextos, cuando no hay parejas homoespecíficas disponibles o si éstas no aparecen a tiempo para la reproducción, la hibridación puede ser considerada una estrategia adaptativa (Neuchterlein & Buitron, 1998), y aparearse con un heteroespecífico puede ser mejor que perder la oportunidad reproductiva. Esto ocurre en aquellos casos en que los híbridos tienen algún grado de viabilidad y aportan, aunque de forma reducida, al éxito reproductivo (Neuchterlein & Buitron, 1998; Saertre et al., 1999; Veen et al., 2001). Neuchterlein y Buitron (1998) no sólo proponen el concepto de hibridación como estrategia adaptativa, sino que además lo vinculan directamente con la disponibilidad de machos por diferencias en la proporción operacional de sexos; un factor que en caso de *Austrolebias* es afectado por la competencia intrasexual, y que podría verse sesgado por las preferencias de agresión de los machos. La hipótesis de que la hibridación entre *A. reicherti* y *A. charrua* sea producto de un error de reconocimiento, parece no aplicar, ya que las hembras de estas especies reconocen y prefieren a los machos homoespecíficos (Passos, 2013). Asimismo, considerando que el corto período de vida adulta de los individuos estas especies está dedicado exclusivamente a la reproducción, y que a medida que la temporada reproductiva avanza la selectividad de las hembras disminuye (Passos et al., 2014) es posible pensar a la hibridación entre *A. reicherti* y *A. charrua* como una estrategia adaptativa.

La hibridación por competencia asimétrica promueve ‘hibridación direccional’ cuando la hembra de una especie se aparea con el macho competitivamente dominante, lo que genera que la crucea recíproca sea menos frecuente (Grava et al., 2012; Lipshutz, 2018). Esto puede derivar en algunos patrones como introgresión asimétrica y movimiento de zonas híbridas (While et al., 2015; Lipshutz, 2018). En el caso de que ocurriera introgresión asimétrica, la hibridación direccional los machos de *A. charrua* se aparearían con hembras de *A. reicherti* con más frecuencia que en el sentido opuesto, ya que al ser los machos de *A. reicherti* los más afectados por la competencia asimétrica, se genera una ventaja competitiva para los machos de *A. charrua* a la hora de aparearse con las hembras de *A. reicherti*. La competencia asimétrica también puede producir que se muevan las zonas híbridas, en el sentido de que la expansión del competidor superior puede causar desplazamiento de la zona híbrida a medida que transcurre el tiempo, principalmente cuando la especie más agresiva tiene gran capacidad de dispersión (Pearson & Rohwer, 2000; Canestrelli et al., 2016; Lipshutz, 2018). En el caso de *Austrolebias*, la dispersión se ve limitada por el medio en el que habitan donde los charcos temporales están separados entre sí, por lo que es difícil imaginar una gran capacidad de dispersión de alguna de las especies. La competencia asimétrica también puede promover las retrocruzas cuando los híbridos tienen más habilidades competitivas que los parentales (Lipshutz, 2018). En el caso de las especies de *Austrolebias*, se ha documentado que las retrocruzas son menos exitosas que las cruces entre especies parentales o entre híbridos (Passos, 2013) lo cual dificulta la ocurrencia de este fenómeno. De todas maneras restan por estudiar posibles patrones de introgresión asimétrica y movimiento de la zona híbrida.

La competencia asimétrica puede tener el efecto opuesto, y en lugar de promover la hibridación, puede facilitar el aislamiento reproductivo. Entre *A. reicherti* y *A. charrua* hay aislamiento tanto pre como post-apareamiento que se evidencia en el comportamiento reproductivo de las hembras, en la reducción de la performance reproductiva de los híbridos y en el desplazamiento de caracteres reproductivos (Passos, 2013). Sin embargo, no se está en condiciones de afirmar que este aislamiento reproductivo sea efecto de la competencia asimétrica, ya que ésta genera el aislamiento mediante la exclusión de una de las especies

(Gröning & Hochkirch, 2008; Vallin & Qvarnström, 2011; Lackey et al., 2018; Tinghitella et al., 2018) y este aspecto no ha sido evaluado. Por su parte, la competencia interespecífica podría conducir por sí misma al aislamiento reproductivo mediante la segregación espacial (Nevo et al., 1975; Vallin & Qvarnström, 2011; Zhou et al., 2015; Tinghitella et al., 2018), caso que se da cuando los machos de ambas especies agreden más intensamente a los heteroespecíficos y generan una separación física entre las especies, disminuyendo las posibilidades de hibridación. Este caso parece no ser aplicable entre nuestras especies de *Austrolebias*, ya que ninguna de las especies tiene preferencias de agresión hacia los machos heteroespecíficos, por lo que no habría una segregación espacial entre estas especies a causa de la agresión.

Algunos autores plantean que la competencia interespecífica puede ser un efecto de la competencia intraespecífica cuando las especies tienen aún un sistema de reconocimiento común debido a divergencia reciente (Grether et al., 2009). En este caso, los machos heteroespecíficos pueden agredirse por errores de identificación (Schultz & Switzer, 2001; Grether et al., 2009; Gröning & Hochkirch, 2008), y cuando las señales que utilizan son muy similares, las probabilidades de interacción interespecífica aumentan (McHugh, 1972 citado en Gröning & Hochkirch, 2008). Las experiencias diádicas entre las especies analizadas muestran que éstas utilizan las mismas unidades comportamentales (Fabra, 2011; Passos et al., 2013; Passos et al., 2016), lo que podría favorecer errores de identificación debido a la similitud en el comportamiento. Sin embargo, los machos de *A. reicherti* parecen reconocer homoespecíficos ya que interactúan más tiempo con ellos, por lo que, al menos para *A. reicherti*, podría descartarse error de reconocimiento. A su vez, esto está en contraste con observaciones previas en las que los machos de *Austrolebias* no parecían diferenciar entre machos de ambas especies (Passos com pers).

Por otro lado, se ha planteado que la competencia interespecífica puede ser causa de la competencia por parejas (Payne, 1980; Curé et al., 2010). Passos (2013) ha dejado en evidencia que ambas especies hibridan, en este sentido, es explicable que tanto *A. reicherti* como *A. charrua* respondan agresivamente ante los machos homo y heteroespecíficos, ya que son todos potenciales competidores. Cuando las especies divergen en alopatria y luego retoman un

contacto secundario y se da competencia entre ellas, la selección puede actuar sobre rasgos que afecten el reconocimiento del competidor y las habilidades agresivas (Grether et al., 2009). La evolución de estos rasgos puede resultar tanto en divergencia como en convergencia, dependiendo de la intensidad de la competencia (Grether et al., 2009; Drury, 2015). Cuando el costo de la agresión interespecífica es mayor a sus beneficios, los rasgos evolucionarían hacia la divergencia, aumentando la diferencia entre las especies y el reconocimiento. Este proceso, que se denomina desplazamiento de caracteres agonísticos (ACD), tiende a reducir la competencia interespecífica (Grether et al., 2009; Drury, 2015; Zhou et al., 2015). *A. reicherti* y *A. charrua* son morfológicamente más distintos en las zonas de contacto que en las zonas de alopatría (Passos, 2013), y si bien esto ha sido propuesto como desplazamiento de caracteres reproductivos (RCD), estos caracteres también podrían estar implicados en la agresión. A menudo resulta difícil distinguir entre RCD y ACD, ya que dichos rasgos pueden ser compartidos por ambos comportamientos (Dijkstra et al., 2007; Grether et al., 2009) Para evaluar esto en las especies es estudio, es necesario realizar pruebas conductuales de agresión con poblaciones de zonas alopátridas para poder comparar con los resultados de este trabajo y establecer si existen diferencias en la agresión dependiendo de la zona de origen de los individuos (Grether et al., 2009).

La preferencia de agresión de los machos *A. reicherti* por sus homoespecíficos puede explicarse porque, ante un contacto secundario, la evolución puede favorecer evitar atacar machos heteroespecíficos que podrían no ser competidores (Grether et al., 2009; Zhou et al., 2015). En este sentido, y si además se considera que las hembras prefieren aparearse con machos homoespecíficos (Passos, 2013), es esperable que haya una preferencia de agresión al macho homoespecífico por ser un competidor más directo. Moran y Fuller (2018) plantean que la agresión sesgada hacia homoespecíficos en individuos que provienen de las zonas de contacto puede ser un indicador de ACD, sin embargo, no estamos en condiciones de afirmarlo ya que el ACD no está probado para estas especies. Las pruebas de elección dual evidenciaron que, a diferencia de *A. reicherti*, los machos de *A. charrua* de zonas parapátridas no responden con preferencia a los homoespecíficos. En pruebas de preferencia

de apareamiento de elección dual donde hembras provenientes de áreas de contacto y áreas alopátridas elegían machos homo y heteroespecíficos, Passos (2013) no encontró diferencias en las preferencias de las hembras provenientes de ambas áreas para *A. charrua*, mientras que las hembras de *A. reicherti* de las zonas de contacto prefirieron con más fuerza a su homoespecífico. Sin embargo hubo diferencias entre las preferencias en pruebas de interacción libre para ambas especies, en que las hembras de la zona de contacto mostraron mayor preferencia por el homoespecífico que las hembras de zonas alopátridas. Si bien se planteó que las diferencias entre los resultados de los ensayos podrían deberse a la metodología, no se pudo descartar la existencia de una diferencia entre los mecanismos que llevan al aislamiento reproductivo entre *A. reicherti* y *A. charrua* (Passos, 2013). Del mismo modo que estos mecanismos afectan la preferencia de las hembras por los machos, podrían estar involucradas en las preferencias de agresión entre machos. Por este motivo, no se puede descartar que mecanismos evolutivos involucrados en el ACD estén operando más fuertemente en *A. reicherti* en su componente comportamental y generen estas diferencias de preferencias entre nuestras especies, tanto en agresión de los machos como preferencias de apareamiento de las hembras.

Las experiencias de encuentros diádicos muestran que ninguna de las especies es significativamente más agresiva que la otra: no difieren en la cantidad de tiempo que están agrediendo ni en la cantidad de unidades agresivas que realizan, ninguna tiende a dominar en los encuentros interespecíficos ni es más eficaz manteniendo la dominancia. En este sentido, la agresión entre los machos no parece modificar las preferencias de las hembras a la hora de aparearse, como ocurre en otros casos en que las hembras prefieren machos que accedan a mejores territorios o que sean dominantes, sin importar su especie y aún en presencia de parejas homoespecíficas disponibles (Tynkkynen et al., 2004; Grava et al., 2012; MacGregor et al., 2012; While et al., 2015; Sefc et al., 2015).

Cuando se toman estos resultados en conjunto con los resultados de las pruebas de elección dual, se puede plantear un escenario en que si bien la agresión entre machos de *A. reicherti* y *A. charrua* no resulte en una especie dominante sobre la otra, *A. reicherti* resultara más afectado por la agresión. En este caso, la agresión no sesgaría las preferencias de las hembras a la especie más

dominante, pero podría generar un sesgo en la disponibilidad de parejas para las hembras de *A. reicherti*, lo que podría favorecer la hibridación de estas especies. Del mismo modo, se descarta la posibilidad de que la agresión actúe segregando las poblaciones y aumentando las barreras de aislamiento, ya que no hay preferencias de agresión por machos heteroespecíficos.

Validación metodológica

Pruebas de interacción dual:

Los machos focales de ambas especies pasaron significativamente más tiempo en zonas de elección que en la zona neutra, coincidiendo con otros trabajos que demuestran la fiabilidad de los resultados obtenidos al emplear pruebas de elección dual con *Austrolebias* (Reyes, 2011; Passos, 2013; Passos et al., 2013; Passos et al., 2014).

Coincidiendo con los resultados de las pruebas de interacción diádica, los machos de *A. reicherti* y *A. charrua* no tuvieron diferencias entre el tiempo total de agresión a los estímulos, lo que apoya el hecho de que no parece haber una especie que sea por sí misma más agresiva que la otra.

Con respecto a la frecuencia de unidades que cada macho focal dirigió a los machos estímulo, el hecho de que *A. reicherti* haya realizado más unidades agresivas hacia el macho homoespecífico en todas las unidades refuerza la preferencia por la intensidad de la agresión hacia dicho macho. Se ha mostrado que en las contiendas entre *Austrolebias*, el despliegue lateral y el ataque son unidades importantes que suelen ser realizadas mayoritariamente por el macho dominante y más agresivo, mientras que el despliegue sigmoide ocurre con menor frecuencia y no está tan relacionado a la dominancia (Fabra, 2011; Passos et al., 2013). Nuestros resultados muestran una preferencia significativa a realizar más despliegues laterales, ataques con vibración y unidades totales hacia el macho homoespecífico, y una preferencia marginalmente significativa para los despliegues sigmoides y los ataques. Respecto a los despliegues sigmoides, una menor preferencia coincide con un papel de menor relevancia de estas unidades, asociado a que aparecen con menor frecuencia que el

despliegue lateral (Fabra 2011; Passos et al., 2013). Sin embargo, los ataques son aún considerados de importancia aunque ocurran con una frecuencia menor (Fabra 2011; Passos et al., 2013), y es probable que una menor frecuencia se traduzca en una expresión menor en la preferencia por el homoespecífico. Nuevamente, los resultados de este trabajo coinciden con los obtenidos para encuentros intraespecíficos, y revelan que la dinámica de la agresión intra e interespecífica entre *A. reicherti* y *A. charrua* sigue los mismos parámetros.

Interacciones diádicas:

El hecho de que no existieran diferencias significativas en el tamaño de los machos estímulos, valida que el resultado refleje una preferencia de agresión por la especie del macho estímulo y no por su tamaño.

A. charrua y *A. reicherti* son especies hermanas de divergencia reciente que evolucionaron en alopatria y luego retomaron un contacto secundario (García et al., 2009). Cuando las especies retoman un contacto, es frecuente que aún compartan un sistema común de reconocimiento (Dame & Petren, 2006; Grether, 2009) y éste debe estar expuesto a presiones selectivas a largo plazo para que las señales diverjan (Coyne & Orr, 1998; Grether et al., 2009; Drury, 2015). Esta puede ser una explicación viable para la similitud del encuentro agresivo interespecífico con el intraespecífico. Las pruebas diádicas demuestran que nuestras especies no sólo utilizan las mismas unidades comportamentales, sino que el encuentro sigue la dinámica de un encuentro intraespecífico, en el que se reconocen las mismas tres etapas y que se suceden de la misma manera (Fabra, 2011; Passos et al., 2013; Passos et al., 2016). Esto evidencia que los animales reconocen el comportamiento del individuo de la otra especie y responden a éste del mismo modo que lo harían ante un macho homoespecífico. Otro resultado que coincide con lo que sucede en encuentros intraespecíficos, es que hay una diferencia significativa en la cantidad de tiempo que están agrediendo los machos dominantes, que siempre es mayor al tiempo de agresión de los machos subordinados. Esto se verificó independientemente de la especie que resultara dominante y coincide con resultados previos que muestran que el macho

dominante es normalmente el más agresivo en los encuentros intraespecíficos (Fabra, 2011; Passos et al., 2013).

Perspectivas

Restan por estudiar las posibles consecuencias de la competencia asimétrica en las poblaciones naturales. Por un lado está pendiente el estudio de la distribución de las especies en los charcos, de modo de establecer si existe segregación espacial entre ellas debido a la competencia asimétrica. En otro sentido, hace falta investigar los patrones de hibridación para establecer si ésta es direccional o no, y si existe una vinculación con la competencia asimétrica. También es necesario abordar los posibles patrones de introgresión asimétrica y de movimiento de la zona híbrida, de modo de verificar si la hibridación direccional, en caso de que exista, tiene efectos sobre la evolución de la zona híbrida.

Además, aún falta evaluar una posible existencia de ACD en las especies de estudio, para lo que se deberían realizar pruebas conductuales de agresión con poblaciones de zonas alopátridas, y así poder comparar con los resultados de este trabajo y establecer si existen diferencias en la agresión dependiendo de la zona de origen de los individuos.

Por último, se deberían establecer las preferencias de las hembras ante machos homo y heteroespecíficos de distintas calidades y disponibilidades, evaluando la posibilidad de la hibridación como estrategia adaptativa.

Referencias bibliográficas

- Berois, N., Arezo, M.J., Papa, N.G. & Chalar, C. (2016). Life Cycle, Reproduction, and Development in Annual Fishes Cellular and Molecular Aspects. En Berois, N., García, G. & O. De Sá, R. (Eds.) *Annual Fishes Life History Strategy, Diversity and Evolution* (pp. 33-42). Montevideo, Uruguay.
- Briffa, M. & Elwood, R.W. (2004). Use of energy reserves in fighting hermit crabs. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 271:373-379.
- Bronson, C.L., Grubb Jr., T.C. Sattler, G.D. & Braun, M.J. (2003). Mate preference: a possible causal mechanism for a moving hybrid zone. *Anim. Behav.* 65:489-500.
- Canestrelli, D., Porretta, D., Lowe, W.H., Bisconti, R., Carere, C. & Nascetti, G. (2016). The Tangled Evolutionary Legacies of Range Expansion and Hybridization. *Trends Ecol. Evol.* 31, 677–688.
- Clutton-Brock, T. (2008). Sexual Selection in Males and Females. *Science.* 318: 1882–1885.
- Conte, G.L. & Schluter, D. (2013). Experimental confirmation that body size determines mate preference via phenotype matching in a stickleback species pair. *Evolution.* 67:1477-1484.
- Coyne, J.A. & Allen Orr, H. (1998). The evolutionary genetics of speciation. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 353: 287-305.
- Curé, C., Aubin, T. & Mathevon, N. (2010). Intra-sex vocal interactions in two hybridizing seabird species (*Puffinus* sp). *Behav. Ecol. Sociobiol.* 64:1823-1837.
- Damen, E.A. & Petren, K. (2006). Behavioural mechanisms of invasión and displacement in Pacific island geckos (*Hemidactylus*). *Anim. Behav.* 71:1165-1173.

- Dijkstra, P.D., Seehausen, O., Pierotti, M.E.R. & Groothuis, T.G.G. (2007). Male-male competition and speciation: aggression bias towards differently coloured rivals varies between stages of speciation in Lake Victoria cichlid species complex. *J. Evol. Biol.* 20: 496-502.
- Dijkstra, P.E. & Border, S.E. (2018). How does male-male competition generate negative frequency-dependent selection and disruptive selection during speciation?. *Curr. Zool.* 64:89-99.
- Drury, J.P., Okamoto, K.W., Anderson, C.N. & Grether, G.F. (2015). Reproductive interference explains persistence of aggression between species. *Proc. R. Soc. B.* 282:20142256.
- Fabra, A.L. (2011). Comportamiento agonístico en machos de *Austrolebias reicherti*. Tesina para optar por el grado de Licenciado en Ciencias Biológicas, orientación Etología, UdelaR, Montevideo, Uruguay.
- García, D., Loureiro, M. & Tassino, B. (2008). Reproductive behaviour in the annual fish *Austrolebias reicherti* Loureiro & García 2004 (Cyprinodontiformes: Rivulidae). *Neotrop. Ichthyol.* 6:243-248.
- García, G., Loureiro, M., Berois, N., Arezo, M. J., Casanova, G., Clivio, G. & Olivera, A. (2009). Pattern of differentiation in the annual killifish genus *Austrolebias* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) from a biosphere reserve site in South America: a multidisciplinary approach. *Biol. J. Linn. Soc. Lond.* 98:620–635.
- Grava, A., Grava, T., Didier, R., Lait, L.A., Dosso, J., Koran, E., Burg, T.M. & Otter, K.A. (2012). Interspecific dominance relationships and hybridization between black-capped and mountain chickadees. *Behav. Ecol.* 23:566–572.
- Grether, G.F., Losin, N., Anderson, C.N. & Okamoto, K. (2009). The role of interspecific interference competition in character displacement and the evolution of competitor recognition. *Biol. Rev.* 84:617-635.
- Gröning, J. & Hochkirch, A. (2008). Reproductive interference between animal species. *Q. Rev. Biol.* 83:257-282.

- Jakobsson, S., Brick, O. & Kullberg, C. (1995). Escalated fighting behaviour incurs increased predation risk. *Anim. Behav.* 49:235-239.
- Kohda, M. (1998). Coexistence of permanently territorial cichlid of the genus *Petrochromis* through male-mating attack. *Environ. Biol. Fish.* 52:231-242.
- Lackey, A.L., Martin, M.D. & Tinghitella, R.M. (2018). Male competition and speciation: expanding our framework for speciation by sexual selection. *Curr. Zool.* 64:69-73.
- Lipshutz, S.E. (2018). Interspecific competition, hybridization, and reproductive isolation in secondary contact: missing perspectives on males and females. *Curr Zool.* 64:75-88.
- Loureiro, M. (2009). Sistemática y biogeografía de los peces anuales de la subtribu Cynolebiatina (Cyprinodontiformes: Rivulidae: Cynolebiatinae). Disertación de tesis de doctorado, PEDECIBA, Facultad de Ciencias, UDELAR, Uruguay.
- Loureiro, M., Borthagaray, A., Hernández, D., Duarte, A., Pinelli, V. & Arim, M. (2016). *Austrolebias* in Space: scaling from ponds to biogeographical regions. En: Berois, N., García, G., De Sá, R.O. (Eds.) *Annual Fishes Life History Strategy, Diversity and Evolution*. (pp. 207-222). Montevideo, Uruguay.
- MacGregor, H.E.A., While, G.M., Barrett, J., Pérez I de Lanuza, G., Carazo, P., Michaelides, S. & Uller, T. (2016). Experimental contact zones reveal causes and targets of sexual selection in hybridizing lizards. *Funct. Ecol.* 31:742-752.
- Magurran, A.N. (1998). Population differentiation without speciation. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 353: 275-286.
- Marler, C.A. & Moore, M.C. (1988). Evolutionary costs of aggression revealed by testosterone manipulations in free-living male lizards. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 23:21-26.

- Mayr, E. (1963). *Animal Species and Evolution*. Harvard University Press, Cambridge.
- McHugh, R. (1972). Aspects of acoustic interaction in the bushcricket genus *Metrioptera* (Orth., Tettigoniidae). Disertación de doctorado. University of London.
- Moran, R.L. & Fuller, R.C. (2018). Male-driven reproductive and agonistic character displacement in darters and its implications for speciation in allopatry. *Curr. Zool.* 64:101-113.
- Mullica, J. (1999). Operational sex ratio influences female preference and male-male competition in guppies. *Anim. Behav.* 58:287-294.
- Nevo, E.; Naftali, G. & Guttman, R. (1975). Aggression patterns and speciation. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 72:3250-3254.
- Nuechterlein, G.L. & Buitron, D. (1998). Interspecific mate choice by late-courting male western grebes. *Behav. Ecol.* 9:313-321.
- Passos, C. (2013). *Austrolebias*: un modelo para explorar la selección sexual. Disertación de tesis de doctorado, PEDECIBA, Facultad de Ciencias, UDELAR, Uruguay.
- Passos, C., Tassinio, B., Loureiro, M. & Rosenthal, G.G. (2013). Intra- and intersexual selection on male body size in the annual killifish *Austrolebias charrua*. *Behav. Process.* 96:20–26.
- Passos, C., Tassinio, B., Reyes, F. & Rosenthal, G.G. (2014). Seasonal Variation in Female Mate Choice and Operational Sex Ratio in Wild Populations of an Annual Fish, *Austrolebias reicherti*. *PLoS ONE.* 9, e101649.
- Passos, C., Tassinio, B., Rosenthal, G.G. & Reichard, M. (2016). Reproductive behaviour and sexual selection in annual fishes. En Berois, N., García, G. & O. De Sá, R. (Eds.) *Annual Fishes Life History Strategy, Diversity and Evolution*. (pp. 207-222). Montevideo, Uruguay.
- Payne, R.B. (1980). Behavior and songs of the hybrid parasitic finches. *The auk.* 97:118-134.

- Pearson, S.F. & Rohwer, S. (2000). Asymmetries in male aggression across an avian hybrid zone. *Behav. Ecol.* 1:93-101.
- Qvarnström, A., Vallin, N. & Rudh, A. (2012). The role of male contest competition over mates in speciation. *Curr. Zool.* 58:493-509.
- Randler, C. (2001). Avian hybridization, mixed pairing and female choice. *Anim. Behav.* 63:103-119.
- Reyes, F. (2011). Comunicación química asociada al comportamiento sexual en *Austrolebias reicherti* (Cyprinodontiformes: Rivulidae). Tesina para optar por el grado de Licenciado en Ciencias Biológicas, UdelaR, Montevideo, Uruguay.
- Roberts, N.S. & Mendelson, T.C. (2017). Male mate choice contributes to behavioural isolation in sexually dimorphic fish with traditional sex roles. *Anim. Behav.* 130:1-7.
- Ryan, M.J. & Wagner, W.E.Jr. (1987). Asymmetries in Mating preferences between Species: Female Swordtails Prefer Heterospecific Males. *Science.* 236:595-597.
- Sætre, G.P., Král, K., Bures, S. & Ims, R.A. (1999). Dynamics of a clinal hybrid zone and a comparison with island hybrid zones of flycatchers (*Ficedula hypoleuca* and *F. albicollis*). *J. Zool. Lond.* 247:53-64.
- Schultz, J.K. & Switzer, P.V. (2001). Pursuit of Heterospecific Targets by Territorial Amberwing Dragonflies (*Perithemis tenera* Say): a Case of Mistaken Identity. *J. Insect Behav.* 14:607-620.
- Seehausen, O. & Schluter, D. (2004). Male-male competition and nuptial-colour displacement as a diversifying force in Lake Victoria cichlid fishes. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 271:1345-1353.
- Sefc, K.M., Hermann, C.M., Steinwender, B., Brindl, H., Zimmermann, H., Mattersdorfer, K., Postl, L., Makasa, L., Sturmbauer, C. & Koblmüller, S. (2015). Asymmetric dominance and asymmetric mate choice oppose premating isolation after allopatric divergence. *Ecol. Evol.* 5:1549–1562.

- Tinghitella, R.M., Lehto, W.R. & Lierheimer, V.F. (2018). Color and behaviour differently predict competitive outcomes for divergent stickleback color morphs. *Curr. Zool.* 64:11-123.
- Tynkkynen, K., Rantala, M.J. & Suhonen, J. (2004). Interspecific aggression and character displacement in the damselfly *Calopteryx splendens*. *J. Evol. Biol.* 17:759-767.
- Vallin, N. & Qvarnström, A. (2011). Learning the Hard Way: Imprinting can Enhance Enforced Shifts in Habitat Choice. *Int. J. Ecol.* Vol. 2011 article ID 287532, 7 pages.
- Vallin, N., Rice, A.M., Arnsten, H., Kulma, K. & Qvarnström, A. (2012a). Combined effects of interspecific competition and hybridization impede local coexistence of *Ficedula* flycatchers. *Evol. Ecol.* 26:927-942.
- Vallin, N., Rice, A.M., Bailey, R.I., Husby, A. & Qvarnström, A. (2012b). Positive feedback between ecological and reproductive character displacement in a young avian hybrid zone. *Evolution.* 66:1167-1179.
- Veen, T., Borge, T., Griffith, S.C., Sætre, G.P., Bures, S., Gustafsson, L. & Sheldon, B.C. (2001). Hybridization and adaptive mate choice in flycatchers. *Nature.* 411:45-50.
- While, G.M., Sozos, M., Heathcote, R.J.P., MacGregor, H.E.A., Zajac, N., Beninde, J., Carazo, P., Pérez I de Lanuza, G., Sacchi, R., Zuffi, M.A.L., Horváthová, T., Fresnillo, B., Schulte, U., Veith, M., Hochkirch, A. & Uller, T. (2015). Sexual selection drives asymmetric introgression in wall lizards. *Ecol. Lett.* 18:1363-1375.
- Wirtz, P. (1999). Mother species-father species: unidirectional hybridization in animals with female choice. *Anim. Behav.* 58:1-12.
- Zhou, M., Loew, E.R. & Fuller, R.C. (2015). Sexually asymmetric colour-based species discrimination in orangethroat darters. *Anim. Behav.* 106:171-179.

Contribuciones

Rivas, N., Tassino, B. & Passos, C. (2017). Agresión interespecífica entre *Austrolebias reicherti* y *A. charrua* y su efecto sobre el aislamiento sexual. Poster presentado en Primera Reunión de Biología del Comportamiento del Cono Sur, Buenos Aires, Argentina.