

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



TESIS DOCTORAL

**Sistema de identificación por radiofrecuencia para el estudio
de la biología reproductora del estornino negro
(Sturnus unicolor)**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Eduardo Gómez Llanos

Director

Diego Gil Pérez

Madrid

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



TESIS DOCTORAL

Sistema de identificación por radiofrecuencia para el estudio de la biología reproductora del estornino negro (Sturnus unicolor)

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Eduardo Gómez Llanos

DIRECTOR

Diego Gil Pérez

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

PROGRAMA DE DOCTORADO EN ECOLOGÍA



TESIS DOCTORAL

Sistema de identificación por radiofrecuencia para el estudio de la biología reproductora del estornino negro (Sturnus unicolor)

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Eduardo Gómez Llanos

DIRECTOR

Diego Gil Pérez

There is a light that never goes out...

The Smiths

Agradecimientos

Estos años de tesis han sido duros, pero a la vez muy bonitos. He disfrutado mucho el camino y hasta se echan de menos las interminables temporadas de campo. Durante la realización de esta tesis creo he crecido intelectualmente, trabajando en mis limitaciones y disminuyendo mis carencias a nivel científico. Creo sinceramente que, si esta tesis está hoy aquí es gracias a la suerte infinita de trabajar en este grupo, que me ha acompañado y ayudado a llegar hasta este punto.

Cuando uno empieza a interesarse por el mundo científico y se le empieza a pasar por la cabeza la idea de hacer la tesis todo el mundo te cuenta todo tipo de problemas. Casi siempre he visto a muchos amigos quejarse de malos rollos entre miembros del grupo, malas formas, directores que no te hacen ni caso, la sensación de verte solo y sin ayuda... Cada vez que alguien me viene con esta cantinela más valoro la suerte que tengo de formar parte de este equipo, y el mayor culpable de esto es **Diego**.

Sabes perfectamente que sin ti nunca hubiera acabado esta tesis, te debo muchísimo, desde el primer momento que confiaste en mi para hacer la tesis contigo sin ni siquiera conocerme llegando a decirme después de haber firmado todos los papeles “Bueno... si por casualidad en el viaje de Canarias a la península pasas por Madrid, avísame que nos conozcamos”. Has sido el mejor director posible, me has enseñado mucho en todos los aspectos y te admiro muchísimo. Siempre he valorado que seas el primero en estar al pie del cañón para ir al campo a las 5 de la mañana codo con codo con nosotros, creo que es algo que no todos los directores hacen. Me has tirado de las orejas (en mi opinión menos veces de las que me merezco) pero siempre con buenas formas y de una manera constructiva y eso no es nada fácil. En contraposición a esos directores ausentes, tu siempre me decías “Edu... que estoy aquí... pregúntame cosas, que estoy para ayudarte” y creo que eso define muy bien cómo eres como director y como jefe. Ha sido un placer trabajar contigo y gracias por haber confiado siempre en mí.

Si tengo que sacar algo positivo del dichoso año 2020 fue poder pasar más tiempo contigo **Loren**. En mi primer año casi ni nos cruzamos y el destino me lo

compenso con muchas horas de frío en el campo mano sobre mano y hablando sobre posibles planes alternativos para la tesis. Creo que eres una fuente inagotable de conocimiento sobre todo tipo de temas y podría pasarme horas y horas escuchándote hablar ya sea de ciencia o de historias de tu pueblo. Muchas gracias por todo.

Esta tesis no hubiera sido posible sin mis niñas: **Iraida** y **Stef**. Gracias por acogerme desde el primer día, por ser tan cariñosas conmigo y tan protectoras. Siempre habéis estado ahí para ayudarme cuando lo he necesitado y hemos vivido muchas cosas juntos que jamás olvidaré. Trabajar con vosotras fue tan fácil y divertido que recuerdo nuestro primer año de campo juntos en el que no queríamos librar (que jóvenes e inocentes éramos) y eso hizo que lloráramos de risa y/o de cansancio casi a diario. Después de convivir en el Ventorrillo y de tantos días de campo juntos no recuerdo haber tenido nunca ninguna discusión con vosotras, porque soy dos personas que lo hacéis todo fácil y tenéis el corazón tan grande como ir y volver a la 140 varias veces. Os quiero con locura estornino rojo y amarillo.

Tengo que agradecer también todo el cariño recibido por tu parte **Jaime**. Me alegro muchísimo de haberte conocido y sobre todo de haber pasado un año de campo juntos en el Ventorrillo. Me he reído mucho contigo, eres una persona demasiado buen, detallista y solidaria con los compañeros, eres más apañón que un *Taquillón*. Es imposible no quererte.

Quiero dar las gracias mis zagalillos, **Dani**, **Roger** y **Silvia**. Recuerdo cuando llegasteis al grupo como jovencitos confusos, y como siempre que llega alguien nuevo, es inevitable preguntarse si encajará bien o no, si romperá la dinámica del grupo y vosotros conseguisteis mejorar aún más al equipo. Han sido unos años maravillosos con vosotros, hemos vivido muchas experiencias y he sido muy feliz yendo al campo con vosotros y conviviendo en el Ventorrillo. Os quiero mucho a todos, a mi discípulo con más artes, al heredero de Trovan y a la más repelente (a veces te odio tanto como te quiero).

Aunque llegaste más tarde y hemos pasado menos tiempo juntos, quiero darte las gracias **Eva**. Nos lo hemos pasado muy bien juntos y aunque te joda, tienes que admitir que bailo bastante mejor que tú. Tengo que agradecer también al resto del

equipo, **Raquel Monclús**, muchas gracias por sacar tiempo todos los años para echar una mano. Tengo que acordarme también de **Bélgica** y sus cámaras. **Blanca y Raquel Crespo**, muchas gracias por esas temporadas de campo juntos. Gracias también a **Ana Romero, Tia y M^a Carmen**. Gracias a todos los voluntarios que han pasado por el equipo, en especial a mis Frenchies **Antoine, Alais y Marinne**, Merci beaucoup y gracias también a un tal **Pablo** por habernos regalado tantos inolvidables momentos. Todas estas historias en el Ventorrillo son gracias al trabajo de **Juanto y Bea**, mil gracias.

Gracias también a mi tutor **José Manuel Serrano** por estar siempre disponible y ser una persona resolutiva y agradable preocupándose siempre por mí, me has salvado de muchas a última hora.

Quiero agradecer también todo lo que me enseñaron durante el máster a **Fernando Hiraldo y Pepe Tella**, aprendí mucho con vosotros y no solo cosas del mundo científico.

Tengo que agradecer y dedicar esta tesis a mis **Crustáceos Serranos. Antonio, Carlos, Manu y Rubén**, para mi sois referentes en la vida en todos los aspectos. Sois sobre todo unas bellísimas personas y sois para comeros er corassón, pero aparte de eso os admiro mucho porque sois unos grandes profesionales de muchísimo nivel y, sobre todo, siempre estáis dispuestos a ayudar a los amigos. Tengo mucha suerte de teneros en mi vida, me encanta lo que tenemos y me encanta que todos aportáis cosas distintas al grupo. Os quiero con locura y espero seguir pasando muchos más años repitiendo congreso.

Tengo que agradecer a toda la gente que desde que llegué a Madrid me acogió desde el primer día en el museo. Muchas gracias **Eva y Fer**, es muy difícil vender un biomaratón en invierno en los secarrales del Álamo y Navalcarnero, pero más difícil aún es hacer que repitamos todos los años, muchas gracias y viva **Biotura. Ángel y Geles**, Salir con vosotros al campo es disfrutar el doble, aunque ir a ver a The Cat Empire tampoco estuvo mal. **Cris**, la reina de la 313, creo que no hay amistad más bonita que la que se basa en churreteos y videos de TikTok sin mediar palabra. **Manu**, eres muy grande en todos los sentidos y me encanta que siempre que nos vemos tienes una sorpresa como haberte casado, tener hijos o incluso nietos. **Ismael**, no sé dónde colocarte porque

estas con los estorninos, con los biomaratones, con cualquier salida al campo, pero lo importante es que siempre estas. **Irene**, uno no sabe lo que tiene hasta que lo pierde, no sé si es por el tiempo que hace que te fuiste, pero desde que estas en Sevilla más me acuerdo de ti. **Gonzalo**, eres de las primeras personas que recuerdo en el museo, y recuerdo pensar ese primer día: ¡qué tío más guay!, lo que no sabía yo es que me estaba quedando corto, tuve mucha suerte de coincidir contigo en el Vento y hacernos amigos de los buenos, de los que no se ven nunca y aun así nunca nos falta dedicarnos un sincero “te quiero”. Por último, muchas gracias **Jorge**, pedazo de honey. Han sido unos años de mucho bicheo y de muchas risas, eres una persona maravillosa y todavía no me hago a la idea de que este año que viene no vamos a poder calentarnos una noche y salir a la mañana siguiente a ver bichos y lo mismo ver unos putos halcones de Eleonora que una puta pasada de garzas reales y no una, sino 3. Os quiero mucho a todos.

Tengo que acordarme también de mis hermanos **Yatta, Toci, Honguito, Lochopo, Fali, Bombilla, Antonio el melli, Krillin y Gabri el abuelo**. El Bartolo y Granada nos unió y a día de hoy, aunque no os escriba nunca y nos veamos de higos a brevas que sepáis que os quiero con locura y que me habéis puesto muy difícil terminar la tesis con vuestras putas bodas y despedidas. Tengo que darte las gracias especialmente a ti **Yatta**, gracias por ser el mejor amigo que alguien pueda desear, gracias por volver a ser mi compañero de piso en Madrid y gracias por cuidarme tanto estos años y entender tan bien mis meses de campo, te quiero mucho. Aquí tengo que mencionar al R.C.M. San Bartolomé y Santiago, al “**Jefe**” **Serrabona, Benítez, Ana** y el resto de trabajadores.

Gracias a mi grupo inseparable de madridistas, gracias **Javi (y Adri y Lara), Pablo, Colombo y Álvaro**, a ti te pillas los agradecimientos por madridista, por biólogo, por compañero de campo y por amigo. Gracias por siempre sacar un ratito para juntarnos, beber cerveza y ver el Madrid juntos y como el Real Madrid en esa maravillosa Champions que vivimos juntos, así ha sido esta tesis, remontada en el último minuto y ¡hasta final! Tengo que hacer una mención especial para **Tito**, gracias por estar siempre ahí, por preocuparte siempre por mí, por cuidarme siempre y por haber pasado una pandemia viendo Ozark en el peor sofá de la historia. Cuando llegué al piso de la caca, fue en sustitución tuya y me alegro mucho de que, al menos por durante un tiempo, al

final pudiéramos ser compañeros de piso. Por más noches hasta las tantas escuchando The Simths y Soda.

No estaría aquí sin mis **Marcials**, muchas gracias **Javi y Merce**, me disteis mi primer trabajo de biólogo y eso nunca lo olvidaré. **Josepico**, eres un personaje de cuidado, ojalá nos veamos pronto. **Oscar**, mi melocotón, eres un person. **Tamara**, la reina lincera, tiene mucho mérito la tesis que has hecho y me dolió mucho perdérmela. Por último, mi **Pablo**, sabes que te quiero con locura, siento haberme perdido tu tesis pero que sepas que estoy muy orgulloso de ti. Sé que soy un amigo de mierda y nunca os escribo y a los de Madrid ni os veo, espero que me lo perdonéis y que sepáis que os quiero mucho.

Antes de pasar a la familia tengo que agradecer a mis amigos de Úbeda, y el hecho de ponerlos aquí es porque sois la transición perfecta entre amigos y familia. Nos hemos criado juntos y habéis formado parte de este proceso, apoyándome siempre. Siempre os estaré agradecido. Muchas gracias **Antonio, Andrés, Ismael, Esther, Javi, Isa, Sara, Ana Belén, Pepelu, Marce, Fer, Lucas y Luquillas, Josico**. Gracias especialmente a **Damián**, por haber hecho la portada de la tesis en uno de los momentos más duros de su vida, gracias por estar siempre ahí amigo. Incluyo también a vuestras respectivas parejas, os quiero muchísimo a todos.

Tengo que acordarme de mis padrinos canarios **Fran y Ana**, que me acogieron desde el primer día que llegué a Teror y me hicieron sentir uno más en su casa, y a los amigos del Barrio del Pino.

Para ir terminando quiero ir acordándome de la familia. Gracias **Mamá y Papá**, sin vosotros no hubiera llegado hasta aquí. Siempre me apoyasteis en este camino, pero sobre todo me apoyasteis en los momentos más difícil anímica y económicamente. Hace poco me preguntaste Mamá que cuales eran los valores que me habías transmitido y después de pensarlo mucho, sin duda es la superación, creo que por motivos más que evidentes, eres mi superheroína. De ti Papá he aprendido a ser un buen profesional en lo mío y sobre todo a ser un trabajador honrado y humilde, muchas gracias a los dos y os quiero mucho. **Chica**, es otro ejemplo de superación como Mamá, pero creo que sobre todo de perseguir tus sueños, estoy muy orgulloso de ti desde siempre, nunca

paraste hasta estudiar lo que querías y mírate ahora, una pedazo de profesional del más alto nivel, eres la mejor y te quiero mucho, aunque tampoco te escriba nunca.

Muchas gracias **Tata y Tito Nono**, muchas gracias por apoyarme siempre y sobre todo por haberme educado tan bien musicalmente. Me he pasado toda la tesis y me paso todo el día escuchando buena música gracias a vosotros y de hecho estoy escribiendo esto escuchando a The Smiths, os quiero mucho. No me puedo olvidar de **Edu**, mi primillo, mi ahijado, mi hermano pequeño y mi bro. Estoy muy orgulloso de ti, de lo buena persona y de lo responsable que eres muchas veces, estoy seguro de que te esperan grandes cosas, te quiero mucho.

Muchas gracias a mi **Tío Miguel**, la **Tía Mariola**, **Mariolilla y Miguel**. Gracias por haberme apoyado siempre. Ahora mismo tengo muchísimas ganas de juntarnos esta Navidad y cantar villancicos (aunque tú no cantes primo también te quiero) y de grabar algún TikTok que nunca se viralizará con mi prima pero que siempre guardaré con cariño.

Quiero acordarme de mis Abuelos. Aunque a mi **Abuelo Eduardo** desgraciadamente nunca lo conocí y **La Aba** le atacó la demencia antes de empezar yo esta tesis, tengo que estarles eternamente agradecidos porque ellos no lo sabían, pero cuando decidieron construir la casa de Cazorla decidieron mi futuro. Por esa casa soy lo que soy a día de hoy, un biólogo amante de los pájaros, de la naturaleza y de Cazorla, Segura y Las Villas. Mi abuelo **Cristóbal** no llegó a verme ni empezar la tesis, pero estoy seguro de estaría muy orgulloso de mi y que fardaría en el Club Diana de su nieto el doctor. Os quiero mucho y os echo mucho de menos. La única que va a llegar a verme terminar esto va a ser mi abuela **Ana María**. Si no he abandonado la tesis en parte ha sido porque sé que a ella le hace mucha ilusión y he vivido con el miedo de no terminarla a tiempo para que ella lo viera, pero afortunadamente sigue luchando y en unos días estaremos juntos rajando aceitunas. No existe método científico para demostrarlo, pero te aseguro yo, que eres la mejor persona que conozco y conoceré, te quiero mucho Abuela.

Tengo que terminar dándote las gracias **Bea**. Tengo tantísimas cosas que agradecerte en tan poco tiempo, pero la más importante es que me rescataste. Después de estar 5 o 6 años sin saber nada el uno del otro, un día apareciste y me sacaste del pozo en el que estaba hundido. Me devolviste la alegría y las ganas de vivir y disfrutar,

me devolviste la ilusión por mi trabajo y sin ti nunca habría terminado. Gracias por hacerlo siempre fácil, por cuidarme tanto, por pensar tanto en mí y por acompañarme en este final de tesis. No dejes de quererme así nunca por favor.

Índice

Resumen.....	12
Abstract	15
Introducción general.....	18
Tecnología RFID.....	18
Tasa de cebas	22
Salto de los pollos del nido.....	25
Los flotantes	27
El estornino negro.....	28
Materiales y métodos	31
Área de estudio	31
Marcaje de adultos.....	31
Marcaje de pollos.....	32
Seguimiento mediante RFID.....	33
Capítulo 1	35
Introducción	35
Materiales y métodos	38
Análisis estadístico	40
Resultados	41
Discusión	47
Capítulo 2	52
Introducción	52
Materiales y métodos	54
Resultados.....	56
Discusión	63
Capítulo 3	70
Introducción	70
Materiales y métodos	73
Resultados.....	77
Discusión	84
Capítulo 4	91
Introducción	91
Materiales y métodos	93
Resultados.....	96
Discusión	99
Discusión integradora	102

Validación y tasa de cebas	102
Tecnología RFID y fecha de salto del nido en el estornino negro	106
Comportamiento de prospección de los flotantes detectado por RFID	109
Conclusiones	112
Referencias bibliográficas	115

Resumen

En el estudio de la ecología y del comportamiento de los animales es fundamental obtener datos sin que la presencia del observador influya en los animales. Este efecto se ha intentado minimizar mediante el uso de escondites, telescopios o usando grabaciones con cámaras. Más recientemente, se han usado acelerómetros y sistemas GPS, pero esta tecnología es limitante por su costo y por la duración de las baterías. A finales de los años ochenta, comenzó a usarse en ecología la identificación por radio frecuencia (RFID), que permite la identificación y detección de los animales sin interferir en su comportamiento.

El objetivo de esta tesis es explorar las posibilidades del uso de esta tecnología para el estudio de varios aspectos de la biología del estornino negro (*Sturnus unicolor*). El estornino negro es un passeriforme que cría en cavidades secundarias y acepta bien el uso de cajas nido. Esto posibilita el uso de lectores RFID mediante la colocación de la antena en la entrada del nido.

Para desarrollar esta tesis se trabajó con una población de estornino negro en la sierra de Madrid en la que las aves realizan dos puestas seguidas. Sin embargo, debido a depredación o sabotaje, se pierden bastantes primeras puestas, que son sustituidas por una puesta intermedia o de reposición. Esto lleva a la existencia de tres olas de puestas en cada temporada de cría.

En primer lugar, se validó el uso de la tecnología RFID para el cálculo de la tasa de cebas. Para ello, se realizaron grabaciones con cámaras desde fuera y dentro del nido, y se comparó estos datos con los recogidos por el lector. Se calculó con las grabaciones de vídeo el tiempo de duración de las visitas de cada sexo, así como el tiempo entre visitas. Con estos datos se calculó un tiempo de corte para machos y hembras con el fin de evitar sobrestimar o subestimar la tasa de cebas calculada con RFID. Se encontró que la mejor correlación entre cebas observadas y calculadas fue para pollos de entre 5 y 10 días de edad y usando un tiempo de corte de 37 segundos para machos y 64 segundos para hembras.

A continuación, usando esta validación previa, se estudiaron las diferencias en la tasa de cebas entre machos y hembras en función de las distintas olas de puesta, la edad de los pollos y la hora del día (patrón circadiano). Se observó que las hembras cebaron más que los machos, acentuándose estas diferencias en segundas puestas. Los resultados mostraron que la tasa de cebas en ambos sexos sigue un patrón cuadrático con la edad de los pollos, aumentando progresivamente hasta alcanzar el máximo en torno a los 10 días y disminuyendo después. Ambos sexos aumentaron significativamente la tasa de cebas al aumentar el número de pollos, pero los machos invirtieron comparativamente más en puestas más grandes en intermedias y segundas. Por último, el pico máximo de cebas diario se registró al amanecer en todas las olas de puestas. Ambos sexos siguieron el mismo patrón circadiano, con un pico al amanecer y un descenso progresivo durante el día, con un repunte al final de la tarde en el caso de las puestas primeras e intermedias.

El siguiente paso fue estudiar el proceso de abandono del nido por parte de los pollos. Para ellos se midieron y se marcaron los pollos con transpondedores a los 14 días de edad y se programaron los lectores RFID para registrar dos tipos de detecciones: (1) el primer uso de la entrada del nido; y (2) la última detección de cada pollo, que se tomó como fecha en la que saltan del nido. Los resultados tanto a nivel de nido como a nivel individual de cada pollo mostraron que el proceso de salto del nido está influenciado por el peso y el tamaño del ala. Los nidos con mayores diferencias de peso en los pollos y mayor número de pollos se quedaron vacíos más tarde, y hubo un intervalo mayor entre el primer pollo y el último en salir. A nivel de pollo se observó que los pollos con el ala más pequeña y con mayor número de hermanos salían más tarde y ocupaban posiciones más retrasadas respecto al orden de salida respecto a sus hermanos. En cuanto al uso de la entrada del nido, la mayoría de los pollos usaron la entrada del nido por primera vez a los 15 días, aunque en primeras puestas los pollos usaron la entrada del nido por primera vez significativamente más tarde que en intermedias y segundas puestas.

Por último, se realizó un experimento para estudiar el comportamiento de prospección de nido de los individuos no reproductores, llamados flotantes. La hipótesis testada fue que los flotantes eligen visitar nidos en los cuales sus posibilidades de

ocupación son mayores. Para ello, en un experimento de hándicap, cortando dos primarias de cada ala a machos o hembras reproductoras, aumentando así su carga alar y reduciendo su condición física. En el grupo control no se modificaron las plumas. Se registró la actividad de prospección con lectores RFID durante las cebas de los pollos. Los resultados muestran que los nidos de machos de hándicap recibieron un número significativamente mayor de individuos flotantes machos que los controles. Así mismo, encontramos que los nidos con más tasa de cebas por parte de los propietarios recibían un mayor número de individuos flotantes. No se encontró efecto del tratamiento en el caso de las hembras. Los resultados sugieren que los flotantes observan a las aves reproductoras para encontrar nidos que visitar, y que los machos prefieren visitar nidos donde el propietario presenta una menor condición física.

Los resultados de estas tesis ponen de manifiesto que la tecnología RFID es una herramienta fiable para el cálculo de la tasa de cebas en el estornino negro y ofrece un abanico de posibilidades para su uso en el estudio de otros aspectos de la biología del estornino negro como el proceso de abandono del nido o el comportamiento de los individuos flotantes.

Abstract

An essential requirement in the study of animal ecology and behaviour is the need to obtain data without the observer's presence influencing the behaviour of the observed animals. This effect has been traditionally minimised using hides, telescopes and camera recordings. More recently, accelerometers and GPS devices have been employed to study animal behaviour and migratory patterns, though these technologies are often costly and limited because of battery duration. Radio frequency identification (RFID) emerged as a new tool in the late 1980s for ecological studies, gaining popularity due to decreasing costs and its ability to passively collect data without affecting the behaviour or survival of marked individuals.

The objective of this thesis is to explore the possibilities of using RFID technology to study various aspects of the biology and ecology of the Spotless Starling (*Sturnus unicolor*). The Spotless Starling is a social passerine that breeds in secondary cavities and easily accepts nest boxes, allowing us to use RFID readers placed at nest entrances to detect individuals marked with transponders.

To achieve this goal, the study focused on a population of Spotless Starlings in northern Madrid, where birds undergo two consecutive, highly synchronous breeding cycles. Since some first broods fail because of predation or sabotage, and this leads no replacement broods. As a consequence, there are three waves of broods each breeding season: first broods, intermediate or replacement broods, and second broods. This population has been marked with transponders since 2013, undergoing continuous intensive monitoring, marking different cohorts of chicks and all new adults captured.

The initial step involved validating the use of RFID technology for calculating feeding rates. Video recordings were made from outside and inside the nest to capture parental feedings and compare them with data collected by the RFID reader. Video recordings were used to determine the duration of visits for each sex and the time between visits to establish cutoff times for males and females, preventing overestimation or underestimation of feeding rates calculated with RFID. It was found that the best correlation between observed and calculated feedings occurred for chicks

aged 5 to 10 days, using a cutoff time of 37 seconds for males and 64 seconds for females.

Once the use of RFID for calculating feeding rates was validated, the study examined differences in feeding rates between males and females based on different brood waves, chick ages, and time of day (circadian pattern). Data from three consecutive years showed that females fed more than males in all brood waves, with these differences being accentuated in second broods. The results revealed that feeding rates in both sexes followed a quadratic pattern with chick age, steadily increasing until around 10 days of age and decreasing thereafter. Both sexes significantly increased feeding rates with increasing number of chicks, but males were more sensitive to this variable, investing comparatively more in larger clutches in intermediate and second broods. Finally, the daily peak of feeding rate occurred at sunrise in all nesting broods. Both sexes followed the same pattern in different broods, being quadratic in first broods and intermediate, peaking at dawn, decreasing in the midday hours, and showing a slight increase before dusk. In second broods, the observed pattern was a progressive and linear decrease in feeding rates for both sexes from dawn.

The next step in the study of Spotless Starling biology was to investigate the nest departure process by chicks (fledging). To do this, chicks were measured and marked with transponders when they were 14 days old, and RFID readers were programmed to record the use of the nest entrance, assuming the last detection of each chick as the moment of fledging. Results at both the nest and individual chick levels showed that the fledging process was influenced by weight and wing size. Nests with greater weight differences among chicks and a higher number of chicks fledge significantly later, with a longer interval between the first and last chick to leave. At the chick level, those with smaller wings and more siblings fledge later and occupied more rearward positions in the order of departure compared to their siblings. Regarding the use of the nest entrance, most chicks used it for the first time at 15 days of age, although in first broods, chicks used the nest entrance for the first time significantly later than in intermediate and second broods.

Finally, RFID technology was used to study non-reproductive individuals, known as floaters, which are very abundant in this species. Floaters actively visit breeding pairs'

nests; this behaviour is known as prospecting since in other species it has been shown to influence settling patterns. To study whether these visits are made at random, or on the contrary, the floaters choose to visit nests where their chances of occupancy are higher, a handicap experiment was conducted. The experiment consisted in cutting two primary feathers from each wing of males and females, increasing wing load and moderately reducing flight capacity. A control group was made with individuals in which no wing manipulation was performed. RFID readers were placed in experimental nests when chicks were 10 to 14 days old to record visits by floaters. The results showed that nests with males whose feathers were cut received a significantly higher number of different male floaters visitors than controls. Additionally, nests with a higher feeding rate by owners received a greater number of male floaters, but the total number of total visits turned out to be lower. No treatment effect was found in the case of females. The results suggest that the floaters observe the breeding birds to find nests to visit, and that males prefer to visit nests where the owner has a lower physical condition.

The results of this thesis demonstrate that RFID technology is a reliable tool for estimate feeding rates in Spotless Starlings and offers a range of possibilities for its use in studying other aspects of the biology of this species, such as the fledging process of chicks or the behaviour of floaters.

Introducción general

Esta tesis resulta de un proyecto de doctorado industrial (Comunidad de Madrid, IND2018_AMB9317), una iniciativa pública que busca compaginar el desarrollo de tecnología con una aproximación de investigación asociada. El contexto en el que se encaja este proyecto es el de los estudios de comportamiento animal, en concreto, aquellos basados en el uso de cajas nido por las aves, en los que se necesita recopilar información masiva y fiable con el fin de monitorear de forma remota a los animales. Aunque existen numerosos avances en la tecnología necesaria para hacer estos estudios, hay una carencia de soluciones comerciales que permitan realizar seguimientos y estudios de aves con una metodología comparable. Esta tesis aborda esta necesidad de conocimiento, aplicando sistemas desarrollados en estrecha colaboración con la empresa Zeus S.L. (NIF B85349041) usando tecnología de identificación por radiofrecuencia (RFID) de Trovan.

Los cuatro capítulos que conforman esta tesis hacen uso de esta tecnología, aplicándola a un sistema de estudio consistente en una población de estornino negro (*Sturnus unicolor*) que cría en cajas nido y es monitoreada a largo plazo. En dicho sistema de estudio, se exploran las posibilidades de estas tecnologías para contestar diversas cuestiones sobre el comportamiento reproductor de esta especie, tanto de forma correlativa como experimental.

Tecnología RFID

Las técnicas de identificación por radiofrecuencia, RFID según sus siglas en inglés, constituyen una herramienta que permite identificar un objeto mediante el uso de etiquetas o transpondedores RFID. Se trata de una tecnología cuyas bases fueron desarrolladas hace más de 75 años. Aunque la tecnología RFID no estaba presente durante la Segunda Guerra Mundial, algunos de los principios y desarrollos tecnológicos usados en ese conflicto sentaron las bases para futuros avances en identificación y comunicación inalámbrica. Uno de los mecanismos precursores fue la Identificación de Amigos o Enemigos (IFF). Aunque no es una metodología RFID en sí misma, el sistema

IFF permitía a las fuerzas aliadas distinguir entre aviones, barcos y tropas amigas y enemigos mediante el uso de señales de radio. Este sistema se basaba en la transmisión y recepción de señales, un principio que tiene similitudes con la tecnología RFID.

No fue hasta la década de los 70 cuando el ingeniero eléctrico Mario W. Cardullo obtuvo una patente para un "Transpondedor pasivo para transmisión de energía y señales de datos" en 1973. Este dispositivo es considerado uno de los primeros ejemplos de un sistema RFID. Este transpondedor respondía a señales de radio para transmitir información. En la década de los 80 se empezó a popularizar su uso en diferentes situaciones, y a partir de ahí el abaratamiento de costes ha propiciado que se extienda a numerosos contextos industriales y comerciales.

Esta tecnología cuenta con cuatro componentes principales: la etiqueta RFID o transpondedor, la antena, el lector y una batería que alimenta el sistema. Los transpondedores pueden ser de tres tipos: solo lectura, donde el código viene impuesto en el momento de la fabricación y no se puede modificar; de lectura y escritura, donde el lector puede modificar la información del transpondedor; y, por último, de anticollisión, donde los transpondedores son de un tipo especial que permite el registro de varias unidades a la vez por parte del lector.

La antena está formada por un bobinado de cobre o aluminio que emite periódicamente ondas de radio para captar la señal del transpondedor. El proceso de funcionamiento se inicia con la activación del transpondedor cuando entra en el campo de alcance del lector. La antena del lector emite una señal de radiofrecuencia que activa el transpondedor. El transpondedor responde transmitiendo la información almacenada en su chip, que puede incluir un número de identificación único u otros datos relevantes.

La antena del lector recoge la señal del transpondedor y la envía a la unidad de control del lector. Esta unidad procesa la información recibida y puede realizar operaciones como verificación, almacenamiento o transmisión de datos a sistemas externos.

El cifrado en RFID se vale de diversas medidas para garantizar la seguridad y la privacidad de los datos transmitidos. Esto incluye el uso de protocolos de comunicación segura, autenticación para verificar la legitimidad del lector y el transpondedor,

encriptación de datos para prevenir el acceso no autorizado, y el establecimiento de políticas de control de acceso para determinar quién tiene permiso para leer o escribir en los transpondedores RFID.

En resumen, la tecnología RFID facilita la identificación y el seguimiento de objetos a través de la comunicación inalámbrica entre transpondedores y lectores. El cifrado y las medidas de seguridad son esenciales para proteger la integridad de la información transmitida, asegurando su uso adecuado en diversas aplicaciones, desde la gestión de inventarios hasta el control de acceso y más.

Esta tecnología de origen militar está cada vez más extendida en la sociedad, usándose para el control de acceso en edificios (Farooq *et al.*, 2014) o seguimiento de productos en sistemas logísticos y cadenas de montaje (Ampatzidis y Vougioukas, 2009; Oghazi *et al.*, 2018). Aunque los transpondedores pueden ser de muchos tamaños, se han desarrollado algunos diminutos (30 x 20 x 10 mm), encapsulados en vidrio, que permiten ser implantados subcutáneamente en seres vivos. De hecho, uno de los usos más conocidos es el uso de transpondedores para la identificación individual de mascotas como perros y gatos (Choi *et al.*, 2011; Azam *et al.*, 2023). De manera similar, se usa en el sector primario para identificar al ganado (Maselyne *et al.*, 2014; Brown-Brandl *et al.*, 2019), aves de corral (Sales *et al.*, 2015) o en piscifactorías (Hsu, Chen y Wang, 2008).

El hecho de poder obtener información de forma pasiva sin necesidad de interactuar con los animales ha potenciado el uso de esta tecnología para el estudio de los animales en el campo de la Ecología. Desde finales de los ochenta se ha incrementado el uso de transpondedores para identificación individual en el estudio de todo tipo de animales, como murciélagos (Barnard, 1989), hurones domésticos y salvajes (Fagerstone y Johns, 1987), roedores (Rao y Edmondson, 1990; Ball, 1991), nutrias marinas (*Enhydra lutris*) (Dreichman, 1987) y en varias especies de anfibios, reptiles y tortugas (Camper y Dixon, 1988). El precio de estos sistemas se ha ido abaratando con el tiempo (Becker y Wendeln, 1997) lo cual ha facilitado su rápida expansión esta área de estudio

En el caso de las aves, la tecnología RFID se lleva usando también desde principio de los noventa (Nogge y Behlert, 1990), aplicándola a la cuantificación de la tasa de ceba de los padres (Boisvert y Sherry, 2000; Ballard *et al.*, 2001), las tasas de supervivencia y reclutamiento (Becker y Wendeln, 1997; Dittmann y Becker, 2003; Gendner *et al.*, 2005; Nicolaus, Bouwman y Dingemanse, 2008) o identificar nuevos lugares de nidificación (Booms y McCaffery, 2007). A la hora de implementar la tecnología de RFID a estudios con aves, existen dos formas diferentes de colocar los transpondedores: adheridos a una anilla o implantados bajo la piel. La colocación del transpondedor en la anilla presenta dos inconvenientes principales: es más fácil que se pierdan o estropeen, y además se dificulta su registro por el lector en la posición vertical. La colocación mediante implantación subcutánea minimiza el riesgo de pérdida y se garantiza la lectura, ya que el transpondedor se coloca de forma longitudinal al cuerpo del ave. Aunque este segundo sistema requiere de una pequeña intervención quirúrgica, ésta se muy rápida y ocasiona un daño leve al animal, la cual se ha documentado que no ocasiona mortalidad, ni siquiera en aves pequeñas (Nicolaus, Bouwman y Dingemanse, 2008).

Como hemos visto, esta tecnología nos brinda una herramienta muy poderosa para el estudio de la fauna y en concreto de las aves (Bonter y Bridge, 2011). Sin embargo, esta tecnología también tiene ciertos inconvenientes y limitantes. La mayor limitación de los datos obtenidos mediante RFID es que sólo nos informan de la presencia de un individuo con fiabilidad, pero no sabemos qué hace ese individuo, lo que limita nuestra capacidad para inferir qué actividad concreta realizaba en el momento de la detección. Para paliar esta limitación son necesarios estudios observacionales que verifiquen los datos que obtenemos con RFID para comprobar que no están sesgados. En la actualidad se está empezando a validar esta tecnología para el estudio del comportamiento como por ejemplo para el cálculo de tasa de cebas en aves (Hughes, Mady y Bonter, 2021a) pero son necesarios estudios adicionales para cada especie para asegurar que la cuantificación de la actividad es fiable en las distintas fases de este proceso.

La tecnología RFID nos puede ayudar a estudiar a realizar un seguimiento longitudinal de los individuos, lo que es básico para responder a la mayoría de los aspectos clave de la biología del estornino negro. Centrándonos en la reproducción,

podemos usar la tecnología RFID para estudiar el conflicto parental y la inversión de cada sexo mediante el cálculo de la tasa de cebas, previa validación del uso del RFID para el cálculo de la tasa de cebas en esta especie. Una vez que los padres han criado a los pollos, el siguiente paso en la biología del estornino es el abandono del nido. Marcando los pollos con transponders a los catorce días de edad podemos registrar el proceso de abandono del nido mediante el uso de los lectores RFID. Podríamos así, registrar el uso de la entrada del nido por parte de los pollos y asumir la última detección de cada pollo como el momento de abandono del nido. Por último, una vez cubierta la parte reproductora, podemos usar esta tecnología para estudiar el comportamiento de los individuos que no se reproducen, los flotantes.

Tasa de cebas

El cuidado parental abarca cualquier comportamiento de los padres que puede aumentar las probabilidades de supervivencia de su descendencia, obteniendo el fin último de transmitir sus genes a las siguientes generaciones (Gross, 2005). Dentro del cuidado parental hay una amplia gama de comportamientos como la construcción y la defensa del nido o la protección y alimentación de los descendientes

La reproducción es un balance de costes y beneficios, en este escenario la aportación de cada uno de los padres es crucial y da lugar al conflicto parental (Stearns, 1992). No en todos los animales se reparten las tareas por igual entre los progenitores. Según Gross, 2005, en los mamíferos son las hembras las que se encargan de criar a sus hijos en el 90% de las familias, siendo cuidado biparental el 10% restante. En el lado opuesto, en los peces es el macho el que realiza el cuidado parental en el 50% de las familias. En las aves predomina el cuidado biparental, que está presente en el 90% de las especies, si bien la contribución relativa de cada sexo es muy variable, entre y dentro de especies. Uno de los factores que puede modular la inversión parental por parte de cada sexo como puede ser el grado de poligamia, que, al reducir el grado de certeza de paternidad del macho en especies monógamas sociales, puede reducir su proclividad a invertir en una prole con la que puede compartir menos del 50% de sus genes (Møller y Birkhead, 1993; Sheldon, Räsänen y Dias, 1997). Otro efecto colateral del grado de poliginia es que el éxito reproductor de las hembras depende en parte del cuidado paternal del macho y en especies con machos polígamos este éxito se puede ver

comprometido (Slagsvold y Lifjeld, 1994), ya que los machos pueden priorizar uno de varios nidos simultáneos, o dividir su esfuerzo entre ellos.

La tasa de cebas suele considerarse un buen estimador del cuidado parental en aves (Ydenberg, 1994; Maigret y Murphy, 1997). Por eso lleva estudiándose muchos años de formas muy distintas como observaciones directas (Erwin, Hafner y Dugan, 1985), grabaciones de video (Kuwae, 2007) y más recientemente RFID (Freitag, Martinoli y Urzelai, 2001; Wilkin, King y Sheldon, 2009). Esta tecnología puede ser muy útil en especial en el caso de aves que crían en cavidades, lo cual facilita el registro del acceso al nido por parte de los padres mediante una antena RFID en la entrada del nido (Freitag, Martinoli y Urzelai, 2001).

Tradicionalmente los estudios de tasas de cebas se han realizado basándose en observaciones directas por parte de los investigadores, normalmente ubicados en escondites o “hides” (Pinxten y Eens, 1994; Sandell, Smith y Bruun, 1996). Estas observaciones tienen ciertas limitaciones como la imposibilidad de realizar varias observaciones a la vez o la posibilidad de alterar el comportamiento de los individuos si detectan nuestra presencia. También implican un gran esfuerzo por parte de los investigadores al invertir mucho tiempo y aguantar condiciones meteorológicas a veces desfavorables. Posteriormente, se extendió el uso de cámaras para el estudio de la tasa de cebas (Moreno *et al.*, 1999; Lee, Kim y Hatchwell, 2010) con el fin de eliminar el posible efecto del observador. Las cámaras permiten grabar el comportamiento de forma pasiva y analizarlo con detenimiento en el laboratorio, pero éstas grabaciones están limitadas por la capacidad de almacenamiento y por la duración de la batería. La tecnología RFID es una buena alternativa para medir la tasa de cebas en aves, sobre todo en aquellas que nidifican en cavidades dónde se puede colocar la antena en la entrada del nido. La ventaja principal del RFID es que puede recopilar datos durante muchas horas o incluso días, y que los datos no necesitan ser visionados como en el caso de los videos, sino que se transfieren como archivos limpios al ordenador. Sin embargo, esta tecnología tiene ciertas limitaciones, y una de ellas puede ser la subestima de las detecciones. Las detecciones se pueden ver afectadas por la distancia del transpondedor a la antena, así como el ángulo del transpondedor respecto a la antena si éste no es perpendicular. La velocidad a la que entra el animal en el nido también puede afectar a

la capacidad de detección del lector, esto puede controlarse mediante una modificación de los tiempos de espera programables entre lecturas por parte del software del lector. Estos tiempos de espera pueden ajustarse al comportamiento de cada especie de estudio y a los intereses de cada investigador, pero aun así los animales pueden entrar más rápido y perderse algunas detecciones. Por último, la mayoría de los lectores solo pueden leer un transpondedor a la vez, por lo que también podría afectar a la subestima de las detecciones (Maselyne, Saeys y Van Nuffel, 2015).

A pesar de esto, el mayor problema del uso de RFID para estudios de comportamiento es la sobreestimación de detecciones. En el caso de la tasa de cebas, muchas veces antes de entregar la ceba asoman varias veces la cabeza lo que se puede traducir en varias detecciones para el mismo evento de alimentación de pollos. Por otro lado, al tener las visitas una duración variable, no es siempre evidente calcular si dos detecciones dadas corresponden a una entrada y una salida o bien a una misma entrada. Para solucionar este problema se ha propuesto el uso de tiempos de espera arbitrarios en función de cada especie de estudio esperando que el tiempo de espera sea más corto que el tiempo del individuo fuera del nido y dentro del nido (Johnstone *et al.*, 2014). En estudios anteriores en esta población se ha usado un tiempo de espera de ocho segundos basándonos en observaciones directas y en otros estudios similares (García-Navas *et al.*, 2009; Johnsen, Delhey, Schlicht, Peters y Kempnaers, 2005).

Una vez recolectados los datos tomados con un tiempo de espera entre lecturas determinado, hay que filtrar los datos para evitar detecciones repetidas. Un filtro muy usado es dividir por dos las detecciones para separar las detecciones de entrada y de salida del individuo (García-Navas, Ortego y Sanz, 2009; Johnsen, Delhey, Schlicht, Peters y Kempnaers, 2005; Welbers *et al.*, 2017).

Hay muy pocos estudios que validen el uso de esta tecnología para el estudio del comportamiento animal. En el caso de la tasa de cebas son necesarias validaciones observacionales comparadas con los datos recogidos por el lector. Basándonos en Iserbyt *et al.* (2018) hemos querido validar en el Capítulo 1 de esta tesis el uso de RFID para el cálculo de la tasa de cebas en el estornino negro utilizando una determinación del punto de corte óptimo. Para ello usamos grabaciones para calcular el tiempo dentro y fuera del nido en cada ceba y el tiempo entre visitas para cebar.

El objetivo de este primer capítulo es encontrar un filtro o punto de corte para cada sexo en el que los datos recogidos en el lector tengan una correlación lo más alta posible con las cebas observadas por métodos tradicionales y directos, como las grabaciones en video. Esperamos que este punto de corte sea distinto para cada sexo por la inversión diferencial en cuidado parental del estornino negro. También esperamos que el punto de corte y la correlación de cebas registradas y observadas cambie en función de la edad de los pollos. Por último, también se evaluará la exactitud del filtro de ocho segundos usado hasta hoy en día en esta población.

Una vez validada la tecnología y habiendo obtenido unos puntos de corte específicos para cada sexo, el objetivo del Capítulo 2 será estudiar las tasas de cebas en el estornino negro tanto en machos como en hembras y evaluar cómo varían éstas en función de la hora del día, la edad de los pollos y de la ola de puesta (primeras puestas, intermedias o segundas). Esperamos para este capítulo que las hembras ceben más que los machos en todos los casos y que estas diferencias se vean acentuadas en segundas puestas, donde las condiciones ambientales son más exigentes y muchas de las aves acumulan ya el esfuerzo de haber sacado adelante una primera puesta. Respecto a cómo varía la tasa de cebas en ambos sexos a lo largo del día, esperamos el mismo patrón para machos y hembras, mostrando una tasa de cebas máxima a primera hora del día y un mínimo en las horas centrales. En lo que respecta a la edad de los pollos esperamos que la tasa de cebas de ambos sexos se incremente con la edad de los pollos al aumentar los requerimientos de éstos.

Salto de los pollos del nido

En las aves altriciales, el salto del nido es un paso crucial de la supervivencia de los pollos, aunque se sabe muy poco sobre los mecanismos que regulan este paso vital. Aunque se han propuesto diversas hipótesis para explicar cuándo, cómo y en qué orden saltan los pollos del nido, las evidencias empíricas muestran que el abandono del nido suele ser a primera hora del día (Radersma, Komdeur y Tinbergen, 2015; Santema *et al.*, 2021) y suelen ser los pollos más grandes los primeros en abandonar el nido (Lemes, 1989; Nilsson y Svensson, 1993; Johnson, Rauch y Dellone, 2004).

Según resumen Johnson, Rauch y Dellone (2004), existen cuatro hipótesis principales para explicar quién es el primero en abandonar el nido y los mecanismos que lo pueden explicar:

- Hipótesis de la manipulación parental: sugiere que un cambio en el comportamiento de los padres sería el detonante. Este cambio comportamental de los padres podría ser una reducción en la tasa de cebas o pasar por delante del nido con la ceba para estimular el salto del pollo (Bustamante y Hiraldo, 1990; Michaud y Leonard, 2000) o perchados con la ceba delante del nido (Meinertzhagen, 1954; Rowan, 1955; Walker, 1972).

- Hipótesis del tamaño umbral: predice que el pollo más desarrollado es el primero en abandonar el nido (Lemes, 1989; Nilsson y Svensson, 1993; Johnson, Rauch y Dellone, 2004).

- Hipótesis de la competición entre pollos: la competencia entre hermanos haría que uno de los pollos más retrasados saltara primero, o al menos entre los primeros, al ocupar la entrada del nido para interceptar las cebas (Lemes, 1989).

-Hipótesis de la selección de parentesco: propone que los pollos grandes podrían retrasar su salida para esperar a que sus hermanos pequeños desarrollasen el tamaño necesario para saltar y hacerlo así de forma simultánea (Freed, 1988).

Con respecto al momento exacto del día en que se da el salto, se ha propuesto que los pollos tienden a saltar a primera hora del día para tener más tiempo para encontrar un lugar seguro antes del anochecer y así aumentar sus probabilidades de supervivencia (Johnson, Rauch y Dellone, 2004). Algunos autores sugieren que saltar del nido a primera hora reduce el riesgo de ser depredados (Chiavacci, Ward y Benson, 2015). Sin embargo, Santema *et al.* (2021) no encontraron evidencias de mayor supervivencia en los pollos de herrerillo común (*Cyanistes caeruleus*) que saltaron temprano frente a los que saltaron tarde el mismo día. Estos autores proponen que los pollos saltan temprano porque durante la noche alcanzan el tamaño límite o “size threshold” con el que poder saltar y a la mañana siguiente salen del nido.

La tecnología RFID ha permitido avanzar en el estudio de este proceso ya que al recoger la información de forma pasiva no se altera el proceso de abandono del nido debido a la manipulación del investigador. Marcando los pollos con transpondedores es

posible obtener la última detección de cada pollo al salir del nido al pasar por la antena (Bonter y Bridge, 2011; Johnson *et al.*, 2013; Scharf *et al.*, 2022) quedando registrado el proceso de salto del nido de cada pollo.

El objetivo del tercer capítulo de esta tesis es usar la tecnología RFID para estudiar el proceso de salto del nido por parte de los pollos en el estornino negro. Tanto a nivel de nido como a nivel individual de cada pollo, esperamos que el proceso de abandono del nido esté determinado por limitaciones morfológicas como el peso y el tamaño del ala, apoyando así la hipótesis del tamaño umbral. Esperamos que los últimos en abandonar el nido sean los pollos con menor tamaño y/o menor peso.

Los flotantes

La mayoría de estudios de aves durante el periodo reproductivo se centran en el estudio de las parejas reproductoras. Éstas son fáciles de estudiar ya que al tener un territorio u un nido dónde criar se pueden monitorizar con facilidad. Pero no todos los individuos se reproducen. Los individuos flotantes son ejemplares sexualmente maduros que no se reproducen debido a su bajo estatus o su incapacidad para obtener un territorio donde criar (Stamps y Tollestrup, 1984; Moreno, 2016; Huck y Fernandez-Duque, 2023). Sin embargo, estos individuos tienen un importante papel en la dinámica poblacional ya que realizan visitas activamente a los territorios de los reproductores y prospectan posibles lugares de cría en busca de lugares disponibles para criar (Walter H Piper, Lee y Hoover, 2022). Esto hace que compitan por los lugares de crías y puedan expulsar de sus nidos a los propietarios.

La presencia de flotantes puede venir determinada por una alta competencia intraespecífica por los lugares para criar, así como una alta densidad poblacional, no encontrando los flotantes territorios disponibles (Kokko y Sutherland, 1998). Una razón de sexos desequilibrada también puede provocar un aumento de los flotantes al no poder encontrar pareja todos los ejemplares del sexo en exceso (Marra y Holmes, 1997), generalmente los machos (Newton, 1998). Un aspecto importante es que los flotantes suelen ser individuos jóvenes en comparación con los reproductores (Sergio, Blas y Hiraldo, 2009; Moreno, 2016).

En aves que crían en cavidades es esencial obtener y defender un nido para poder reproducirse (Newton, 1992). El hecho de depender de cavidades naturales o artificiales hace que la competencia intraespecífica por estos recursos aumente. En muchas aves los flotantes visitan activamente nidos de reproductores durante la temporada de cría (Pärt y Doligez, 2003; Parejo *et al.*, 2007; Veiga *et al.*, 2012). Este comportamiento se suele denominar “prospección” y puede aportar información pública a los flotantes (Doligez, Danchin y Clobert, 2002; Doligez, Pärt y Danchin, 2004; Veiga *et al.*, 2012).

En el Capítulo 4 de esta Tesis empleamos la tecnología RFID para estudiar el comportamiento de prospección de los flotantes de estornino negro. En concreto la hipótesis que planteamos es que las prospecciones estén dirigidas hacia los nidos con una menor capacidad de defensa. Para ello realizaremos un experimento en el que manipularemos la capacidad de vuelo de individuos reproductores. Nuestra predicción es que los nidos ocupados por estos individuos cuya condición y capacidad de vuelo se ha visto limitada sean más prospectados, y particularmente que lo sean por un mayor número de flotantes distintos. Esperamos un efecto dependiente del sexo, de manera que los machos flotantes visiten preferentemente a los machos manipulados y las hembras flotantes a las hembras manipuladas.

El estornino negro

Nuestra especie en esta tesis es el Estornino negro (*Sturnus unicolor*, Temminck 1820). Es un ave paseriforme de mediano tamaño, de carácter colonial, principalmente monógama, pero con cierto grado de poliginia (Veiga *et al.*, 2002; Celis, Graves y Gil, 2021). Es de color negro uniforme en adultos con ciertas zonas de iridiscencia en el plumaje. Los juveniles tienen un grado variable de moteado blanco en el plumaje. El pico es amarillo intenso durante la temporada de cría y se oscurece llegando a ser completamente negro en invierno. Los machos tienen la base del pico azulada y las hembras rosácea (Figura 1). Tienen plumas ornamentales filiformes en la garganta siendo de gran tamaño en los machos que las exhiben mientras cantan, siendo más cortas en el caso de las hembras. Tiene una dieta omnívora, aunque con variación a lo largo del año predominando el alimento vegetal (gramíneas, papilionáceas y frutales) en

otoño e invierno y aprovechando en primavera y verano la abundancia de presas como coleópteros, formícidos, larvas de insectos y ortópteros (S. Peris, 1980).



Figura 1: Macho de estornino negro con base del pico azul y plumas de la barba larga (izquierda) y hembra de estornino negro con base del pico rosa (derecha)

Anida en cavidades naturales y suele aceptar muy bien las cajas nido. Suelen hacer uso de las cajas durante todo el año, pero en marzo comienzan a defender y a preparar el nido para la temporada de cría. Al ser los nidos un recurso limitado hace que la competencia intraespecífica sea muy grande, provocando una alta proporción de individuos flotantes en la población. Estos individuos flotantes pueden ocasionar sabotajes e incluso parasitismo de cría en el caso de las hembras (Celis, Graves y Gil, 2021).

El nido está formado por material vegetal seco, los machos suelen aportar material vegetal fresco (Veiga, Polo y Viñuela, 2006) y las hembras plumas principalmente con función ornamental (Veiga y Polo, 2005). La puesta va de dos a seis huevos, siendo la moda cuatro (D'Arpa *et al.*, 2022). En nuestra población suelen hacer dos puestas, una primera en abril y una segunda a finales de mayo, principios de junio. Las parejas que inician una primera puesta, pero fracasan por sabotaje o depredación, suelen hacer una puesta de reposición que será su única puesta de la temporada y se encuadra temporalmente entre las primeras y las segundas puestas. Esta ola de puestas de reposición la llamamos puestas intermedias. Finalmente tenemos tres olas de

puestas (Fig.2) a lo largo de la temporada que serían: primeras, intermedias y segundas. Las condiciones ambientales, así como la disponibilidad de presas varía entre las distintas puestas, con una disminución de las condiciones óptimas conforme avanza la temporada.

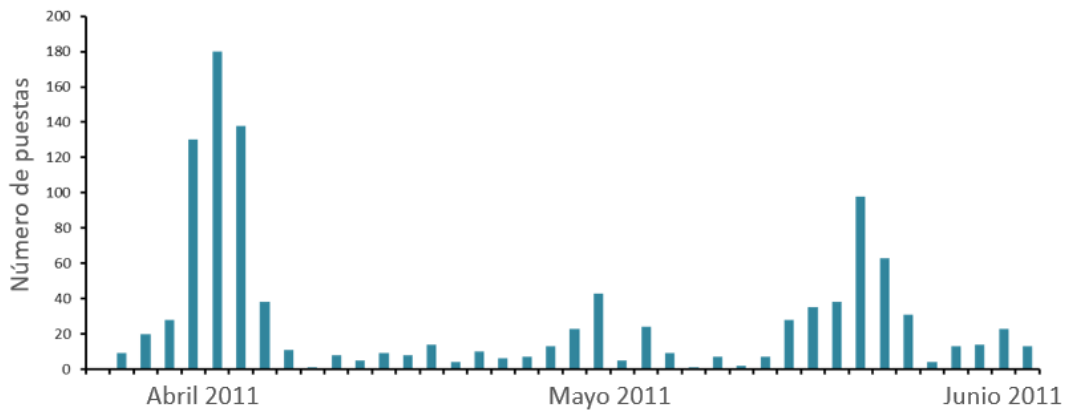


Figura 2: Distribución y número de puestas a lo largo de la temporada de cría.

El cuidado parental es llevado a cabo por ambos miembros de la pareja, aunque los machos varían mucho su aportación. Los huevos eclosionan tras unos 11 días de incubación después de la puesta del último huevo. Los pollos abandonan el nido entre los 19 y 25 días de edad.

Materiales y métodos

Área de estudio

Trabajamos con una colonia reproductiva de estornino negro en libertad ubicada en el municipio de Soto del Real (Madrid) donde tenemos instaladas 250 cajas nido en una dehesa ganadera compuesta principalmente por Robles melojos (*Quercus pirenaica*) y Fresnos (*Fraxinus angustifolia*). Este ecosistema varía mucho a lo largo de la temporada de cría del Estornino (Fig. 3). En primavera la dehesa suele ser húmeda, con pasto verde y disponibilidad de alimento debido a la gran cantidad de larvas de insectos. Con el avance de la temporada las temperaturas van aumentando y la dehesa se va agostando, secándose y cambiando la disponibilidad de alimento, siendo ahora la principal presa de los Estorninos los ortópteros.

Primeras puestas



Segundas puestas



Figura 3: Comparación del ambiente de la dehesa entre las primeras puestas (abril) y las segundas puestas (junio).

Marcaje de adultos

Esta población lleva siendo seguida desde 2003 con el mismo sistema de captura, pero el marcaje masivo con transpondedores se ha iniciado más recientemente. En marzo, antes de empezar la puesta se capturan y se marcan a los estorninos adultos. Aprovechando que muchos individuos e incluso ambos miembros de la pareja usan las cajas nido para pasar la noche, se capturan dentro de la caja nido antes de amanecer. Aparte de permitir marcar o recapturar a los individuos, este mecanismo aporta una información muy valiosa, ya que los individuos que duermen en los nidos suelen ser los

propietarios de esa caja y tienden a criar allí posteriormente. Una vez capturados los individuos que duermen en las cajas, se ponen unas trampas que se activan con un resorte al entrar un ave y cierran la entrada de la caja. A lo largo de la mañana se revisan y se van capturando a los individuos atrapados y activando la trampa de nuevo. Esto permite tanto capturar a posibles propietarios que no pernoctan en sus cajas, como a individuos flotantes que prospectan cajas de otras aves.

El procesado de los individuos consiste en el marcaje con una anilla metálica de anillamiento científico (SEO-BIRDLIFE) con un número identificativo y el registro de una serie de variables morfométricas (peso y longitud de ala, tarso y pico) y comportamentales (tests de personalidad), coloración de pico e intensidad de moteado en el plumaje, así como la recolección de muestras de plumas y sangre.

Desde 2013 se marca a todos los adultos que se capturan con un transpondedor RFID (Figura 4) que se implanta subcutáneamente entre el cuello y la espalda del ave para su posterior seguimiento mediante la colocación de lectores y antenas en los nidos.



Figura 4: Transpondedor subcutáneo usado en esta Tesis.

Marcaje de pollos

Desde que eclosionan, todas las nidadas son objeto de un seguimiento básico para evaluar la supervivencia a los 6 y a los 14 días de vida. A dicha edad se les pesa, se les mide ala y tarso y se les toma una muestra de sangre para sexado genético. A cada pollo se le coloca una anilla numerada y se le coloca un transpondedor RFID igual que a los adultos. A día 18 los pollos ya están a punto de abandonar el nido, por lo que todos los

nidos reciben una última visita para registrar la supervivencia individual y para comprobar que no han perdido el transpondedor con el que fueron equipados.

Seguimiento mediante RFID

Para el marcaje e identificación de los individuos de la población se usan, como se ha indicado, sistemas de Identificación por radio frecuencia (RFID) de la marca Trovan ©. La mayoría de los individuos de nuestra población (>85%) está marcada con un transpondedor lo cual nos permite hacer un seguimiento de la actividad de las aves en los nidos. El sistema consta de una antena circular de cobre bobinado que se coloca en la entrada del nido y que emite un campo magnético que detecta cuando un chip lo atraviesa. El lector va conectado a la antena y registra cada vez que un ave marcada atraviesa la entrada del nido. El lector genera una hoja de datos, que se descarga mediante USB, con la ID del chip, la hora y la fecha de la detección. Este sistema es alimentado por una batería de 12V y 5 A que va conectada al lector. Los lectores se pueden programar para funcionar en un rango de horas concreto. También se puede modificar el tiempo de espera que realiza el lector desde que detecta un chip hasta que vuelve a estar disponible para leer otro chip. Esta función es muy útil para evitar registrar varias veces el mismo individuo si está parado en la entrada del nido.

Este sistema de lectura formado por la antena, el lector y la batería son móviles (Figura 5) y se van moviendo de unos nidos a otros para tomar datos en los nidos que nos interesen en cada momento. Una limitación del sistema es que las baterías solo permiten trabajar un tiempo limitado, normalmente unas 20 horas. Para evitar esta limitación se instalaron 30 estaciones constantes de seguimiento en 30 cajas nido repartidas por toda la zona de estudio al comienzo de la tesis. Estas cajas nido están equipadas con una antena y un lector que son alimentados mediante una batería mayor (27Ah) que se carga mediante un regulador de carga conectado a una placa solar de 10 W situada en la copa del árbol. Este sistema nos permite tener datos de la actividad de las aves en la caja nido a lo largo de todo el año, pudiendo modificarse la configuración del lector para adecuarla a los objetivos concretos de cada momento.



Figura 5: Sistema de lectura RFID formado por la antena de cobre acoplada a un doble frontal entrada del nido, el lector de Trovan © y una batería de 12 V.

Capítulo 1

Validación de tasas de cebas mediante grabaciones de identificación por radiofrecuencia (RFID) en el estornino negro (*Sturnus unicolor*)

Introducción

Uno de los grandes desafíos en la investigación del comportamiento animal es la necesidad de minimizar la interferencia del observador con el sujeto de estudio (Altmann, 1974; Bateson y Martin, 2021). Los animales pueden mostrar patrones de comportamiento inusuales o distorsionados en respuesta a la mera presencia del observador humano (Boyle y Samson, 1985; Burghardt *et al.*, 2012). En hábitats naturales, muchos animales podrían reaccionar ante los humanos de la misma manera que lo harían frente a un depredador (Nowak *et al.*, 2014), lo que podría llevar a distorsiones severas en las observaciones de comportamiento. Los investigadores han buscado desde siempre reducir este sesgo desarrollando técnicas que les permitan pasar desapercibidos mientras observan a los animales (Crofoot *et al.*, 2010). Uno de los primeros recursos utilizados en este tipo de estudios, especialmente al observar mamíferos o aves, es realizar observaciones desde escondites o “hides” (Lehner, 1998; Bateson y Martin, 2021). Este método requiere gran cuidado para asegurarse de que los animales no descubran al observador cuando entra en el escondite, y, de hecho, es difícil saber si los animales son completamente engañados por el escondite y si el comportamiento observado está o no influenciado por el observador (Crofoot *et al.*, 2010).

Un segundo recurso consiste en sustituir la presencia de observadores humanos por grabaciones de cámaras y videos para evitar influir en el comportamiento de los animales (Spruijt, Hol y Rousseau, 1992). Aunque esta metodología se ha utilizado durante mucho tiempo, la disponibilidad reciente de cámaras trampa económicas ha

ampliado nuestro conocimiento sobre animales elusivos, raramente vistos por observadores humanos (Wearn y Glover-Kapfer, 2019). En el caso de estudios de comportamiento, aunque los sistemas fotográficos permiten a los científicos obtener buenas secuencias de comportamiento sin interferencia humana, presentan limitaciones importantes de almacenamiento, batería y visualización que reducen su valor en estudios de campo. Por ejemplo, estos estudios requieren de un marcaje previo de los individuos con señales claramente visibles. Además, la identificación individual a menudo se ve afectada por condiciones de luz deficientes y un buen porcentaje de grabaciones deben descartarse en este tipo de estudios (Newey *et al.*, 2015).

El avance de la tecnología ha traído nuevas posibilidades al estudio del comportamiento animal. Los sistemas de telemetría y GPS, junto con la acelerometría, nos permiten conocer la ubicación exacta de los individuos e incluso el comportamiento que están realizando (Crofoot *et al.*, 2010; Hebblewhite y Haydon, 2010; Leos-Barajas *et al.*, 2017). Sin embargo, estos dispositivos presentan dos inconvenientes principales: en primer lugar, son bastante costosos y, por lo tanto, llevan a limitaciones en el tamaño de la muestra. En segundo lugar, estos dispositivos tienden a ser pesados debido al tamaño de la batería, lo que limita su uso con organismos pequeños (Vandenabeele *et al.*, 2014).

Una alternativa interesante y económica para varias aplicaciones son los transpondedores RFID, que pueden detectarse mediante el uso de un lector y una antena RFID (Griebeling *et al.*, 2022). Dado que estos transpondedores no tienen baterías, su peso es mínimo y pueden incluso ser transportadas por pequeños insectos (Nunes-Silva *et al.*, 2019). Los lectores RFID funcionan con una antena de cobre o aluminio enrollada que, en el caso de las aves, puede colocarse en la entrada del nido, comederos, posaderos o incluso dispositivos de pesaje (Aplin *et al.*, 2012; Hou, Verdirame y Welch Jr, 2015; Gomes *et al.*, 2022). Los transpondedores pueden implantarse bajo la piel o acoplarse a una anilla de plástico, y las evidencias muestran que su efecto en las aves es despreciable (Nicolaus, Bouwman y Dingemanse, 2008). Sin embargo, es más eficiente usar transpondedores implantados subcutáneamente que los adheridos a una anilla de plástico ya que éstos pueden generar datos incorrectos si el transpondedor atraviesa la antena en un ángulo no perpendicular (Iserbyt *et al.*, 2018). Una limitación adicional de

esta tecnología es que solo detecta a corta distancia, lo que requiere que las antenas se coloquen donde se espera que vayan las aves. Además, un problema crucial en este tipo de estudios es conocer el comportamiento que está realizando el animal: una detección de un transpondedor nos informa de que un ave determinada está presente, pero no de lo que está haciendo (Bonter y Bridge, 2011). Por esta razón, los datos deben validarse mediante observaciones directas o cámaras.

En estudios de cuidado parental en aves, una de las medidas clave es la tasa de cebas, es decir, el número de viajes de alimentación a los pollos por unidad de tiempo realizado por un progenitor (Martin *et al.*, 2000). En este caso, los investigadores suelen asumir que la cantidad de alimento traída en cada viaje es similar, y por tanto la tasa de cebas puede tomarse como una estimación de la inversión de cada pareja en la cría (MacColl y Hatchwell, 2003). Dado que los datos de este tipo a menudo involucran tamaños de muestra grandes, es lógicamente imposible medir visualmente las tasas de cebas durante largos períodos de observación estandarizando variables clave (por ejemplo, la edad de los pollos). Por este motivo, se suele recurrir a obtener datos durante solo unas pocas horas (Martin *et al.*, 2000; Veiga *et al.*, 2002), pero estos datos pueden ser demasiado ruidosos debido a la variación debida a la edad de los pollos, la hora del día, o las condiciones meteorológicas (Knapton, 1984). Esta es la razón por la cual los estudios que utilizan la tecnología RFID se han popularizado en los últimos años (Wilkin, King y Sheldon, 2009; García-Navas y Sanz, 2012). Sin embargo, a pesar de este amplio uso, pocos estudios realizan una verificación de que los datos de detección de transpondedores RFID sean equivalentes a las tasas de cebas (pero ver: Freitag, Martinoli y Urzelai, 2001; Wilkin, King y Sheldon, 2009; Iserbyt *et al.*, 2018).

El problema principal al cuantificar el número de visitas es que las visitas al nido tienen duraciones variables. Esto hace necesario un tiempo de corte para separar la detección de entrada y de salida del transpondedor. Por otro lado, las visitas muy rápidas pueden agruparse bajo la misma visita (Iserbyt *et al.*, 2018). Los investigadores han abordado este problema aplicando un punto de corte arbitrario para filtrar detecciones de transpondedores idénticos subsecuentes que se producen dentro de la misma visita (por ejemplo, Garcia-Navas, Ortego y Sanz, 2009). Otros estudios, sin embargo, han calculado con mayor precisión este punto de corte, midiendo la duración

precisa de las visitas y los intervalos entre visitas (Nomano *et al.*, 2014; Iserbyt *et al.*, 2018). Además, los machos y las hembras pueden pasar diferentes tiempos cebando a los pollos, y una estimación adecuada de las tasas de cebas puede requerir puntos de corte específicos por sexo. Un método más sofisticado se ha propuesto recientemente en herrerillos (*Cyanistes caeruleus*) (Iserbyt *et al.*, 2018) en el que se utilizaron grabaciones de video para establecer el punto de corte óptimo específico por sexo para minimizar errores.

En este estudio utilizamos una población de estornino negro (*Sturnus unicolor*) donde los adultos están marcados con transpondedores para comparar las estimaciones de la tasa de cebas utilizando lectores RFID y grabaciones de video simultáneas. Por un lado, estas grabaciones nos sirvieron para determinar las diferencias sexuales en el comportamiento parental a lo largo de la cría, que incluyen cebas, periodos de incubación de los pollos y tiempo de arreglo del nido. Por otro, utilizamos la información obtenida para comprobar cómo el número de detecciones basado en una variedad de tiempos de corte predice las tasas reales de ceba en machos y hembras, algo que constituye un paso previo y necesario para utilizar la tecnología RFID para evaluar el cuidado parental en esta especie.

Materiales y métodos

Realizamos este estudio en una población de 250 cajas nido ocupadas por estornino negro que ha sido monitorizada con tecnología RFID desde 2013 en un bosque mixto de fresno (*Fraxinus angustifolia*) y roble melojo (*Quercus pyrenaica*) en Soto del Real (Madrid, España). El estudio se llevó a cabo en abril-junio de 2019. Capturamos aves adultas y las marcamos -si no contaban ya con uno de capturas en años previos-- con un transpondedor y una anilla metálica al principio de la temporada. Las capturas se extendieron desde el inicio de la construcción del nido (28 de febrero) hasta el 16 de abril, momento en que el peso de las hembras superó los 90 g (indicativo de puesta inminente). A partir de ese momento, visitamos regularmente los nidos para determinar las fechas precisas de puesta y eclosión.

Equipamos 24 nidos con un sistema de doble monitoreo de video: cámaras de video colocadas en el interior del techo de la caja (Quelima SQ11), y cámaras externas

(GoPro HD Hero 1) colocadas en un lado de la caja, a unos 20 centímetros de la entrada de la misma. Colocamos cámaras de video falsas 3 días antes de la grabación para habituar a las aves a su presencia. Nuestro objetivo era grabar en video 24 nidos entre las 8 a. m. y las 11 a. m. durante sus primeras y segundas puestas. Sin embargo, una proporción de puestas suele fallar en las poblaciones de estorninos debido a la depredación o a sabotaje durante la incubación o la etapa de pollos. En el caso de las primeras puestas, las aves realizan una puesta de reposición dos o tres semanas después. Como resultado, nuestro tamaño de muestra final fue: 15 nidadas pertenecientes a las primeras puestas, 4 a las puestas de intermedias de reposición y 9 a segundas puestas. Realizamos las grabaciones con las cámaras en dos bloques de edad: 3 a 5 días y 8 a 10. Descartamos grabar a edades superiores porque a partir de los 15 días de edad los pollos -ya equipados con transpondedores- ocupan la entrada del nido y por tanto activan la antena, impidiendo registrar las cebas de los padres.

Debido a fallos mecánicos y logística del campo, la muestra final se redujo a 93 días de cría para videos externos y 94 días de cría para videos internos. La duración de las grabaciones varió debido a diferencias en la duración de las baterías, siendo las grabaciones del interior del nido más cortas (media = 75 min, SD = 35) que las del exterior (media = 369 min, SD = 208) grabándose un total de 7585 minutos para pollos de 3-5 días y 6498 minutos para pollos de 8-10 días.

Además de las grabaciones en video, colocamos un lector RFID (Trovan Ltd., Douglas, Reino Unido) oculto dentro de una caja de plástico atornillada al lado de la caja nido desde el comienzo de la temporada. Aunque elegimos nidos en los que ambos padres llevaran transpondedores antes del estudio, en algunas nidadas ocurrió un cambio de pareja que en algunos casos uno de los padres no tenía transpondedor (en 3 nidadas fue el macho y en una la hembra). En esos casos, utilizamos para el análisis sólo los datos del sexo que sí estaba marcado. La antena se colocó dentro de un doble frontal deslizante dentro de la caja, por lo que las detecciones se activaron cuando el animal entraba al menos hasta la base del cuello -que es donde se les coloca el transpondedor- dentro de la caja. Los lectores se configuraron con tiempo de espera entre detecciones de ocho segundos para evitar un exceso de detecciones repetidas. El archivo con los datos finales de RFID se recortó para que coincidiera con la extensión y duración de las

cámaras externas. La sincronización se logró insertando un transpondedor de control en el lector mientras se dictaba la hora exacta en el archivo de audio de las grabaciones en video.

La información de los videos internos se extrajo empleando un software de observación de video disponible en internet de forma gratuita (Solomon Coder, beta 19.08.02, <https://solomon.andraspeter.com>). Para cada entrada de un adulto, registramos la duración y codificamos el comportamiento del ave adulta (alimentación de los pollos, incubación de los pollos o arreglo del nido). El tiempo entre visitas se calculó como la diferencia de tiempo entre la salida de un ave dada y la siguiente entrada. A partir de estas grabaciones de video, se observaron un total de 753 visitas de adultos en las que se pudo identificar a uno de los padres. Identificamos a los adultos por el plumaje y, en caso de duda, se utilizó el archivo de detección RFID para establecer la identidad. Los videos externos también se monitorearon manualmente, pero, en este caso, solo se registró el número total de cebas (evidentes por la presencia de alimento en el pico del ave al llegar al nido) por parte de cada padre.

Análisis estadístico

Creamos gráficos de densidad para visualizar las duraciones de las visitas y los tiempos entre visitas, y calculamos los puntos de intersección entre ambos gráficos para establecer el punto de corte para minimizar los errores (Iserbyt et al., 2018). Luego, aplicamos estos puntos de corte a los datos de RFID y calculamos cómo predecían las tasas de cebas observadas para machos y hembras. Además, dado que en estudios anteriores aún inéditos en este sistema de estudio y basándonos en observaciones puntuales y siguiendo estudios previos (Johnsen *et al.*, 2005; Garcia-Navas, Ortego y Sanz, 2009) hemos utilizado un punto de corte arbitrario de ocho segundos, también determinamos la precisión de este punto de corte para predecir cebas reales.

Todos los análisis se realizaron en el lenguaje R v. 4.2.2 (R Core Team, 2020). Construimos modelos mixtos generalizados binomiales para analizar la ocurrencia de diferentes categorías de comportamiento durante las visitas al nido. La identidad de la puesta se usó como factor aleatorio, y el modelo inicial incluyó el sexo, la edad de los pollos, la ola de puesta (primeras, intermedias o segundas) e interacciones entre ellas.

Al analizar la relación entre las estimaciones de datos RFID y el número de visitas usamos modelos mixtos lineales donde las variables dependientes se transformaron mediante box-cox para mejorar el ajuste del modelo a las suposiciones de normalidad y heterocedasticidad (Sokal y Rohlf, 1995), que se verificaron utilizando el paquete DHARMa (Hartig y Lohse, 2022). Los modelos se simplificaron usando un proceso de pasos hacia atrás basado en la significación, comenzando por las interacciones no significativas.

Resultados

El análisis de las cámaras internas reveló tres comportamientos principales no excluyentes mientras los adultos visitaban el nido: alimentar a los pollos, incubar a los pollos y organizar el nido. La incubación y la organización del nido eran más frecuentemente realizadas por las hembras que por los machos (Tabla 1 y 2).

Actividad	Sexo	3 días	4 días	5 días	8 días	9 días	10 días
Alimentación de los pollos	HEMBRAS	79.7% (47/59)	66.7% (50/75)	73.5% (61/83)	90.7% (68/75)	88.5% (85/96)	89.3% (75/84)
	MACHOS	94.7% (36/38)	100% (67/67)	100% (67/67)	95.3% (41/43)	100% (57/57)	100% (33/33)
Incubación de los pollos	HEMBRAS	78% (46/59)	58.7% (44/75)	48.2% (40/83)	8% (6/75)	9.4% (9/96)	3.6% (3/84)
	MACHOS	34.2% (13/38)	10.4% (7/67)	10.4% (7/67)	2.3% (1/43)	0% (0/57)	3% (1/33)
Organización del nido	HEMBRAS	74.6% (44/59)	65.3% (49/75)	62.7% (52/83)	18.7% (14/75)	27.1% (26/96)	20.2% (17/84)
	MACHOS	23.7% (9/38)	13.4% (9/67)	13.4% (9/67)	2.3% (1/43)	1.8% (1/57)	3% (1/33)

Tabla 1: Proporción de visitas al nido realizadas por machos y hembras que involucran uno de los tres comportamientos detectados en el nido (alimentar a los pollos, incubar a los pollos y organizar material en el nido) en diferentes edades de los pollos.

A medida que los pollos aumentaban en edad, ambos padres disminuían de manera similar la proporción de visitas en las que realizaban la organización del nido y la incubación. Aunque la mayoría de las visitas implicaban alimentar a los pollos, las

hembras eran más propensas que los machos a realizar visitas sin cebar (Tabla 1 y 2). La proporción de visitas en las que no se alimentaba a ningún pollo disminuyó con la edad para ambos sexos. La ola de puesta no influyó en la ocurrencia de estas actividades (Tabla 2).

	Variables	Modelo inicial	Modelo final
Alimentación de los pollos	Edad	0.17 (0.05)**	0.17 (0.05)**
	Machos	3.75 (1.82)*	2.96 (0.48)***
	Ola de puesta	0.01 (0.23)	
	Edad*Machos	-0.03 (0.20)	
	Ola de puesta*Machos	-0.21 (0.52)	
Incubación de los pollos	Edad	-0.67 (0.05)	-0.65 (0.06)***
	Machos	-3.67 (0.90)	-2.34 (0.29)***
	Ola de puesta	-0.32 (0.23)	
	Edad*Machos	0.09 (0.16)	
	Ola de puesta*Machos	0.48 (0.29)	
Organización del nido	Edad	-0.39 (0.04)***	-0.39 (0.04)***
	Machos	-2.46 (0.78)**	-2.49 (0.26)***
	Ola de puesta	-0.27 (0.19)	
	Edad*Machos	-0.02 (0.11)	
	Ola de puesta*Machos	0.01 (0.28)	

Tabla 2: Resultados de los modelos mixtos generalizados binomiales que evalúan el efecto de la edad de los pollos, el sexo del adulto y la ola de puesta sobre ocurrencia de diferentes categorías de comportamiento durante las visitas al nido (alimentación de pollos, incubación de pollos y organización de material en el nido).

La duración de las visitas (media = 75.7 s, SD = 151) fue mucho menor que la de los tiempos entre visitas de la misma ave (media = 429 s, SD = 471), pero hubo grandes diferencias con respecto a la edad de los pollos y el sexo (Figura 1). Los machos visitaron los nidos durante un período más corto que las hembras, y las duraciones disminuyeron para ambos sexos a medida que la edad de los pollos aumentaba (Tabla 3). Paralelamente, los tiempos entre visitas aumentaron con la edad y los machos consistentemente espaciaron más las visitas que las hembras (Tabla 3). La ola de puesta no influyó en la duración de las visitas.

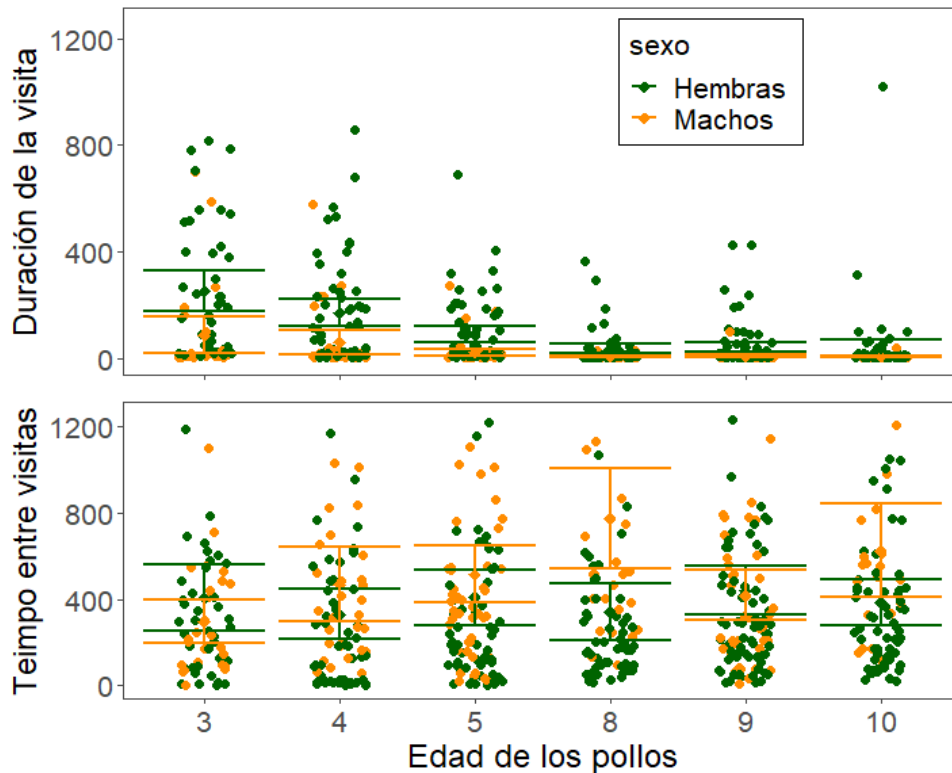


Figura 1: Duración de las visitas al nido en segundos (arriba) y tiempo entre visitas en segundos (abajo) para machos (naranja) y hembras (verde) a lo largo del período de cría según la edad de los pollos en días. Los datos representan puntos de datos reales para hembras y machos, y las barras muestran las medias y el intervalo de confianza (IC).

Dada la superposición entre las duraciones de las visitas y los tiempos entre visitas cuando los pollos tienen 3-4 días de edad, pero no cuando son mayores (Figura 2), podemos prever que un punto de corte entre detecciones consecutivas sería menos fiable en la primera edad que en la última. Por lo tanto, segmentamos los datos siguiendo esta división de edad (3-4 días vs. 5-10 días). Los gráficos de densidad de las dos categorías de edad (Figura 2) confirman la predicción. En el caso de los pollos de 5-10 días, hay poca superposición entre las funciones de densidad de las duraciones de las visitas y los períodos entre visitas, lo que permite puntos de corte específicos por sexo (machos = 37 s, hembras = 64 s). Sin embargo, en el caso de los pollos de 3-4 días, la superposición para las hembras es muy grande, no tanto en el caso de los machos (machos = 43 s, hembras = 294 s).

	Variables	Modelo inicial	Modelo final
Duración visitas al nido	Edad	-0.13 (0.02)***	-0.12 (0.01)***
	Machos	-0.42 (0.08)***	-0.42 (0.03)***
	Ola de puesta	-0.0008 (0.05)	
	Edad*Machos	-0.0003 (0.02)	
	Edad*Ola de puesta	0.003 (0.01)	
Duración del periodo entre visitas	Edad	0.29 (0.30)	0.31 (0.10)***
	Machos	1.41 (0.94)	1.75 (0.37)***
	Ola de puesta	0.27 (0.48)	
	Edad*Machos	0.12 (0.24)	
	Edad*Ola de puesta	-0.01 (0.12)	

Tabla 3: Resultados de los modelos mixtos generales sobre la duración de las visitas al nido y los intervalos entre visitas. Las duraciones fueron transformadas mediante box-cox (duración del nido $\lambda = -0.38$; período entre visitas $\lambda = 0.23$).

Utilizamos los puntos de corte calculados anteriormente para las detecciones de los datos de RFID y probamos cómo las estimaciones de estos datos predecían las observaciones reales para las dos categorías de edad (Tabla 4). Apreciamos una correlación mucho mayor en las edades de 5-10, con coeficientes de determinación más altos para los machos (96%) que para las hembras (80%). Hay un número relativamente alto de falsos negativos (visitas reales que se filtran por tener una duración muy corta) en el caso de las hembras, incluso para esta clase de edad, debido a que la alta heterogeneidad en las duraciones hace que el punto de corte sea muy alto forzado por las visitas de larga duración (Fig. 2d).

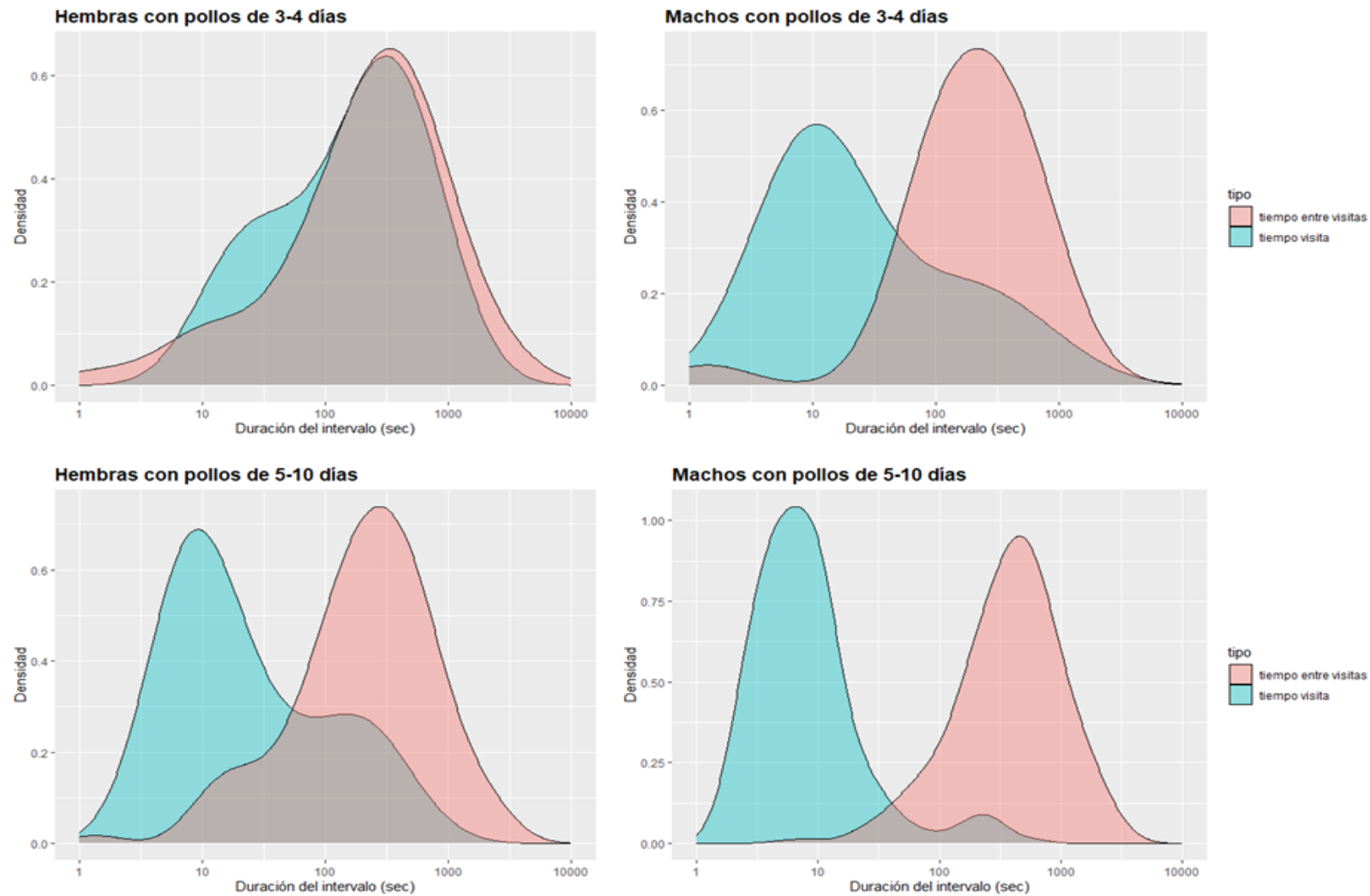


Figura 2: Gráficos de densidad para la duración de las visitas al nido y los períodos entre visitas para machos y hembras en las dos categorías de edad diferentes: 3-4 días y 5-10 días de edad.

	3-4 días de edad		5-10 días de edad	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Asignaciones correctas	72% (97/134)	77% (62/81)	80% (272/338)	96% (192/200)
Falsos negativos	28% (37/134)	23% (19/81)	20% (66/338)	4% (8/200)
Falsos positivos	41% (56/134)	1% (1/56)	10% (35/338)	3% (5/200)

Tabla 4: Proporción de asignaciones correctas y falsos negativos de las detecciones del inicio de las visitas basadas en los puntos de corte estimados para las dos clases de edad. En el caso de los falsos positivos, las tasas se calculan en el conjunto de períodos entre visitas que se confunden como visitas.

La relación entre las visitas reales y las visitas estimadas por RFID después de aplicar los respectivos puntos de corte fue más fuerte para los pollos de 5-10 que para los de 3-4 días de edad (Tabla 5, Figura 3). Las visitas de los machos fueron relativamente bien predichas por el sistema RFID en ambos casos ($r^2 > 0.88$), pero las visitas de las hembras mostraron una baja correspondencia con los datos de observaciones directas por video a los 3-4 días de edad ($r^2 = 0.22$). En cambio, las hembras a la edad de 5-10 días de las crías alcanzaron mejores estimaciones ($r^2 = 0.79$). Las estimaciones de la paridad fueron bien predichas en ambas clases de edad (Tabla 5, Figura 3). Dado que los datos de las grabaciones se transformaron mediante box-cox, las pendientes son mucho más pequeñas que 1; sin embargo, es evidente a partir de los gráficos (Figura 3) que hay una relación cercana a 1:1 entre los valores predichos y observados.

También examinamos la fiabilidad de un punto de corte de ocho segundos (utilizado en estudios anteriores en este sistema: Bizberg et al. in prep) para del conjunto de todas las edades de los pollos, como se hizo en el citado trabajo. Descubrimos que esta aproximación también proporcionaba buenas estimaciones de las cebas reales, con una precisión sólo ligeramente menor que las elegidas anteriormente utilizando el método del gráfico de densidad. La confiabilidad fue alta tanto para las tasas de ceba de las hembras ($r^2 = 0.79$) como para las de los machos ($r^2 = 0.73$).

	Sexo	Cox-Box λ	Punto de corte	Estimador	N	r^2
3-4 días de edad	Hembras	0.47	294	0.28 (0.10)*	28	0.22
	Machos	0.35	43	0.87 (0.04)***	28	0.88
	Paridad	1.21	ver arriba	0.73 (0.09)***	26	0.68
8-10 días de edad	Hembras	0.72	64	0.43 (0.02)***	61	0.79
	Machos	0.39	37	0.17 (0.01)***	61	0.91
	Paridad	0.75	ver arriba	0.97 (0.07)***	57	0.78

Tabla 5: Resultados de los modelos mixtos separados que comparan cómo el número real de cebas observadas (transformadas mediante Box-Cox siguiendo los valores de λ mostrados), fue predicho por las estimaciones de los datos de RFID siguiendo los puntos de corte específicos por edad, para cada sexo por separado y para la paridad (visitas de machos/visitas de machos+hembras). Los valores de r^2 representan estimaciones marginales para la variable de interés, no el modelo completo. Hay que considerar que las pendientes se relacionan con datos transformados; los datos directos en la Figura 3 muestran que hay una correspondencia directa muy ajustada entre los datos de las grabaciones en vídeo y lo estimado a partir de las detecciones RFID.

Discusión

La necesidad de obtener datos objetivos y precisos sobre el comportamiento parental en las aves ha impulsado el uso de tecnologías de seguimiento y recopilación de datos a distancia. Entre estas, el uso de sensores RFID se ha aplicado especialmente en los estudios de cuidado parental, aunque no muchos estudios han validado su efectividad y las potenciales fuentes de error (García-Navas, Ortego y Sanz, 2009; Zárybnická *et al.*, 2016; Iserbyt *et al.*, 2018). En este estudio, nuestro objetivo fue validar este método para el caso específico del estornino negro.

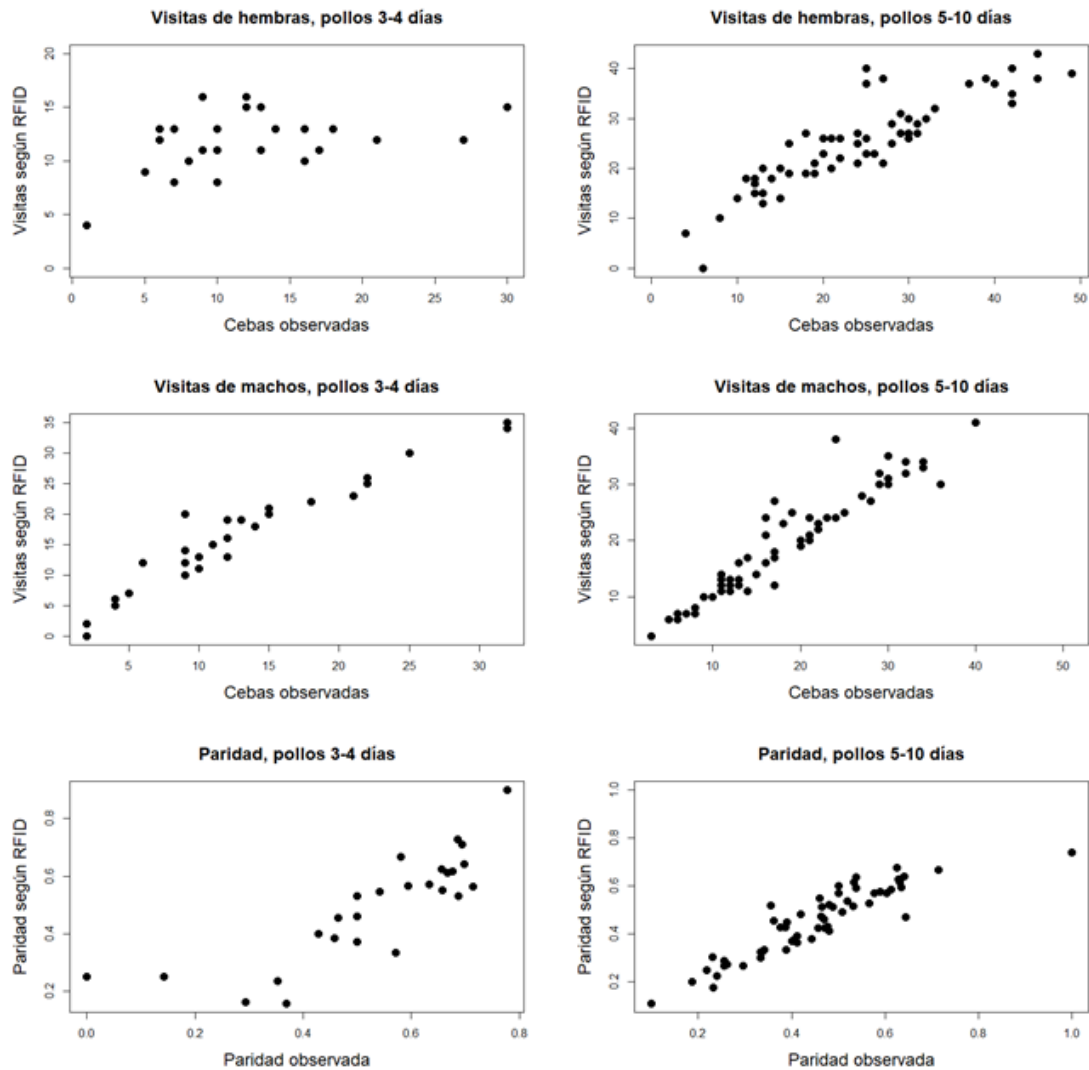


Figura 3: Relación entre el número de cebas obtenido a partir de grabaciones en video y el número estimado de cebas utilizando datos de RFID para las hembras (primera fila) y los machos (segunda fila) y aplicando los respectivos puntos de corte para pollos de 3-4 días (primera columna) y pollos de 5-10 días (segunda columna). La tercera fila muestra gráficos de la misma relación (observado vs. estimado) para la paridad (cebas de machos/suma de cebas de machos y hembras).

El problema principal que enfrentamos es la determinación del número real de visitas, dado que las detecciones de RFID suelen ser mayores que las visitas reales debido a que el intervalo de funcionamiento del detector es menor que la duración de una visita. Eso hace que haya detecciones múltiples para una sola visita de un ave. Encontramos que el uso de observaciones en video para estimar gráficos de densidad de la duración de las visitas y los intervalos entre visitas es una manera objetiva de

establecer un punto de corte óptimo (Iserbyt *et al.*, 2018). Sin embargo, detectamos varias fuentes de heterogeneidad en los datos que limitaron el uso de un punto de corte general.

Una primera fuente de heterogeneidad para establecer un punto de corte general fue el sexo de los padres. Las hembras pasaban más tiempo por visita y, por el contrario, tenían períodos entre visitas más cortos. Por lo tanto, tuvimos que implementar un punto de corte específico por sexo, a diferencia de un estudio anterior con herrerillos en el que ambos sexos mostraron tiempos similares (Iserbyt *et al.*, 2018). Además, el comportamiento de cada sexo en la caja era diferente. Las hembras eran más propensas a incubar u organizar material en el nido, y más propensas a hacer visitas para incubar o arreglar el nido que los machos. Esta diferencia en roles es una complicación adicional para el establecimiento de puntos de corte específicos por sexo. Una tasa más alta de falsos negativos en las hembras que en los machos podría explicarse por una mayor variabilidad en la duración de las visitas: aunque algunas fueron más largas que las de los machos, este no siempre fue el caso, y nuestros datos muestran que algunas visitas cortas no fueron registradas por el sistema RFID.

Una segunda fuente de heterogeneidad fue la edad de los pollos. Esto se debe a que las necesidades de los pollos varían con su desarrollo. Una diferencia importante es que, en las edades tempranas, los pollos requieren incubación frecuente porque aún no son capaces de regular su temperatura (Clark, 1985). Además, dado que los pollos pequeños no demandan tanto alimento como lo hacen en edades posteriores, un porcentaje considerable de las visitas parentales es solo para proporcionar calor y no para alimentar. En pollos jóvenes (< 5 días de edad), las diferencias de comportamiento entre los sexos se incrementaron y las hembras pasaban mucho tiempo en cada visita, incubando y organizando el nido. Esto condujo a una baja fiabilidad de las lecturas de RFID para las hembras cuando los pollos eran jóvenes. En cambio, la relación entre visitas y las estimaciones de RFID en el caso de los machos eran más altas y comparables entre distintas edades.

A pesar de estas fuentes de heterogeneidad, los datos de RFID proporcionaron datos fiables para evaluar el cuidado parental masculino y femenino en esta especie cuando los pollos tenían entre 5 y 10 días de edad ($r^2 > 0.79$), una vez que son capaces

de regular su temperatura (Ricklefs, 1979). No tenemos motivo para creer que el mismo patrón no sería aplicable a pollos más grandes, al menos hasta los 15 días. A partir de esa edad hemos observado que los pollos son frecuentemente alimentados en la entrada del nido, bloqueando así la entrada y detección de los padres (Capítulo 3). Las observaciones del comportamiento parental cuando los pollos tenían más de 15 días (no mostradas aquí) mostraron que la competencia por obtener la comida que traen los padres los lleva a ocupar la entrada del nido para interceptar las cebas antes de que los padres entren al nido, como se ha mostrado en estudios anteriores (Alex Kacelnik *et al.*, 1995). Los datos de RFID en este rango de edades no serán fiables para estimar la tasa de cebas en ambos sexos.

Aunque las correlaciones entre detecciones RFID y cebas siguen el mismo patrón en ambos sexos, los machos tienen un ajuste mejor que las hembras. El estornino negro muestra cuidado biparental (Moreno *et al.*, 1999; Veiga *et al.*, 2002; García-Vigón, Veiga y Cordero, 2009), pero al realizar las hembras una mayor contribución a la ceba de los pollos que los machos (la paridad en la Fig. 3 está claramente sesgada hacia las hembras), la contribución de estos últimos es principalmente de visitas de alimentación, aunque también se ha encontrado que incuban en la especie hermana, el estornino pinto (*Sturnus vulgaris*) (Reid, Monaghan y Ruxton, 2002).

Los datos muestran que la tecnología RFID es una buena opción para estudiar el cuidado parental en las aves siempre que se utilice en una etapa específica del desarrollo de los pollos. Elegimos dos opciones simultáneas para minimizar los errores. En primer lugar, el lector se configuró con un punto de corte preestablecido de ocho segundos para evitar la sobrecarga de memoria, eliminando las lecturas repetidas consecutivas. En segundo lugar, el uso de puntos de corte específicos por sexo condujo a una precisión adicional para medir las tasas de cebas.

Capítulo 2

Estudio de la tasa de cebas en el estornino negro mediante el uso de RFID

Introducción

El cuidado parental engloba cualquier acción por parte de los padres que promueva la supervivencia de la próxima generación y suele conllevar un coste por parte de los progenitores (Gross, 2005; Smiseth, Kölliker y Royle, 2013), dando lugar al conflicto parental, uno de los conceptos principales de la teoría de vida (Stearns, 1992). El cuidado parental engloba una gran variedad de comportamientos desde la construcción del nido, pasando por el cuidado de los huevos y la posterior alimentación de los pollos hasta que la descendencia se independiza. El fin último de la reproducción es transmitir el material genético propio a la descendencia por lo que cualquier cuidado parental que aumente las probabilidades de hacerlo será seleccionado positivamente por la evolución (Trivers, 1972), pero la reproducción tiene ciertos costes para los progenitores.

El cuidado parental no siempre se reparte de manera equitativa entre los sexos en los diferentes taxones animales. Según Gross (2005), en el caso de los mamíferos, el 90% de las familias presentan cuidado parental solo por parte de la hembra y el resto cuidado biparental, pero no hay casos en las que el cuidado sea exclusivo de los machos. En el lado opuesto están los peces, donde en alrededor del 50% de las familias es el macho quien se encarga del cuidado de la descendencia. En el caso de las aves, predomina el cuidado biparental (90% de las familias) (Cockburn, 2006).

El conflicto entre sexos comienza incluso antes de la reproducción. El costoso cuidado parental lleva a diferencias sexuales en el balance entre lo que se invierte y lo que se gana (transmitir su ADN a la descendencia) y esas diferencias ya empiezan con la producción de los gametos. La diferencia en el tamaño y cantidad de gametos

(anisogamia) para cada sexo es la primera diferencia en inversión de los padres (Kokko y Jennions, 2013). A partir de aquí, todo cuenta en la balanza de costes/beneficios y hay muchas circunstancias que lo condicionan. Por ejemplo, la certeza de paternidad o las posibilidades de supervivencia de la prole puede modular la inversión de los progenitores (Møller y Birkhead, 1993; Sheldon, Räsänen y Dias, 1997). Si el fin último de la reproducción de un individuo es transmitir sus genes, el no saber con certeza si esa descendencia es propia, hace que las probabilidades de obtener este beneficio disminuyan. Esta modulación del esfuerzo reproductor puede responder también a la competencia espermática, que ha hecho evolucionar comportamientos como la guarda de la hembra para evitar cópulas extra pareja y asegurarse el macho de fecundar a la hembra. El sistema de emparejamiento también influye en la inversión de los machos. En las especies monógamas los machos se implican más en la crianza de la descendencia que en las especies con cierto grado de poliginia (Moreno *et al.*, 1999).

Esta asimetría en la aportación por parte de cada sexo da lugar a un conflicto sexual. En muchos casos, los machos suelen participar menos en la crianza de los pollos y suelen buscar atraer otras hembras o aumentar sus posibilidades de sobrevivir para la temporada siguiente (Trivers, 1972; Royle, Hartley y Parker, 2002), y en estos casos las hembras suelen cargar con la mayor parte de la crianza de los pollos. En casos así, en los que el macho no aporta demasiado las hembras pueden llegar a compensar e invertir más (Houston, Székely y McNamara, 2005; Hinde, 2006).

En las especies con desarrollo altricial, los pollos no son capaces de valerse por sí mismos nada más nacer, necesitan recibir calor y comida por parte de los progenitores hasta poder ser independientes. En estas especies, una de las variables del comportamiento que mejor refleja la inversión parental por parte de los padres es la tasa de cebas, es decir el número de visitas al nido con comida que realizan los padres para alimentar a los pollos por unidad de tiempo. Éste es el caso de nuestra especie de estudio, el estornino negro. El estornino es una especie monógama, pero con un grado variable de poliginia (Veiga *et al.*, 2002; Celis, Graves y Gil, 2021). El hecho de ser una especie facultativamente polígama hace que los machos intenten atraer a más hembras lo que conduce a menudo a una disminución en su inversión en la puesta con la primera

hembra y puede provocar deserciones (Trivers, 1972; Royle, Hartley y Parker, 2002; Gross, 2005).

En este caso, se trata de una especie que realiza dos puestas seguidas. Existe información previa que muestra que la inversión pasada puede afectar a la inversión de la siguiente puesta (Gross, 2005). Por otro lado, dado que las condiciones ambientales en las primeras y las segundas puestas son muy distintas (Ver materiales y métodos generales), el coste requerido en segundas es previsiblemente mayor. Si se añade el costo de haber realizado una primera puesta las peores condiciones de las segundas puestas, se explica el hecho de que estas segundas tengan en general un menor éxito reproductor que las primeras y las intermedias de reposición, y probablemente unas perspectivas de supervivencia menores.

El objetivo de este capítulo es, mediante el uso de tecnología RFID, calcular la tasa de cebas para machos y hembras por separado y determinar cómo varía en función de la edad de los pollos y de la hora del día. Esperamos por otro lado que las diferencias en cuidado parental se vean afectadas por la puesta, y que los machos inviertan menos en segundas puestas que en las previas.

Materiales y métodos

Para este capítulo hemos trabajado con la misma población de estornino negro y la misma metodología de marcaje y seguimiento descrita en los materiales y métodos generales. Basándonos en los resultados del primer capítulo en los que comprobamos que la tecnología RFID es útil y fiable para calcular la tasa de cebas, hemos usado la metodología establecida en ese capítulo para aplicarla a datos tomados durante toda la estación reproductora y realizar dos análisis: el efecto de la edad de los pollos en la tasa de cebas, y el análisis circadiano (variación de la tasa de cebas a lo largo del día).

Edad de los pollos

Para esta parte del análisis se usaron datos de lecturas de puestas de los años 2018, 2019 y 2020 en los que el macho y la hembra estuvieran marcados con transpondedores y tuvieran datos desde el día 1 de edad de los pollos hasta día 15 entre las 7:00 am y las 14:00 pm horas de cada día. Siguiendo los resultados del primer capítulo se filtraron las lecturas cada 37 segundos para los machos y a 64 para las hembras con el fin de obtener

el mejor ajuste de los datos para la tasa de cebas. En todos los casos se trabajó con parejas de aves monógamas, o al menos en las que los machos no mostraban evidencia de tener otra puesta simultánea en otras cajas nido.

Se realizó el análisis estadístico en el lenguaje R v. 4.2.2 (R Core Team, 2020) usando el paquete glmmTMB (Magnusson *et al.*, 2017). Debido a la distribución de los datos, se realizaron tres modelos lineales generalizados mixtos, uno para cada ola de puesta, usando como variable dependiente la tasa de cebas y como independiente la edad de los pollos, como covariable el sexo y el número de pollos y por último como factor aleatorio el nido. Los datos para las tres puestas se ajustaron a una binomial negativa.

Análisis circadiano

En esta parte se utilizaron nidos con pareja controlada en 2018, 2019 y 2020 en los que se dispusiera de al menos tres días seguidos de datos para seleccionar el día central desde las 7:00 am hasta las 20:00 horas. Las edades seleccionadas de los pollos fueron entre día 8 y día 14, siguiendo los resultados del primer capítulo. Al igual que en el análisis anterior las lecturas también fueron filtradas cada 37 segundos para los machos y 64 segundos para las hembras.

En este caso al haber varias horas del día en las que no se registraba ninguna visita al nido por parte de alguno de los progenitores provocó que hubiera una gran cantidad de ceros en los datos. Por ello, para los modelos se usó una distribución binomial negativa “zero-inflated”. Usando el paquete glmmTMB se realizó un modelo lineal generalizado mixto para cada puesta, usando como variable dependiente el número de visitas al nido para cebar en función de la hora del día, añadiendo la hora de forma cuadrática en los modelos, ya que esperábamos un patrón de variación complejo, y como covariable el sexo, el número de pollos y por último como factor aleatorio el nido. Los modelos se simplificaron retirando las variables no significativas, que resultaron ser el número de pollos en todos los análisis y la hora cuadrática en el caso de las segundas puestas.

Resultados

Edad de los pollos

En total se analizaron 49 nidos, 28 de primeras puestas, 10 de intermedias y 11 de segundas puestas. En todos los casos las hembras cebaron de media más que los machos (Fig. 1).

Para las tres olas de puesta encontramos los mismos resultados principales. Las hembras ceban significativamente más que los machos en todas las olas de puesta, acentuándose esta diferencia en las segundas (tablas 1-3 y figuras 2-4). Por otro lado, en todas las puestas el número de cebas de ambos sexos sigue un patrón cuadrático respecto a la edad de los pollos, alcanzando un máximo entre los días 8 y 10, y disminuyendo después. En las puestas segundas e intermedias, pero no en las primeras, aumenta significativamente las cebas de los padres al aumentar el número de pollos en el nido. Sin embargo, la interacción negativa del sexo con el número de pollos en intermedias como en segundas, indica que el efecto del número de pollos en la tasa de cebas de las hembras es menor. Los machos parecen modular en mayor medida que las hembras su esfuerzo en estas puestas en función del número de pollos.

	Estimador	Error estándar	z valor	Pr(> z)
(Intercepto)	3.072	0.091	33.940	< 0.001 ***
Día de lectura	0.153	0.016	9.740	< 0.001 ***
Día de lectura^2	-0.009	0.001	-9.390	< 0.001 ***
Hembras	0.131	0.029	4.500	< 0.001 ***

Tabla 1: Resultado del modelo de las cebas totales por día en función del día de lectura (edad de los pollos) para primeras puestas.

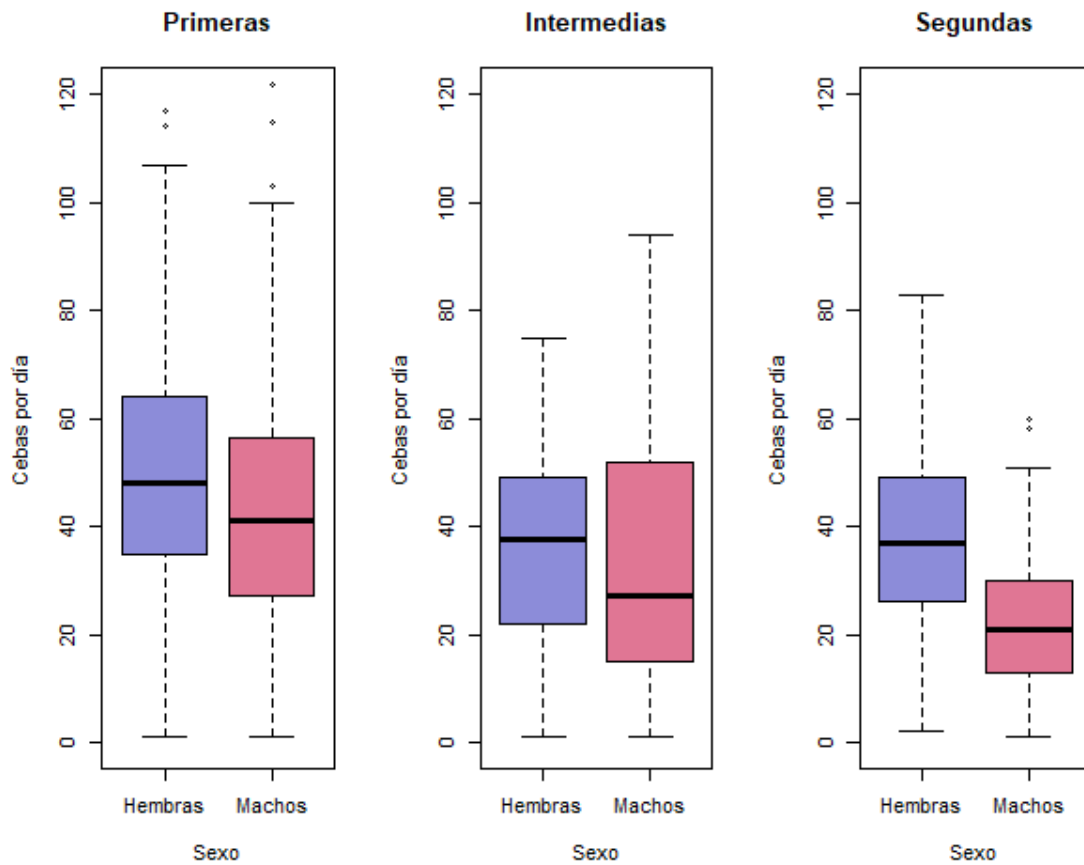


Figura 1: Representación de las cebas totales por día para machos y hembras en primeras puestas, intermedias y segundas medidas entre día 1 y día 15 de edad de los pollos.

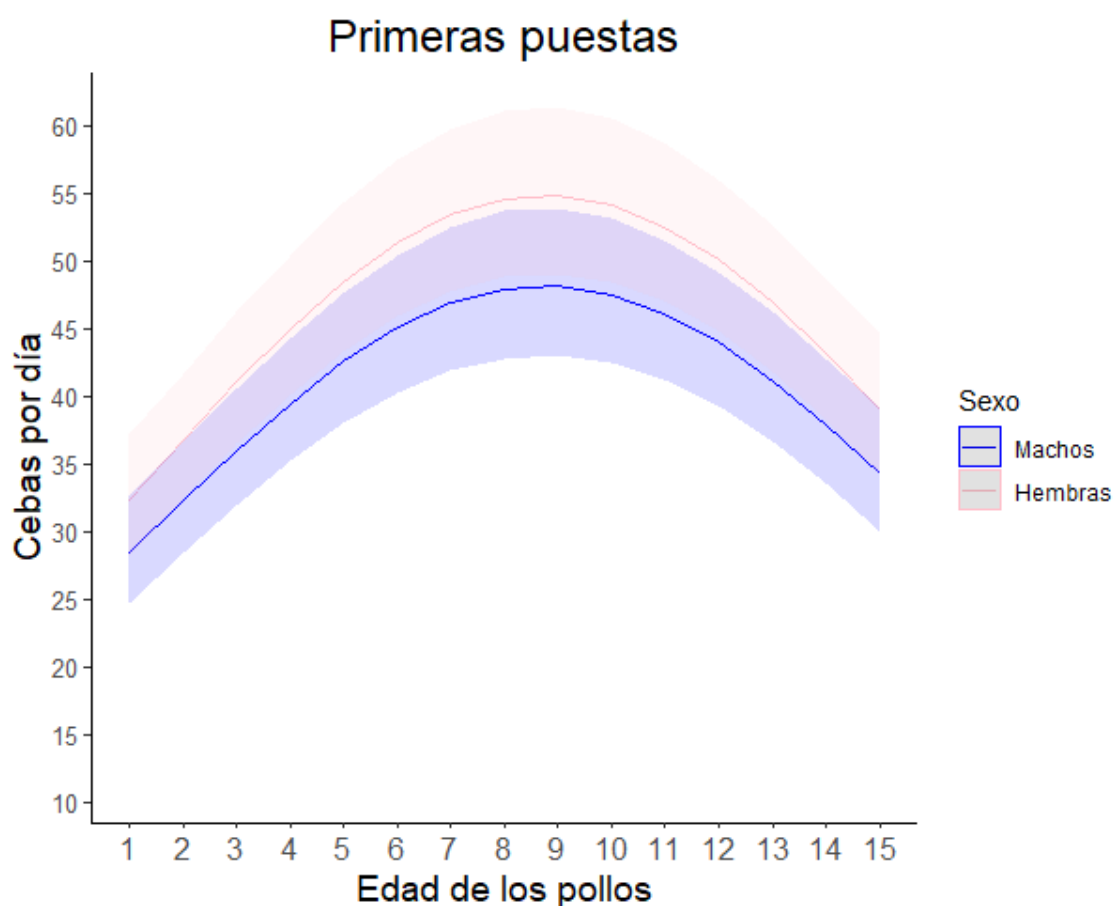


Figura 2: Representación gráfica de los resultados predichos por el modelo de las cebas por día en función de la edad de los pollos en primeras puestas.

	Estimador	Error estándar	z valor	Pr(> z)
(Intercepto)	2.758	0.205	13.459	< 0.001 ***
Día de lectura	0.139	0.029	4.751	< 0.001 ***
Día de lectura^2	-0.009	0.002	-5.084	< 0.001 ***
Hembras	0.207	0.059	3.501	< 0.001 ***
Nº de pollos	0.584	0.172	3.406	< 0.001 ***
sexo:Nº de pollos	-0.236	0.070	-3.353	< 0.001 ***

Tabla 2: Resultado del modelo de las cebas totales por día en función del día de lectura (edad de los pollos) para puestas intermedias.

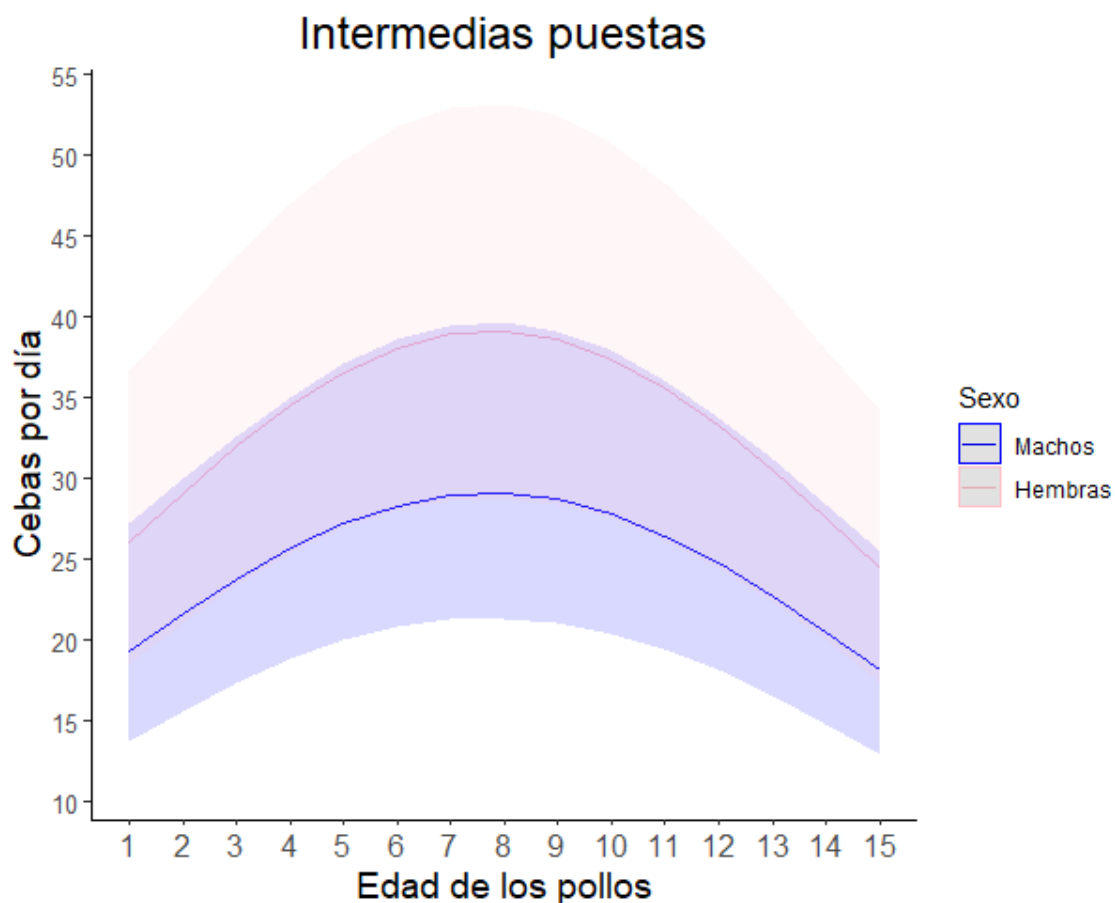


Figura 3: Representación gráfica de los resultados predichos por el modelo de las cebas por día en función de la edad de los pollos en puestas intermedias.

	Estimador	Error estándar	z valor	Pr(> z)
(Intercepto)	2.595	0.144	18.023	< 0.001 ***
Día de lectura	0.088	0.026	3.335	< 0.001 ***
Día de lectura^2	-0.006	0.002	-3.800	< 0.001 ***
Hembras	0.428	0.059	7.311	< 0.001 ***
Nº de pollos	0.381	0.112	3.395	< 0.001 ***
Sexo:Nº de pollos	-0.151	0.057	-2.631	0.009 **

Tabla 3: Resultado del modelo de las cebas totales por día en función del día de lectura (edad de los pollos) para segundas puestas.

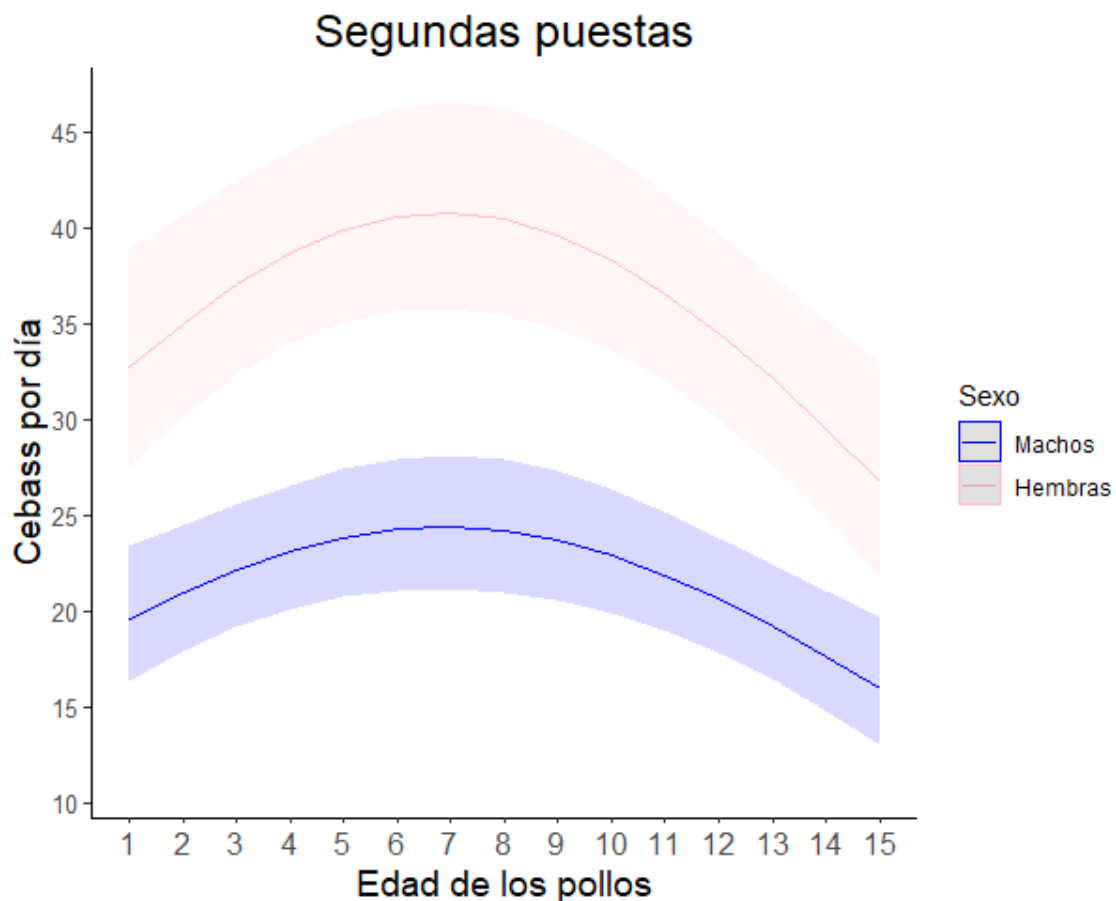


Figura 4: Representación gráfica de los resultados predichos por el modelo de las cebas por día en función de la edad de los pollos en segundas puestas.

Análisis circadiano

En total se analizaron 157 nidos repartidos en 63 de primeras puestas, 42 de intermedias y 52 de segundas. De forma similar al análisis anterior, se repite el patrón de que en las tres olas de puesta las hembras cebaron significativamente más que los machos (Tabla 4, 5 y 6)

Según los modelos de cebas por hora de primeras puestas e intermedias, las cebas siguen un patrón cuadrático negativo para ambos sexos, donde el máximo de cebas se produce a primera hora de la mañana (7:00 AM) y a partir de ahí descienden de forma cuadrática, es decir suavizándose el descenso a media mañana hasta existir un pequeño patrón ascendente a lo largo del día, que no llega de nuevo a los máximos de la mañana (Tabla 4-5 y Fig. 5-6).

	Estimador	Error estándar	z valor	Pr(> z)
(Intercept)	3.373	0.120	28.090	< 0.001 ***
Hora	-0.261	0.019	-13.510	< 0.001 ***
Hora^2	0.009	0.001	11.540	< 0.001 ***
Hembras	0.426	0.021	20.650	< 0.001 ***

Tabla 4: Resultados del modelo de la tasa de cebas por hora en función de la hora del día y del sexo para primeras puestas.

Primeras puestas

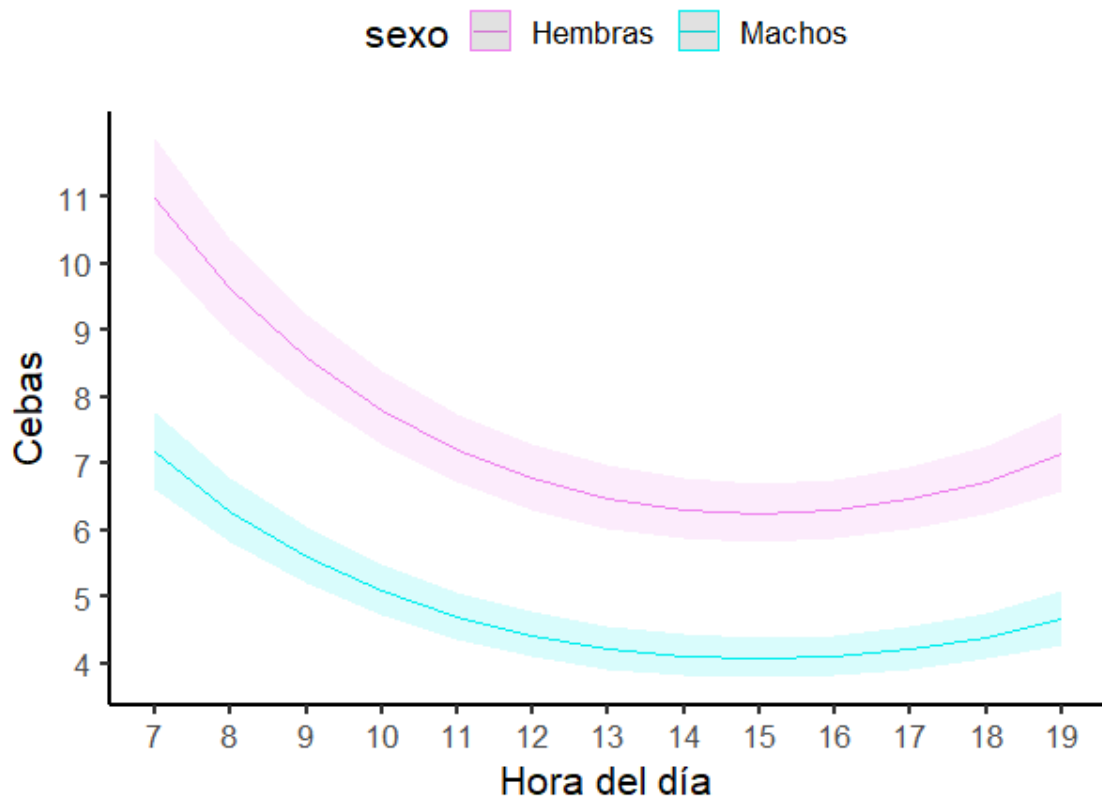


Figura 5: Representación gráfica de los resultados predichos del modelo para la tasa de cebas por hora en función de la hora del día y del sexo para primeras puestas.

	Estimador	Error estándar	z valor	Pr(> z)
(Intercepto)	3.132	0.149	21.028	< 0.001 ***
Hora	-0.217	0.024	-9.016	< 0.001 ***
Hora^2	0.007	0.001	7.418	< 0.001 ***
Hembras	0.450	0.026	17.313	< 0.001 ***

Tabla 5: Resultados del modelo de la tasa de cebas por hora en función de la hora del día y del sexo para puestas intermedias.

Intermedias

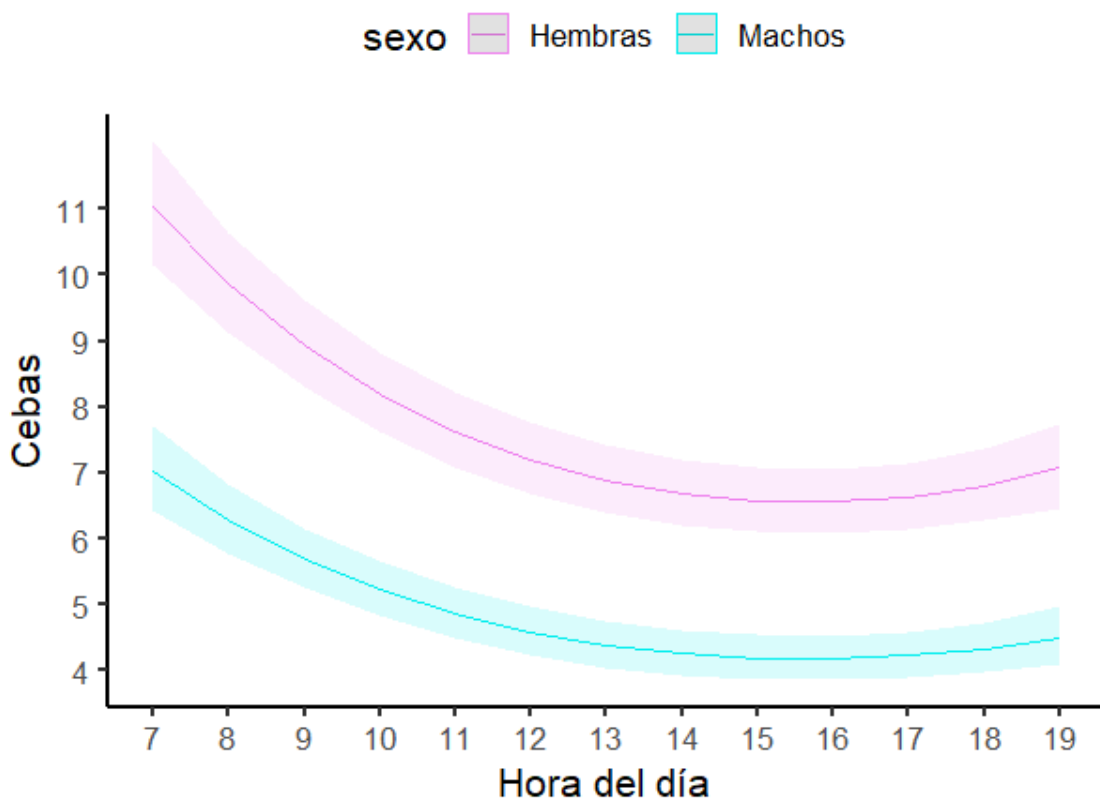


Figura 6: Representación gráfica de los resultados predichos del modelo para la tasa de cebas por hora en función de la hora del día y del sexo para puestas intermedias.

Por último, en el caso de las segundas puestas el patrón cambia. En segundas puestas las cebas siguen un patrón lineal descendente que se prolonga todo el día hasta darse los niveles más bajos al final de la tarde. Las diferencias entre los sexos se acentúan respecto a las puestas anteriores, cebando las hembras mucho más que los machos. (Tabla 6 y Fig. 7)

	Estimador	Error estándar	z valor	Pr(> z)
(Intercepto)	1.594	0.074	21.450	< 0.001 ***
Hora	-0.059	0.005	-13.070	< 0.001 ***
Hembras	0.660	0.039	16.910	< 0.001 ***

Tabla 6: Resultados del modelo de la tasa de cebas por hora en función de la hora del día y del sexo para segundas puestas.

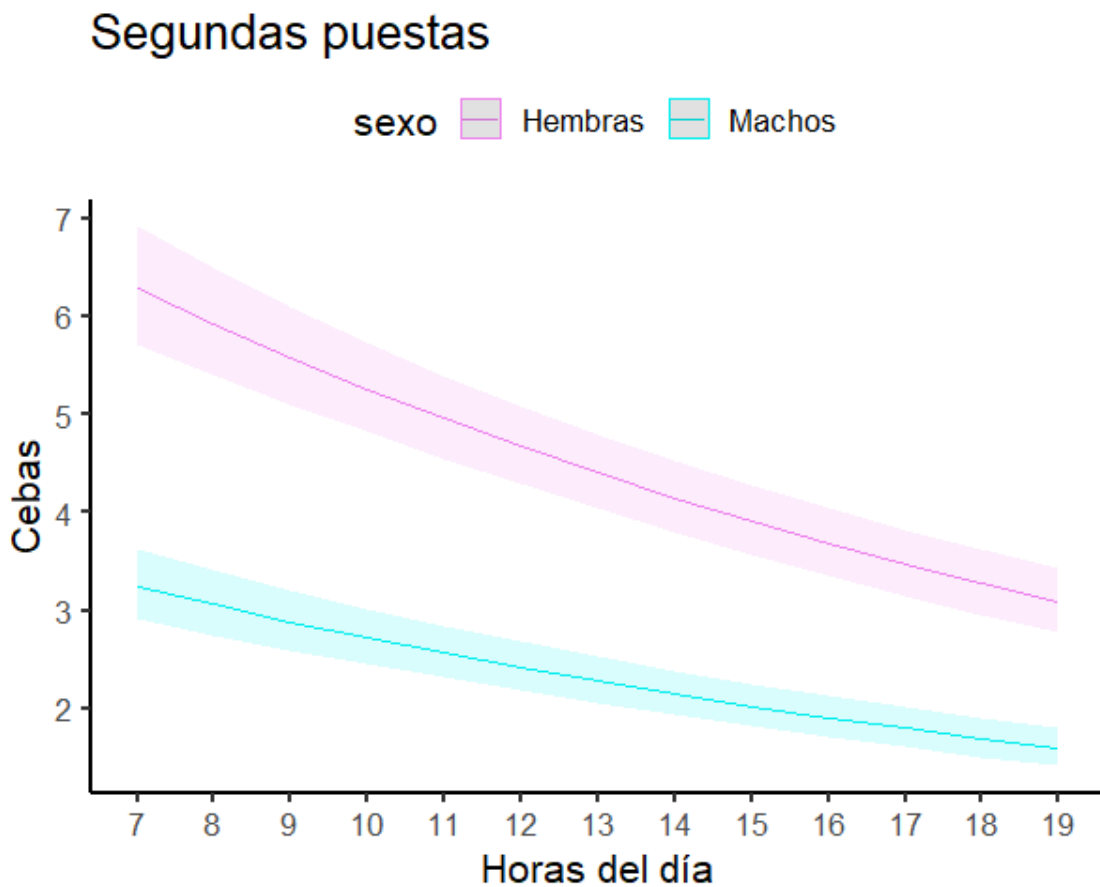


Figura 7: Representación gráfica de los resultados predichos del modelo para la tasa de cebas por hora en función de la hora del día y del sexo para segundas puestas.

Discusión

El conflicto entre sexos lleva a diferencias en la inversión de machos y hembras en la reproducción, que se explican por las diferentes oportunidades que tiene cada sexo para alcanzar un mismo éxito reproductivo a lo largo de su vida (Houston, Székely y

McNamara, 2005; Velando, 2013). Un primer resultado de este estudio fue la constatación de que, en esta especie, facultativamente polígama, la tasa de cebas de los machos era sensiblemente menor a la de las hembras. Es de destacar el hecho de que los machos estudiados eran monógamos, lo que descarta que estuvieran realizando esfuerzos parentales en otros nidos simultáneos. En el caso de una especie dimórfica como el estornino, es de esperar que la diferencia de tamaño se deba a que haya habido una importante selección para el tamaño en machos dentro del contexto de la competición por un lugar de nidificación (Owens y Hartley, 1998; Veiga, Polo y Viñuela, 2006; Mainwaring y Hartley, 2013). Esa necesidad de defensa podría justificar la diferencia en el número de cebas, ya que es posible que el éxito reproductivo en machos requiera una defensa del lugar de nidificación, no sólo al comienzo de la temporada sino todo el año, dado el elevado número de flotantes (capítulo 4). Es difícil medir esta posible contribución paternal, pero es esperable que el macho dedique un cierto tiempo a defender el lugar de cría, tal vez con su simple presencia en los alrededores, ahuyentando posibles flotantes (observaciones propias). Pero el cuidado biparental no implica que el reparto de la carga de trabajo sea equitativo (Gross, 2005). Es posible que los machos que hayan conquistado un lugar de cría puedan desligarse de los requerimientos de los pollos y dejar el grueso de esta carga a las hembras, y aumentar así sus posibilidades de supervivencia futuras. Por otro lado, aunque en esta muestra no había machos polígamos, nuestras observaciones sugieren que los machos reproductores a menudo prospectan otros nidos buscando la posibilidad de ser polígamos.

Las diferencias en la tasa de cebas entre sexos llegaron a su mayor grado de expresión en segundas puestas, cuando las condiciones de cría son más duras. De hecho, capturas de aves en esta época confirman que muchos machos, pero no hembras, han comenzado ya su periodo de muda, lo que en otras especies se ha relacionado con una disminución en las tasas de ceba (Hemborg, Sanz y Lundberg, 2001). Es importante destacar por otro lado que, pese a que existe una reducción muy grande en el número de cebas, no existe abandono por parte de los machos, lo que sugiere que los machos disminuyen su aportación, pero asegurando que los nidos no son ocupados por otro macho. Por otro lado, es posible que las duras condiciones ambientales de las segundas

puestas puedan acentuar las diferencias en cuanto a número de cebas entre machos y hembras. Dado que las condiciones de temperatura y menor disponibilidad de alimento hacen reducir las probabilidades de éxito de la puesta, es esperable que el sexo con una menor certeza de paternidad reduzca el esfuerzo al aumentar los costes. A estos factores ambientales hay que sumar el desgaste por parte de ambos sexos de haber hecho una primera puesta (Velandó, 2013; Dale, 2016; Williams, 2018).

Como ya se ha mencionado, hay una gran diferencia entre las diferencias ambientales y el éxito reproductivo entre primeras, puestas y segundas puestas (Gil *et al.*, 2008). Es posible que en poblaciones de aves con dos puestas como la de este estudio, se haya seleccionado para la primera puesta fechas un poco más tempranas que lo óptimo, con el fin de poder añadir una segunda puesta antes de que empiece el verano (Farnsworth, Simons y Brawn, 2001). Así que se podría hipotetizar que el momento idóneo para hacer la puesta sea coincidiendo con las puestas intermedias. En este momento de la temporada todavía el campo está verde y con comida abundante, todavía hay bastantes orugas (como en primeras puestas) y pueden aparecer los primeros saltamontes (como en segundas). Además, la temperatura no es tan fría como en primeras ni tan calurosa como en segundas.

Las puestas intermedias tienen unas características singulares. Aunque se realicen en una época óptima por lo que a la disponibilidad de alimento se refiere, son demasiado tardías y no permiten que se realice una segunda puesta en esa misma temporada de cría. Esto explicaría la poca diferencia de inversión que encontramos entre primeras e intermedias.

Edad de los pollos

La tasa de cebas va aumentando según la edad de los pollos hasta un pico máximo de actividad cuando los pollos son medianos (entorno a los 10 días de edad). Después de este pico el número de cebas diarias va disminuyendo lentamente, un patrón parecido al encontrado en otras especies, y que se explica porque la tasa de crecimiento máxima se adquiere a esa edad intermedia (Ricklefs, 1979). En ese sentido, los estorninos estarían ajustando sus aportaciones en base a las necesidades de crecimiento de los

pollos. Sin embargo, es difícil saber si ese cambio en tasa de cebas no se ve compensado con un aumento en el tamaño o cantidad de las mismas (Senécal *et al.*, 2021).

Respecto al número de pollos tanto machos como hembras aumentan su actividad al aumentar el número de pollos (Tablas 1-3). Esto implica que los adultos son capaces de modular su comportamiento y responder según el número de pollos de su puesta. Esto sucede de manera positiva en las tres puestas distintas. Merece la pena resaltar que el tamaño de efecto es mayor en intermedias (Tabla 2), posiblemente por tratarse de una puesta única en el año. Sin embargo, la interacción entre el sexo y el número de pollos es significativa en intermedias y segundas puestas (Tablas 2 y 3). Esto quiere decir que machos y hembras en intermedias y en segundas no responden igual al número de pollos. Las hembras no modulan tanto la tasa de cebas diaria en función del número de pollos como lo hacen los machos, que aumentan en mayor medida su tasa de cebas cuando la puesta es más grande (Fig. 8). Este comportamiento puede obedecer a que el balance de costes y beneficios entre sexos sea distinto, y que en puestas intermedias y en segundas los beneficios de una puesta mayor sean relativamente más importantes para los machos.

Análisis circadiano

El pico de mayor actividad para ambos sexos fue a primera hora de la mañana en las tres olas de puesta. La tasa de cebas va disminuyendo paulatinamente hasta alcanzar el mínimo en las horas centrales del día para luego tener un repunte antes del anochecer en el caso de las puestas primeras e intermedias. Este patrón circadiano, con un pico al amanecer ha sido descrito previamente en otras especie, el herrerillo común en una población mediterránea, aunque no de manera tan pronunciada (García-Navas y Sanz, 2012). En contraste, en otras muchas especies, no existen diferencias en cebas en relación a la hora del día (Moreno *et al.*, 1995; Verhulst y Tinbergen, 1997; Barba *et al.*, 2009). Estas diferencias podrían ser debidas a las diferencias en latitud entre poblaciones, ya que es posible que en latitudes meridionales como las del presente estudio, existan imperativos climáticos que lleven a este tipo de heterogeneidad circadiana.

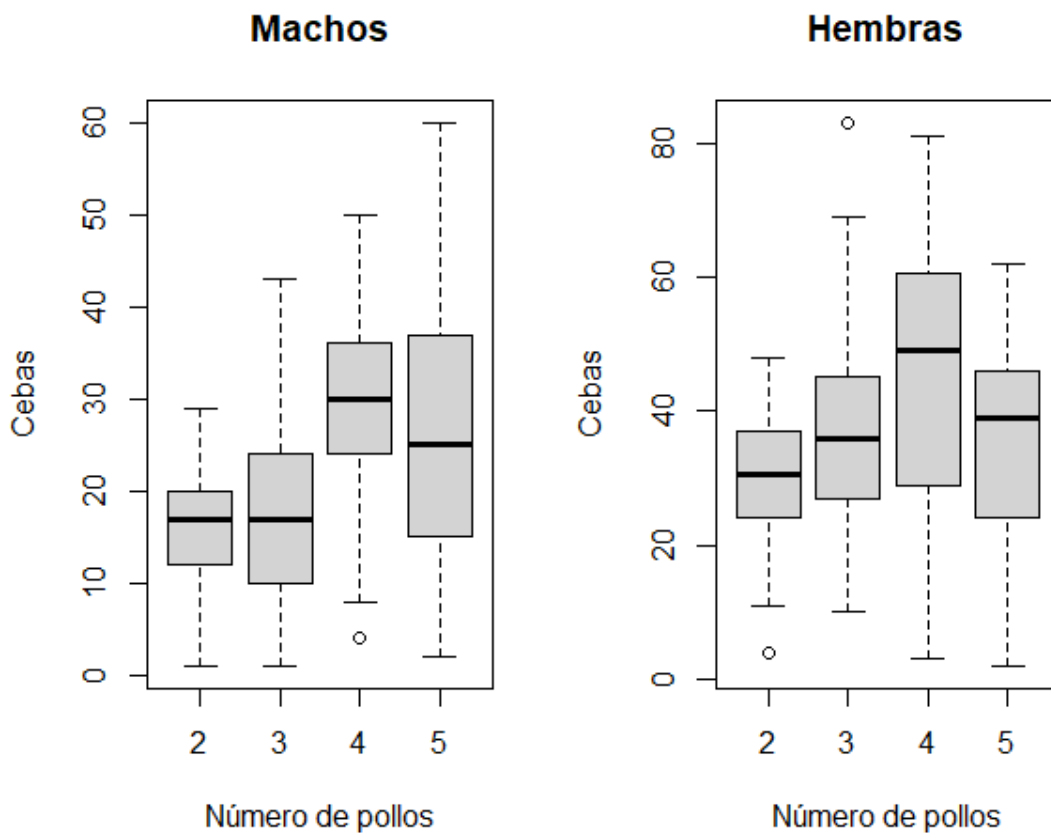


Figura 8: Representación gráfica de la tasa de cebas diaria en función del número de pollos a día 6 para machos (izquierda) y hembras (derecha) en segundas puestas.

Este patrón podría explicarse si la disponibilidad de las presas dependiese por la hora del día. En el caso del estornino, su dieta durante la época de cría está basada casi en su totalidad por invertebrados (S. J. Peris, 1980), en primeras puestas predominan las larvas sobre todo de lepidópteros y en segundas puestas se alimentan mayoritariamente de ortópteros. Dado que los invertebrados necesitan calentarse para activarse, se podría pensar que las horas de mayor calor serían mejor para localizar las distintas presas. Por otro lado, es posible que, aunque más difíciles de localizar a primera hora, sea más fácil capturarlas, maximizando así la rentabilidad del tiempo de forrajeo. Asimismo, el forrajear a primera hora podría reducir el coste energético de cazar en las horas de mayor calor del día.

Por otro lado, se ha demostrado que la depredación es una fuerza importante en la regulación de las cebas en otras especies (Rastogi, Zanette y Clinchy, 2006). Aunque

no tenemos datos para ello, podría ser que la tasa de depredación fuera menor a primera hora de la mañana.

Al contrario que lo encontrado en relación a la edad de los pollos, a lo largo del día machos y hembras siguen el mismo patrón de comportamiento en las distintas puestas. Esto sugiere un nivel de coordinación muy alto, que podría deberse a patrones temporales de uso del espacio y de los recursos. El estornino es un ave muy social, y estudios recientes han demostrado que no existe segregación por sexos en los movimientos de forrajeo en invierno (Fusté i Mach, en prep.), lo que podría explicar en parte este alto grado de similitud entre sexos en patrones circadianos.

Como hemos visto en el primer capítulo, la tecnología RFID nos ha permitido dar un paso más en los estudios clásicos de tasas de cebas. En conclusión, las hembras ceban más que los machos. Estas diferencias se ven acentuadas en segundas puestas donde los machos apenas aportan comida y aportan más en nidos con mayor número de pollos. Es aquí en segundas puestas donde el patrón circadiano de cebas se vuelve lineal en contraposición con el patrón cuadrático de primeras e intermedias. En cuanto a la edad de los pollos ambos sexos parecen responder igual, aumentando poco a poco la tasa de cebas conforme van desarrollándose los pollos hasta llegar al pico de actividad cuando los pollos son casi grandes para luego ir disminuyendo las cebas.

Capítulo 3

Determinantes de la fecha de salto del nido en el estornino negro

Introducción

El desarrollo de los organismos que dependen de cuidados parentales es el resultado de un conflicto entre padres y descendencia, ya que se espera que los segundos soliciten más inversión de la que los primeros están dispuestos a prestar (Trivers, 1974). Las aves altriciales son totalmente dependientes de sus progenitores al nacer, lo que hace que los cuidados parentales prolongados sean imprescindibles para la supervivencia de la prole. En este tipo de aves, una vez que los pollos de estas especies han emplumado y son capaces de volar, llega un momento decisivo de su vida, cuando al abandonar el nido se enfrentan a nuevos peligros externos, aunque continúen siendo cebados y cuidados por sus padres. El momento de saltar del nido (en inglés “fledging”), es clave y determina el final del periodo nidícola y el comienzo de un nuevo periodo donde los pollos están expuestos a nuevos peligros aun siendo aún dependientes en la mayoría de las especies. Sabemos que la tasa de depredación de nidos y la tasa de mortalidad tras el salto del nido son factores importantes en la determinación del periodo óptimo nidícola (Remeš y Martin, 2002; Roff, Remeš y Martin, 2005) . Por otro lado, conforme van creciendo y desarrollándose, va aumentando la competencia entre hermanos por conseguir las cebas de los padres, ya que el aporte de comida debe seguir aumentando. En nidos de oquedades cerradas, esta competición se manifiesta mediante el acaparamiento de las posiciones más ventajosas para recibir comida (A. Kacelnik *et al.*, 1995). La decisión de saltar del nido puede ser usada por los pollos para monopolizar las cebas de los padres, desviando la atención de los pequeños que no son capaces de competir en intensidad y perseverancia de petición (Nilsson y Svensson, 1993).

Desde el punto de vista de los padres, lo más ventajoso serían puestas de desarrollo rápido en las que tuvieran que invertir menos tiempo (Trivers, 1974). En el caso de las aves que realizan dos puestas en una misma temporada de cría, se prevé un compromiso entre la duración del cuidado parental de la primera puesta y el inicio de la segunda, ya que el que las primeras puestas vuelen antes o después pueden marcar el desarrollo y la probabilidad de que ocurran puestas subsiguientes. Por ejemplo, si la primera puesta de una pareja se alarga porque los pollos no abandonan el nido, se favorecería que la segunda puesta empezara tarde y coincidiera con una época menos óptima, lo que disminuiría considerablemente las probabilidades de supervivencia de la segunda nidada.

Numerosos estudios muestran que el salto del nido se produce por lo general en las primeras horas de la mañana y, en caso de realizarse en dos o más días, los últimos pollos esperan un día entero para poder saltar en la mañana siguiente (Lemel, 1989; Radersma, Komdeur y Tinbergen, 2015; Santema *et al.*, 2021). Comparando entre especies, se ha comprobado que, cuanto mayor es el peligro de depredación, más pronto se realiza el salto del nido, lo que implica que este comportamiento tiene una función antidepredatoria, posiblemente favoreciendo que los volantones lleguen a la noche con un máximo de experiencia y entrenamiento en el mundo exterior (Chiavacci *et al.* 2015). Independientemente de la hora, existen al menos cuatro hipótesis -no todas mutuamente excluyentes- para explicar el factor detonante del abandono del nido por parte de los volantones de las aves que crían en cavidades, así como el orden en el que lo hacen (Johnson, Rauch y Dellone, 2004).

La primera hipótesis está planteada desde el punto de vista comportamental de los progenitores y sugiere que los padres, mediante un cambio en su comportamiento, incitarían a los pollos a abandonar el nido. Esta **hipótesis de manipulación parental** supone que los padres manipulan la fecha en su beneficio. Los padres, por ejemplo, podrían disminuir su tasa de cebas para que el hambre de los pollos los haga salir a buscar cebas por su cuenta o aportadas por los adultos, pero ya fuera del nido. Algunos estudios sugieren que los padres en algunas especies podrían intentar estimular a los pollos a salir del nido pasando por delante del nido con comida (Bustamante y Hiraldo, 1990; Michaud y Leonard, 2000) o sosteniéndola visiblemente cerca del nido

(Meinertzhagen, 1954; Rowan, 1955; Walker, 1972). Sin embargo, trabajos experimentales que han manipulado el tiempo de estancia en el nido de los pollos no apoyan esta hipótesis, ya que el salto del nido se retrasa si se introducen pollos más jóvenes (Nilsson y Svensson, 1993), lo que implica que los padres esperan que los pollos inicien el salto del nido, o que alcancen un grado de desarrollo determinado. Sin embargo, el hecho de que se hayan observado en varias especies comportamientos de los padres invitando a los pollos a saltar sugiere que los padres pueden influir, al menos en algunas situaciones (Rowan, 1955).

Las otras tres hipótesis están basadas en el tamaño y desarrollo de los pollos y la competencia entre ellos. La primera de ellas (**hipótesis del tamaño umbral**) propone que los pollos abandonan el nido cuando los mayores llegan a un tamaño y desarrollo mínimo a partir del cual pueden valerse por sí mismos (Nilsson y Svensson, 1993; Johnson, Rauch y Dellone, 2004; Radersma, Tinbergen y Komdeur, 2011; Johnson *et al.*, 2013). De esta manera, esta hipótesis predice que el primero en abandonar el nido es el pollo más desarrollado de la nidada. Sin embargo, la competencia entre hermanos por conseguir las cebas puede hacer que uno de los pollos más retrasados, normalmente no el más pequeño, empujado por el hambre sea el primero en salir para ser el primero en interceptar cebas fuera del nido (Lemes, 1989) o buscar comida él solo (Martins, 1997). Esta posibilidad llevo a proponer la **hipótesis de competición entre pollos**. En carboneros (*Parus major*), se encontró que, pese a que los pollos más grandes tendían en general a salir antes del nido, los primeros en salir eran un poco más pequeños, lo que lo sugería una interacción entre las dos hipótesis anteriores (Lemes, 1989).

Por último, para especies que presentan una marcada asincronía en la eclosión, Freed (1988) propuso una **hipótesis de selección de parentesco**, en la que postula que el mayor de los hermanos podría retrasar su salida del nido brindando tiempo a sus hermanos para crecer y poder abandonar el nido. Esta hipótesis predice que el primero en abandonar el nido será uno de los hermanos pequeños cuando éste alcance un desarrollo mínimo. En este sentido, un experimento en nidadas de chochín criollo (*Troglodytes aedon*) mostró que los pollos más desarrollados esperan más tiempo antes de saltar del nido si se introducen pollos más pequeños, lo que sugiere que existe selección por parentesco (Bowers, Sakaluk y Thompson, 2013). De todas maneras, no

podemos descartar que haya beneficios directos para esos pollos, lo que invalidaría esa selección por parentesco. Por ejemplo, podría haber una menor probabilidad de depredación per cápita si el grupo de volantones es mayor en ese periodo de cuidados después del salto del nido. De esa manera, la decisión de esperar beneficiaría a los pollos grandes.

En este capítulo estudiamos el momento de salto del nido en el estornino negro (*Sturnus unicolor*) marcando a los pollos con transpondedores RFID y registrando su actividad desde los 14 días de edad hasta que abandonan el nido. Aunque los datos que obtendremos son correlativos, y no nos van a permitir distinguir entre las diferentes hipótesis, sí que nos permiten explorar este fenómeno en una especie que nidifica en cavidades. Mediante el seguimiento del nido con tecnología RFID obtenemos dos tipos de datos. Por un lado, la fecha de salto del nido, determinada por la última fecha en que es detectada un ave en el nido. Por otro lado, la fecha del primer uso de la entrada del nido en los días previos al salto definitivo, que nos indica que el pollo toma una posición privilegiada para interceptar cebas antes de que los padres entren (A. Kacelnik *et al.*, 1995). Nuestro propósito en este estudio es doble. Por un lado, explorar a nivel del individuo si las primeras aves en colocarse a la entrada del nido y en saltar son las más desarrolladas o las más necesitadas. Por otro lado, estudiaremos las diferencias entre nidos en la fecha absoluta de salto de nido, en relación al número de pollos, y el orden de puesta (primeras vs. segundas). Pensamos que un mayor número de pollos puede retrasar el salto del nido debido a que la competencia entre ellos por las cebas puede ralentizar su desarrollo. El hecho de que haya menores tasas de cebas por parte de los padres en segundas puestas que en primeras puestas, nos permite predecir que el salto sea más temprano en el caso de las segundas puestas, ya que esperamos que un mayor grado de necesidad lleve a una competición más alta por la comida.

Materiales y métodos

Para este capítulo trabajamos con los datos recopilados en las cajas dotadas de lector alimentado de forma continua por placa solar (ver Métodos generales) durante las temporadas de campo de 2019, 2020 y 2021. Aunque se intentó que todas las placas estuvieran operativas a partir de día 15 de edad de los pollos entre las 7:00 am y las 14:00 horas, algunos fallos técnicos, las inclemencias del tiempo y el crecimiento de

hojas y su consecuente sombra limitaron el funcionamiento de algunas placas, con lo que la muestra final se vio reducida.

Durante la puesta se visitaron los nidos de manera sistemática hasta encontrar el primer huevo, una vez encontrado se calculó el día de eclosión, 11 días después de la puesta del último huevo, y se volvió a visitar el nido en ese día para ver si habían eclosionado. De no haberlo hecho se visitaba al día siguiente. Se consideró como día de eclosión de una puesta el día 1 de vida del primer pollo de la nidada en eclosionar. El estornino negro tiene cierta asincronía en la eclosión (1-3 días) por lo que a día 3 se volvieron a visitar los nidos para determinar el número de huevos eclosionados. Posteriormente se visitó el nido a día 6 de edad para estimar la supervivencia de los pollos. A día 14 de edad se les tomaron medidas morfológicas básicas (peso, tarso y ala), se les extrajo una muestra de sangre para sexado en el laboratorio y por último, se les marcó con anilla metálica de SEO-Birdlife y un transpondedor RFID.

Tras el día 14 de edad de la nidada, las cajas se volvieron a visitar a día 18, donde se comprobó el estado y supervivencia de los pollos y el correcto funcionamiento de sus transponders correspondientes. Sabemos por experiencia previa que, en años con alimento abundante, el salto del nido se produce entre el día 18 y el 25 de edad. Por otro lado, 18 días es la última fecha en la que se puede inspeccionar a los pollos sin provocar un salto del nido. Se evitó en esta edad manipular y tomar datos de los pollos, leyendo tan solo el transponder mediante una pasada sobre el lomo con un detector de mano (Trovan LID 560 pocket- reader), y cerrando la caja con cuidado. Se programó el lector de manera específica para optimizar la toma de datos. Los lectores tienen una memoria finita y los volantones suelen ocupar durante mucho tiempo la entrada del nido por lo que la antena los está registrando continuamente y puede llegar a llenarse la memoria en una sola mañana. Para evitarlo, los lectores se configuraron de 7:00 AM a 14:00 PM basándonos en la bibliografía que expone que el salto del nido se suele producir por la mañana, especialmente en las primeras horas (Lemel, 1989; Johnson, Rauch y Dellone, 2004; Schlicht *et al.*, 2012; Radersma, Komdeur y Tinbergen, 2015). Complementariamente, se configuró el tiempo de espera entre una lectura y la posibilidad de realizar la siguiente en 25 segundos que es el máximo posible en estos lectores. A partir de día 18 no se bajó la caja para no interferir en el salto del nido hasta

pasado el día 25 para comprobar si habían volado todos o si había muerto algún pollo a partir de día 18 y descargar los datos.

Una vez descargados los datos, se seleccionaron aquellos nidos con lecturas RFID entre el día 18 y 30 de edad de los pollos y dónde al menos hubiera dos pollos vivos a día 18. A pesar de la configuración específica, la memoria de algunos lectores se llenó y no se registraron los datos de los últimos días de salto del nido. Estos nidos no pudieron ser empleados para analizar la fecha y el orden dentro de la nidada en el que los pollos se detectaron a la entrada del nido. Por el contrario, algunos lectores fallaron los primeros días, por lo que no se pudieron registrar este tipo de datos, pero si el salto del nido de los pollos. Por lo tanto, el tamaño muestral para ambos tipos de datos varía, siendo de 72 puestas para los datos de uso de la entrada del nido, y de 46 para los datos de salto del nido de los años 2019, 2020 y 2021.

Análisis estadístico

Análisis a nivel de nido

Usamos como variables dependientes el día del primer salto del nido, el último día de salto del nido, la duración del periodo en días entre el primer y último salto, y el primer día de uso de la entrada del nido por los pollos.

Se realizaron modelos lineales mixtos (LMM) para analizar el primer día de salto del nido en función de las medias de peso y tamaño del ala del nido, las desviaciones estándar del peso y el ala del nido, el número de hermanos, la ola de puesta y el año. El nido se consideró como factor aleatorio en los modelos. Debido a la colinearidad entre las desviaciones estándar del peso y el ala, realizamos un modelo considerando el peso y otro diferente considerando el ala como factores fijos.

Se siguió el mismo procedimiento para el último día de salto, separando los modelos también para el peso y el ala. Para el análisis del periodo de tiempo entre el primer y último salto se realizó un modelo generalizado lineal mixto (GLMM) usando la misma fórmula que en los casos anteriores, separando peso y ala y ajustando los modelos a una distribución de Poisson. Por último, para analizar el primer día que los pollos usan la entrada del nido, separamos los datos en dos categorías, ya que en la mayoría de los nidos los pollos usan por primera vez la entrada del nido el día 15, se

separaron los pollos que usaban la entrada de forma temprana (a día 15) y pollos que la usaban de forma más tardía. Usamos un GLMM para el peso y para el ala con la formula anterior pero esta vez ajustado a una distribución binomial.

Análisis a nivel de individuo

Para analizar las diferencias a nivel de pollo se utilizaron como variables dependientes el día de salto del nido del individuo, el orden en el que salta con respecto a sus hermanos y el día en el que usa la entrada del nido por primera vez.

Como variables dependientes usamos el peso y el tamaño del ala absolutos. Con el fin de poder comparar las medidas del peso y el ala de cada pollo con las de sus hermanos, basándonos en Johnson, Rauch y Dellone (2004), calculamos un índice que usamos como variable dependiente. Para calcular este índice, al pollo con la mayor medida se le daba una puntuación máxima de 100 para esa variable y al resto de hermanos se le daba una puntuación en relación al hermano mayor según la siguiente formula: $(\text{medida X}/\text{medida máxima del nido}) * 100$. Esta fórmula pretende mostrar un índice de capacidad competitiva entre los hermanos, eliminando diferencias entre nidos. Por último, también tuvimos en cuenta en los modelos la ola de puesta, el año, el sexo de los pollos y el número de hermanos.

Para analizar el día de salto del nido, en primer lugar, se realizó un modelo lineal mixto en el que se incluyeron las medidas absolutas del peso y el tamaño del ala, así como la ola de puesta, el año, el sexo, el número de hermanos como efectos fijos. El nido se consideró como efecto aleatorio. Se realizó otro LMM para analizar el día de salto en función de los índices relativos del peso y el ala con respecto a sus hermanos, así como el resto de variables independientes mencionadas anteriormente, y considerando de nuevo el nido como efecto aleatorio.

Para evaluar qué factores se asocian con el orden en el que un pollo salta del nido, se realizó un primer LMM con las medidas absolutas de peso y tamaño del ala, los índices relativos, la ola de puesta, el sexo, el año y el número de hermanos como efectos fijos. El nido se consideró de nuevo como efecto aleatorio. A continuación, se realizó un modelo más simple con las variables más explicativas del modelo anterior.

Por último, se usó un GLMM para analizar el día en el que los pollos usan la entrada del nido por primera vez. Se realizó una categorización binomial como se describe en los análisis a nivel de nido y se analizó el efecto del índice relativo del peso y el ala, la ola de puesta, el año y el número de hermanos. El nido se consideró como efecto aleatorio.

En todos los análisis se estableció un modelo inicial y se fueron retirando variables no significativas en orden decreciente. Se verificó que las variables explicativas no eran multicolineales en el modelo inicial entre si el factor de inflación de la varianza era menor que 5 para todas. Se comprobaron en todos los casos que los residuos del modelo cumplían con los supuestos de normalidad y heterocedasticidad usando el paquete DHARMA (Hartig y Lohse, 2022). Así mismo se verificó que el modelo final tenía el menor valor de AIC (Akaike Information Criterion) de todos los modelos previos.

Resultados

Análisis a nivel del nido

Entre los nidos observados (N = 46) la media del primer día de salto fue 21.3 días (SD = 1.63, rango: 18 – 25), mientras que la media del último día fue 22.67 (SD = 1.71, rango: 18- 26). Pese a la amplia variación en edad (Fig. 1a y 1b), la duración de este periodo fue mayoritariamente de 1-2 días, aunque con una amplia distribución de mayores duraciones (media = 2.37, SD = 1.61, rango: 1 -7; Fig. 1c).

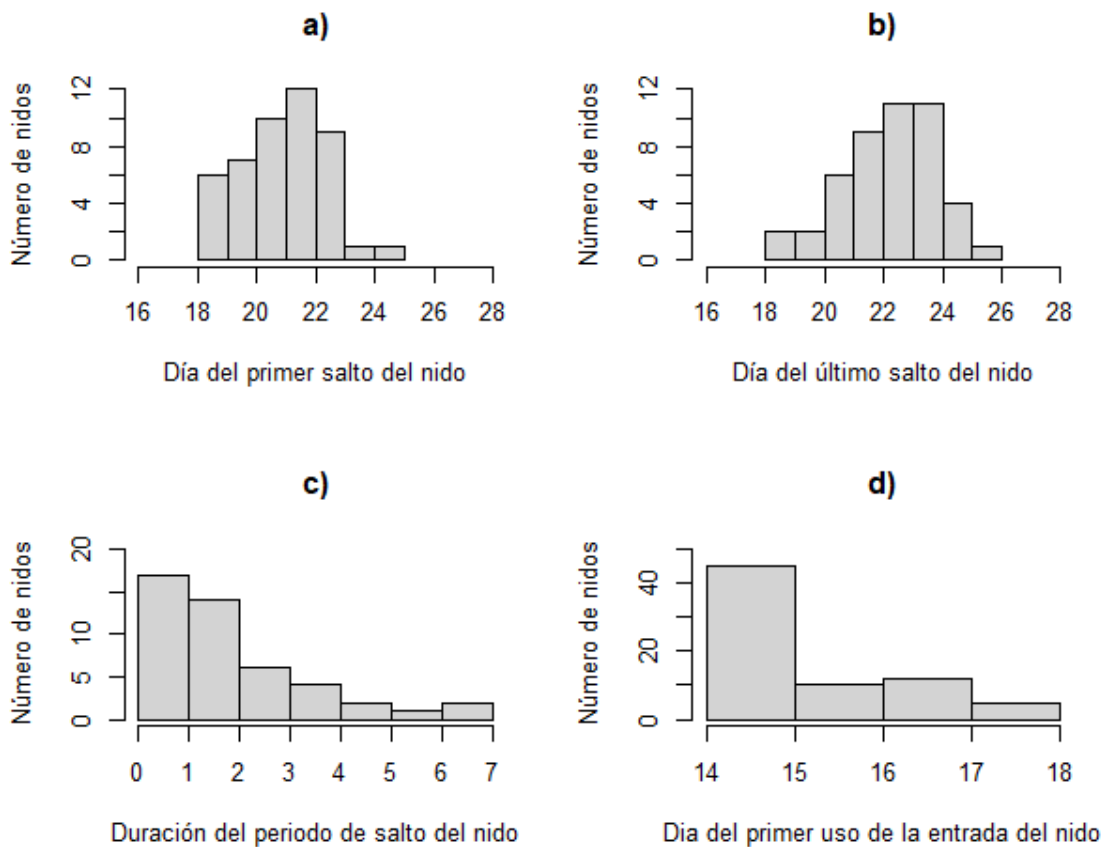


Figura 1: Distribución de frecuencias de la edad de primer día de salto de un pollo del nido (a), edad de salto del último pollo (b), duración del periodo entre el primer y el último salto (c) y edad del primer día de uso de la entrada del nido por alguno de los pollos (d).

En primer lugar, examinamos qué variables podrían explicar la edad de primer salto del nido. Dada la colinearidad entre las medidas (peso, ala y sus desviaciones estándar), hicimos dos modelos por variable, uno para peso y otro para ala. En el modelo mixto inicial incluimos la media de peso de los pollos por nido y su desviación estadística, el número de los mismos, el orden de puesta y el año (Tabla 1). Ninguna de las variables fue retenida en el modelo final. En un segundo modelo usando longitud de ala y su desviación estadística llegamos a un resultado similar (Tabla 1).

a)	Estimador	Error estándar	gl	t valor	Pr(> t)
(Intercepto)	-3.65E+02	1.03E+03	3.81E+01	-0.355	0.724
Media del peso	-9.25E-03	6.08E-02	3.75E+01	-0.152	0.880
SD del peso	2.15E-02	8.79E-02	3.75E+01	0.244	0.808
Nº hermanos	1.51E-01	3.41E-01	3.68E+01	0.443	0.660
Puestas intermedias	-1.02E-01	7.98E-01	3.51E+01	-0.128	0.899
Segundas puestas	-1.54E-01	7.94E-01	3.90E+01	-0.194	0.847
Año	1.91E-01	5.10E-01	3.81E+01	0.375	0.709
b)					
(Intercepto)	-217.653	984.489	38.311	-0.221	0.826
Media del ala	-0.020	0.092	32.524	-0.217	0.830
SD del ala	0.065	0.123	36.893	0.533	0.597
Nº hermanos	0.099	0.351	37.742	0.281	0.780
Puestas intermedias	-0.257	0.796	35.638	-0.323	0.748
Segundas puestas	-0.306	0.755	37.776	-0.405	0.688
Año	0.119	0.488	38.310	0.243	0.809

Tabla 1: Resultados de los modelos iniciales para la edad del primer salto de cada nidada en función del peso (a) y del ala (b). Los modelos finales no contuvieron ningún término significativo, por lo que se presentan sólo los resultados de los modelos iniciales.

Usamos el mismo procedimiento para el caso de la edad del último salto por nido. En este caso, el modelo final usando las medidas de peso como predictor arrojó un efecto significativo del número de pollos y de la variación en el peso (Tabla 2). Los nidos con mayor número de pollos y con mayor variación en peso dentro del nido tuvieron una última edad de salto más tardía. Cuando usamos medidas del ala en lugar del peso, se confirma el efecto positivo del número de pollos, pero en este caso es la longitud media del ala y no su variación la que explica el patrón: a menor longitud de ala media del nido, más tardío es el último salto de la nidada (Tabla 2).

a)	Estimador	Error estándar	gl	t valor	Pr(> t)
(Intercepto)	18.053	0.922	42.953	19.582	< 0.001***
SD del peso	0.179	0.054	40.630	3.302	0.002**
Nº hermanos	0.925	0.200	42.352	4.630	< 0.001***
b)					
(Intercepto)	31.261	4.316	35.633	7.244	< 0.001***
Media del ala	-0.157	0.057	35.664	-2.760	0.009**
Nº hermanos	0.858	0.203	41.826	4.227	< 0.001***

Tabla 2: Resultados de los modelos finales para la edad del último salto del nido en función del peso (a) o del ala (b), así como del número de hermanos en la nidada. En ambos casos, los modelos iniciales incluyeron también la ola de puesta y el año como factor aleatorio.

En el caso de la duración del periodo de salto vemos reflejado de nuevo el patrón que encontramos para la edad más tardía de salto. En el modelo que incluía las medidas de peso, vemos que hay un efecto positivo del número de pollos en la nidada y de la variación en el peso sobre la duración del periodo de salto (Tabla 3). En el modelo usando medidas de ala se mantiene el efecto del número de pollos sobre la duración del periodo de salto, y aparece un efecto positivo marginalmente significativo ($P = 0.06$) de la longitud media del ala en el mismo sentido (Tabla 3).

a)	Estimador	Error estándar	z valor	Pr(> z)
(Intercepto)	-0.640	0.474	-1.350	0.177
SD del peso	0.057	0.023	2.487	0.013 *
Nº hermanos	0.290	0.098	2.972	0.003**
b)	Estimador	Error estándar	z valor	Pr(> z)
(Intercepto)	3.383	1.946	1.739	0.082.
Media del ala	-0.048	0.026	-1.841	0.066.
Nº hermanos	0.280	0.102	2.754	0.006**

Tabla 3: Resultados de los modelos finales para la duración del periodo entre el primer y último salto en función del peso (a) o del ala (b), así como del número de hermanos en la nidada. En ambos casos, los modelos iniciales incluyeron también la ola de puesta y el año como factor aleatorio.

Análisis de nivel de individuo

Entre los pollos analizados (N=194) la media de edad de salto del nido fue 21.99 días (SD = 1.67, rango: 18-26) (Fig. 2). La mayoría de los pollos se asomaron a la entrada del nido por primera vez a los 15 días de edad, siendo la media 16.26 días (SD = 1.42, rango: 15-23) (Fig. 2b).

Al examinar la edad de salto del nido en función de las medidas morfológicas brutas, obtuvimos una asociación significativa y negativa con la longitud del ala y una asociación positiva con el número de pollos de la nidada (Tabla 4a y Fig. 3). Al usar los índices relativos los resultados coinciden, siendo significativa la asociación negativa el índice diferencial del tamaño del ala y positiva con el número de pollos en la nidada (Tabla 4b).

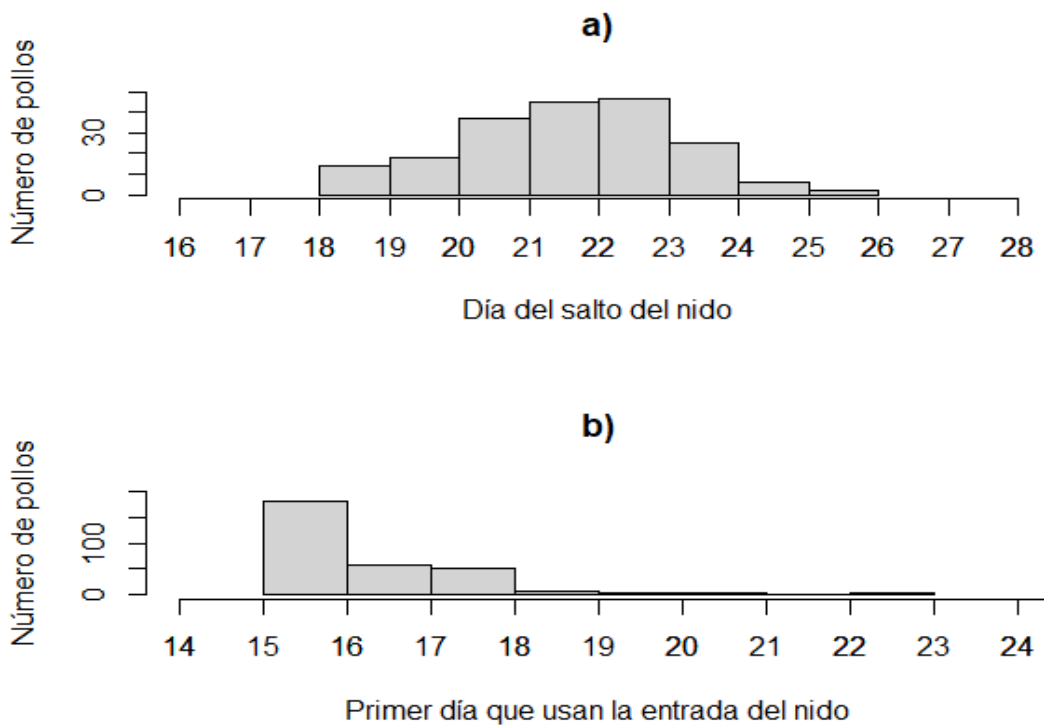


Figura 2: Distribución del número de pollos en función de la edad a la que saltan del nido (a) y en la que usaron por primera vez la entrada del nido (b).

a)	Estimador	Error estándar	gl	t valor	Pr(> t)
(Intercepto)	27.736	1.422	182.472	19.511	< 0.001***
Tamaño del ala	-0.104	0.016	169.415	-6.475	< 0.001***
Nº de hermanos	0.548	0.180	46.014	3.040	0.004**
b)					
(Intercepto)	27.996	1.491	189.785	18.772	< 0.001***
Índice dif del ala	-0.083	0.013	154.202	-6.307	< 0.001***
Nº de hermanos	0.476	0.183	46.071	2.595	0.013*

Tabla 4: Resultados de los modelos finales para la edad del salto del nido en función del tamaño absoluto del ala (a) o del índice diferencial del tamaño del ala), así como del número de hermanos en la nidada. En ambos casos, los modelos iniciales incluyeron también la ola de puesta y el año.

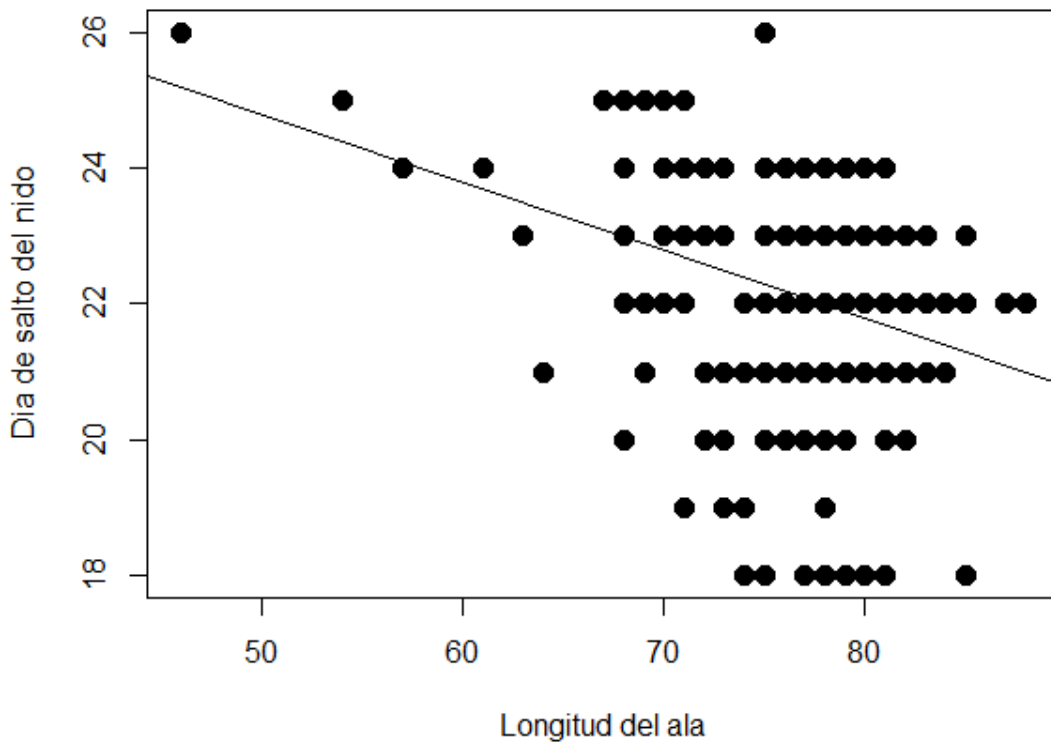


Figura 3: Representación gráfica del día de la relación entre la edad del salto del nido y el tamaño del ala (mm) a los 14 días de edad.

En los modelos del orden de salida se encontró colinearidad en las medidas absolutas y los índices relativos, quedando al final simplificado y seleccionando como variables explicativas el índice diferencial del tamaño del ala y el número de hermanos.

Los pollos con ala más pequeña con respecto al hermano más grande suelen ocupar puestos más retrasados en el orden de salto del nido (Tabla 5).

	Estimador	Error estándar	gl	t valor	Pr(> t)
(Intercepto)	8.865	1.431	191	6.196	< 0.001***
Índice dif. del ala	-0.079	0.014	191	-5.591	< 0.001***
Nº de hermanos	0.330	0.081	191	4.087	< 0.001***

Tabla 5: Resultados del modelo final para el orden de salida del nido. El modelo inicial incluyó también la ola de puesta, el año y la identidad del nido como factor aleatorio.

Por último, el GLMM binomial arrojó un efecto por el que los pollos en primeras puestas usan la entrada del nido por primera vez significativamente más tarde, después del día 15, que en intermedias y en segundas puestas (Tabla 6 y Fig.4). Ninguna otra variable morfométrica fue retenida en el modelo final.

	Estimador	Error estándar	z valor	Pr(> z)
(Intercepto)	1.863	0.632	2.948	0.003**
Puestas intermedias	-3.298	1.543	-2.138	0.033*
Segundas puestas	-4.427	1.310	-3.379	<0.001***

Tabla 6: Resultados del modelo final para el primer día de uso de la entrada del nido en función de la ola de puesta, definida como día 15 vs más tarde. El modelo inicial incluyó también la ola de puesta, el año y la identidad del nido como factor aleatorio.

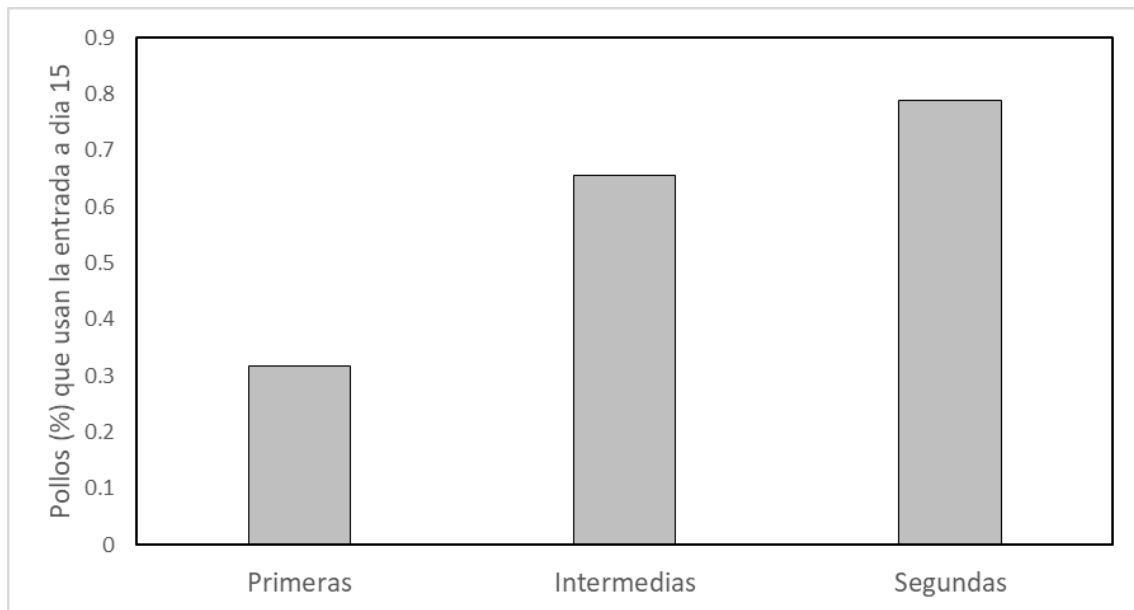


Figura 4: Diferencias en el porcentaje de pollos que usa la entrada del nido a día 15 con respecto al total en función de la ola de puesta.

Discusión

Las hipótesis que se han propuesto sobre la edad del salto del nido en aves hacen referencia a procesos evolutivos clave en ecología evolutiva como son el conflicto parento-filial o el conflicto entre hermanos (Trivers, 1974; Freed, 1988; Lemes, 1989; Johnson, Rauch y Dellone, 2004). Dado el carácter correlativo de los datos obtenidos en este capítulo no es posible dirimir del todo entre las diferentes hipótesis propuestas para explicar este fenómeno, pero sí es posible evaluar hasta cierto punto si los patrones obtenidos son más compatibles con las predicciones de cada una de ellas.

A nivel de nido, el primer -e inesperado- hallazgo es que ninguna variable morfométrica, estacional (ola de puesta) o de número de pollos pudo predecir la edad de salto del nido del primer pollo. Esto contrasta con el hecho de que las diferencias físicas entre los hermanos, así como el tamaño de nidada, influyen en los otros descriptores del proceso de abandono del nido de los pollos que hemos estudiado. Tanto la edad del último pollo en saltar del nido como el intervalo de días entre el salto del primer y el último pollo se ven positivamente afectados tanto por la diferencia de peso entre la nidada, así como por el número de hermanos (Figura 5 y 6). Es decir: nidos con grandes puestas y grandes diferencias de peso entre pollos tienden a presentar un

intervalo de salto más grande. Nuestros datos sugieren que los primeros pollos en saltar lo hacen con independencia del número de hermanos o su condición física o de desarrollo. Esto sugiere que no hay una espera por parte de los pollos más grandes, como sí se ha encontrado en otros estudios (Santema et al 2021, Bowers et al). Más bien al contrario: las aves saltan al llegar a un peso umbral (hipótesis del tamaño umbral) con independencia del estado y desarrollo de sus hermanos (Lemel 1989). Esto hace que nidadas con menor desarrollo medio o más disparidad entre hermanos tarden más en saltar siendo estas diferencias en tamaño cruciales para determinar el periodo de abandono de cada nido.

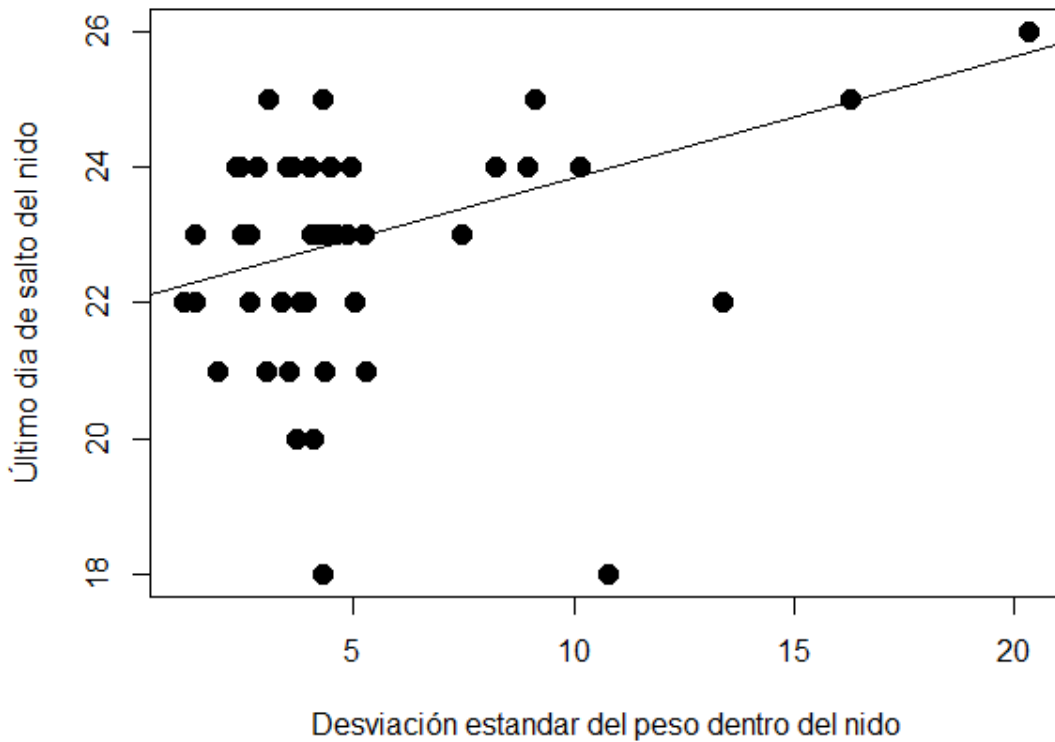


Figura 5: Edad a la que vuela el último pollo del nido en función de la variación (desviación estándar) en el peso de los pollos de la nidada a los 14 días de edad.

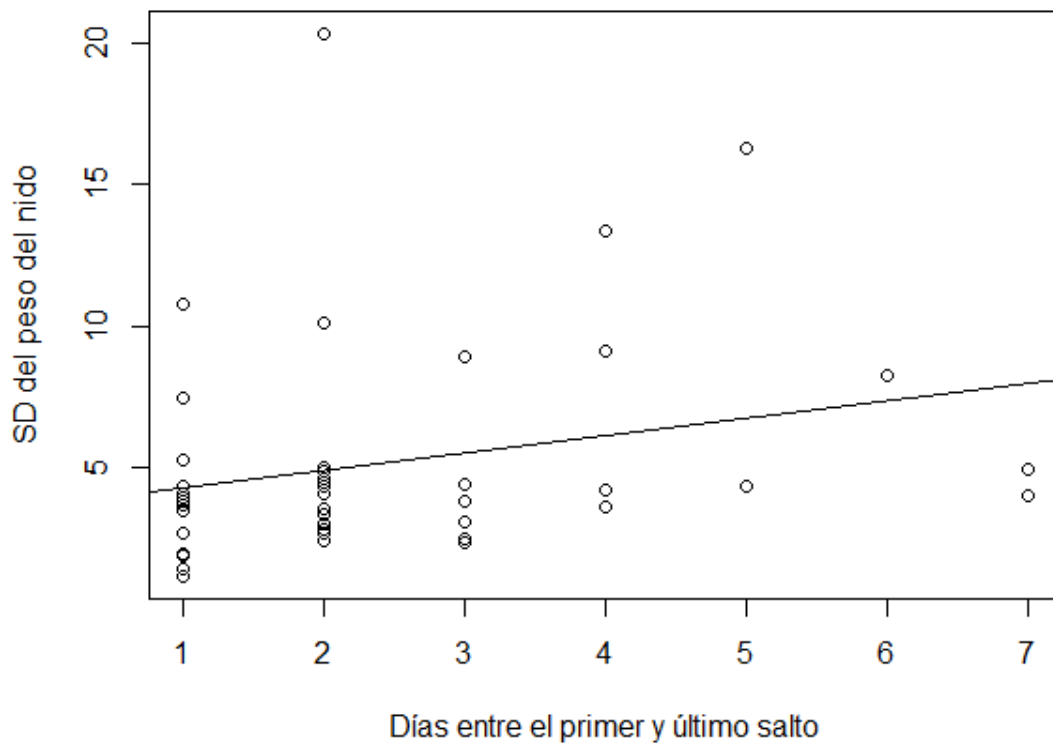


Figura 6: Duración del periodo de salto del nido (días transcurridos entre el salto del primer y el último pollo de la nidada) en función de la variación (desviación estándar) del peso de los pollos de la nidada.

Estas diferencias morfológicas que influyen en la fecha última del salto las observamos también al analizar el día de salto a nivel de individuo. En este caso nuestros modelos muestran que los pollos con el ala más pequeña vuelan más tarde (Figura 7) y ocupan puestos más retrasados en el orden de salida de los hermanos (Figura 8). En trabajos futuros en nuestra especie modelo sería interesante determinar el cambio en la longitud del ala entre día 14 y día 18, ya que en un estudio previo se ha demostrado que en carboneros palustres (*Poecile palustris*), los pollos más pequeños priorizan el crecimiento de las alas sobre otras estructuras para no quedar rezagados con respecto a sus hermanos (Nilsson y Gårdmark, 2001). Desafortunadamente, una de las limitaciones de este estudio (así como de muchos otros), es que es imposible saber el tamaño de las aves en el momento del salto, por lo que solo podemos contar con las medidas varios días antes de que se realice el salto. Nuestros resultados sugieren que

los pollos más pequeños podrían tener más dificultades físicas para abandonar el nido, y que retrasan su fecha de abandono para ser alimentados más tiempo por los padres hasta alcanzar el tamaño umbral necesario (Nilsson y Svensson, 1993; Johnson, Rauch y Dellone, 2004; Radersma, Tinbergen y Komdeur, 2011; Johnson *et al.*, 2013).

Una de las predicciones de la hipótesis de competencia entre hermanos era que los pollos más pequeños serían los primeros en ocupar la entrada del nido o incluso de saltar en busca de alimento guiados por el hambre (Lemes, 1989; Martins, 1997). Sin embargo, no encontramos ningún efecto de variables morfométricas ni del número de hermanos en el primer día que usan la entrada del nido. Esto sugiere que, pese a que se trata de un comportamiento que en principio podría llevar a monopolizar el acceso a las cebas parentales (A. Kacelnik *et al.*, 1995), parece existir una rotación de pollos, de manera que la mayoría usaría esta posición ventajosa en turnos no determinados por su tamaño, sino posiblemente por su nivel de hambre, y por tanto dependiendo de procesos más inmediatos (Parejo-Pulido *et al.*, 2023).

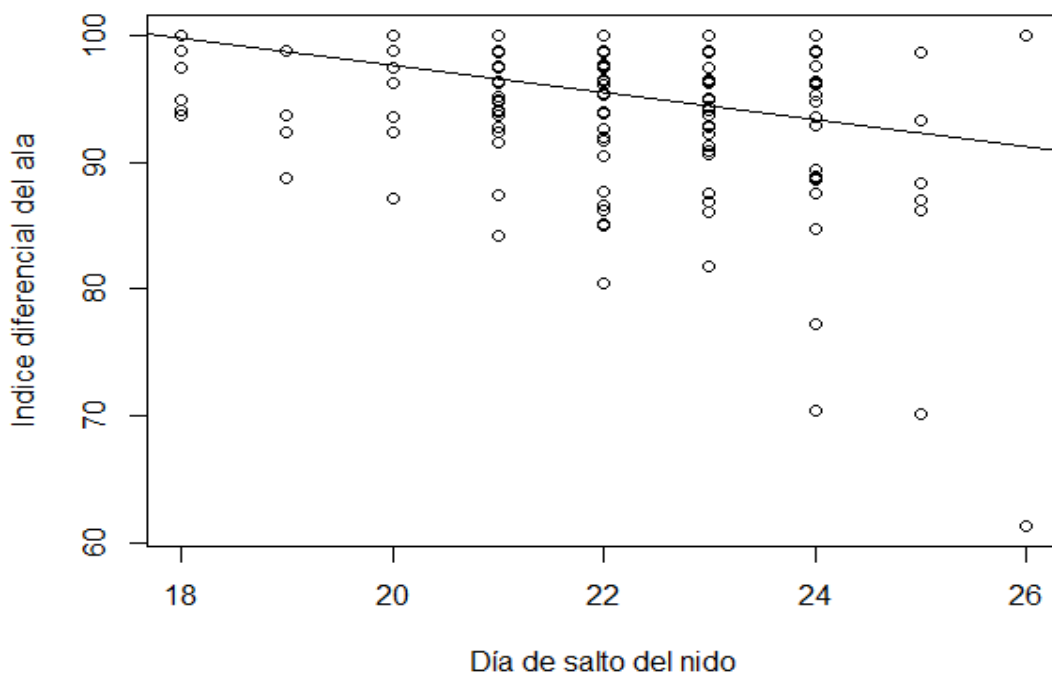


Figura 7: Edad a la que cada pollo abandona el nido en función de la diferencia del tamaño de ala, siendo 100 la puntuación del ala mayor del nido y el resto de hermanos obteniendo una puntuación según la fórmula: (tamaño del ala/mayor tamaño del ala del nido)*100.

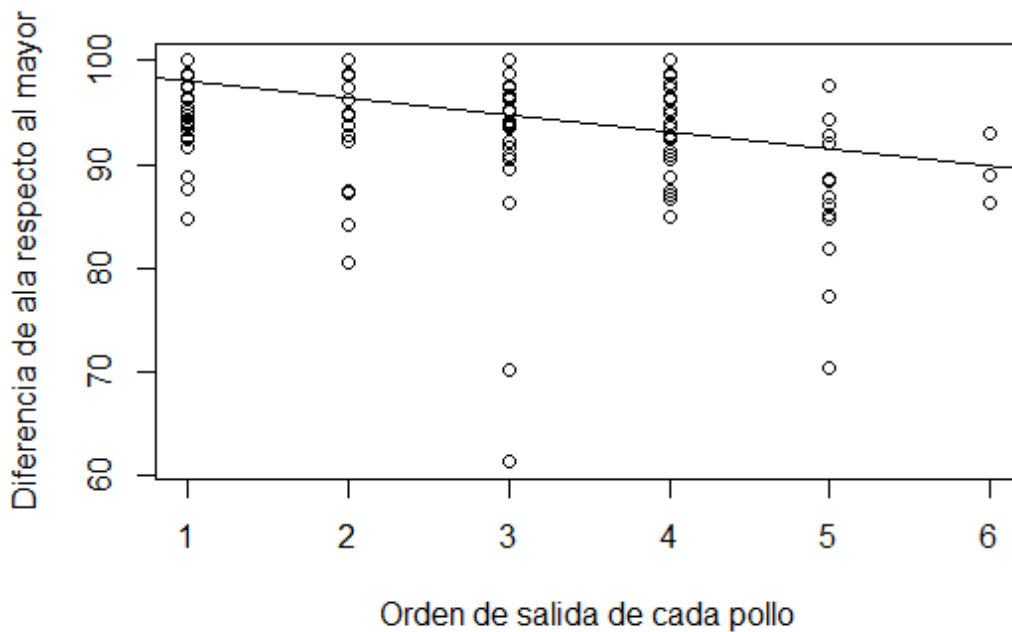


Figura 8: Orden de salida de cada pollo (1-6) en función de la diferencia del tamaño de ala, siendo 100 la puntuación del ala mayor del nido y el resto de hermanos obteniendo una puntuación proporcional según la fórmula: (tamaño del ala/mayor tamaño del ala del nido)*100.

El número de hermanos se asoció de manera positiva con la edad de salto del nido de cada pollo, así como al orden en el que los pollos de cada nidada abandonaron la caja (Tabla 4 y 5). En nidos con polladas mayores aumenta la competencia y la asimetría en el tamaño entre los pollos (Nilsson y Gårdmark, 2001). Contrariamente a lo que propone la hipótesis de la competición entre pollos (Lemes, 1989), encontramos que son los individuos con el ala más grande de cada pollada los primeros en salir. Está competencia no hace que el pollo pequeño abandone el nido por hambre y adelante a sus hermanos, como propone esta hipótesis; al contrario, vuela más tarde y permanece esperando las cebas de los padres en el nido durante el tiempo necesario para alcanzar el tamaño umbral necesario.

Por último, pudimos observar una diferencia en la fecha que los pollos usan la entrada del nido por primera vez en función de la ola de puestas, siendo ésta más tardía en primeras puestas que en el resto (Tabla 6 y Figura 4). Las condiciones en las primeras

puestas suelen ser de comida abundante y climatología favorable, siendo mayor la tasa de cebas de los padres en éstas que en intermedias y segundas (ver Capítulo 2). Estas condiciones favorables pueden propiciar que la comida llegue con prontitud a todos los pollos y que estos no necesiten competir por ocupar la entrada del nido para acaparar las cebas ni exponerse de esta manera a un mayor riesgo de depredación.

En conclusión, nuestros resultados apoyan la hipótesis del umbral de tamaño, siendo el peso y el tamaño del ala las principales variables que favorecen del abandono del nido a una edad más temprana en el estornino negro. El número de pollos presentes en el nido también resultó ser clave, siendo el abandono más tardío en nidadas más grandes. Por último, las diferentes condiciones de las distintas olas de puesta afectaron a la edad a la que los pollos usan la entrada del nido por primera vez. Posiblemente llevados por el hambre, los pollos usaron la entrada del nido de manera significativamente más temprana en intermedias y en segundas, dónde la tasa de cebas es menor que en primeras puestas.

Capítulo 4

Los flotantes machos de estornino negro prefieren visitar nidos de machos con reducido potencial de mantenimiento del recurso

Introducción

Examinar las interacciones entre individuos reproductores y no reproductores es esencial para comprender la dinámica social de los animales y los patrones reproductivos. Los estudios que investigan el comportamiento de individuos no reproductores son particularmente relevantes para aclarar el establecimiento y mantenimiento de jerarquías sociales, las reglas de acceso a recursos y la dinámica de estrategias de apareamiento en poblaciones animales (Moreno, 2016).

En diferentes grupos de animales, la capacidad para adquirir y defender un territorio de reproducción es clave para la reproducción y se conoce como el potencial de mantenimiento de recursos (RHP por sus siglas en inglés) (Kelly, 2008). Los flotantes son individuos sexualmente maduros en una población que no pueden reproducirse debido a su estatus inferior o a su capacidad limitada para obtener un territorio (Stamps y Tollestrup, 1984; Moreno, 2016; Huck y Fernandez-Duque, 2023) y algunos estudios sugieren que estos individuos tienen un RHP más bajo (Smith y Arcese, 1989; Redondo *et al.*, 2022). Los flotantes pueden buscar oportunidades para la reproducción ya sea persiguiendo estrategias alternativas de reproducción o visitando posibles sitios de cría en busca de vacantes (Piper, Lee y Hoover, 2022).

En aves que anidan en cavidades, asegurar un sitio de anidación es un requisito esencial para la reproducción (Newton, 1992). La disponibilidad de cavidades naturales y artificiales suele ser limitada, lo que lleva a una competencia intensa. En varias especies de aves, los individuos no reproductores a menudo visitan nidos activos durante la temporada de cría (Pärt y Doligez, 2003; Parejo *et al.*, 2007; Veiga *et al.*, 2012). Muchos estudios se refieren a este comportamiento como "prospección",

asumiendo que estas visitas permiten a los flotantes recopilar información sobre las condiciones de anidación, los recursos disponibles o las estrategias reproductivas de las parejas reproductoras (Doligez, Danchin y Clobert, 2002; Doligez, Pärt y Danchin, 2004; Veiga *et al.*, 2012). Esta estrategia es útil cuando hay una variación importante en la calidad del hábitat, ya que la condición de los polluelos podría actuar como un indicador de la cantidad de recursos en la zona (Doligez, Danchin y Clobert, 2002). Otra posibilidad es que las visitas a los nidos por parte de los flotantes puedan tener un propósito más directo, como intentar obtener beneficios de aptitud directa a través de la paternidad extrapareja (EPP según sus siglas en inglés) o el parasitismo de cría intraespecífico (Celis, Graves y Gil, 2021). Alternativamente, especialmente después de la puesta de los huevos, el comportamiento de prospección puede utilizarse para evaluar la aptitud del competidor y derivar en un intento de sabotaje o suplantación (Smith, 1978; Piper, Lee y Hoover, 2022). En algunas especies, como el estornino negro, el sabotaje y la toma de control de nidos por ambos sexos son eventos frecuentes (Polo y Veiga, 2006), a menudo involucrando peleas que pueden llevar a la muerte de uno de los pájaros (Fig. 1). Además, los nidos de hembras secundarias de machos polígamos a menudo están pobremente defendidos y se convierten en un blanco fácil para los flotantes de ambos sexos (Moreno *et al.*, 1999).

Si los flotantes utilizan las visitas a los nidos para recopilar información sobre la calidad de los reproductores, podríamos esperar que los nidos atendidos por individuos de baja calidad sean visitados con mayor frecuencia que aquellos defendidos por aves de alta calidad. Para probar esta hipótesis, realizamos un experimento para verificar si los flotantes visitan nidos en función de su probabilidad de tener éxito en la usurpación de un nido. Mediante el corte de un par de plumas primarias en cada ala (Soler *et al.*, 2008) buscamos provocar un hándicap en los propietarios machos y hembras, manipulando así su condición corporal y su RHP. Esperábamos que los flotantes detectaran la diferencia entre los propietarios con plumas cortadas y los controles, aumentando la prospección de nidos en los que los propietarios fueron manipulados. Preveíamos un efecto específico del sexo, con los individuos con plumas cortadas atrayendo un mayor número de flotantes de su propio sexo, así como un mayor número de visitas por flotante.



Figura 1: Fotografías de machos (A) y hembras (B) reproductores luchando contra un individuo flotante del mismo sexo en las semanas previas a la puesta de huevos. En estos casos, las aves son fácilmente atrapadas con las manos porque ninguna de ellas suelta al otro pájaro.

Como ya he mencionado, nuestra población de estornino negro lleva siendo monitoreada con tecnología RFID desde 2013 de manera intensiva. Al ser una especie de ave altamente social que anida en cavidades secundarias (es decir, agujeros en los árboles contruidos por otras especies) la competencia por estas cavidades es alta. Ambos sexos son sexualmente maduros a partir de su primer año de edad, aunque debido a la alta competencia por los nidos, la mayoría de los machos crían por primera vez en su segundo o tercer año, mientras que las hembras lo hacen en su primer o segundo año (Redondo *et al.*, 2022). Esta situación crea un escenario con un gran número de flotantes (aproximadamente el doble de flotantes que de machos reproductores y el mismo número de flotantes hembras que de hembras reproductoras, datos no publicados), lo que es altamente adecuado para estudiar las estrategias de comportamiento de los flotantes.

Materiales y métodos

Como ya he mencionado, nuestra población de estudio consta de 250 cajas nido instaladas en un bosque abierto en Soto del Real (Madrid, España), estando todas las cajas nido ocupadas. Los nidos están dispersos en el bosque, con una densidad de 3.72 cajas/Ha, y la distancia promedio a la caja más cercana es de 22.1 m entre sí (DE = 8.7). El experimento se llevó a cabo en marzo de 2020. Aproximadamente un mes antes de la

puesta, capturamos y marcamos adultos con una anilla metálica y un transpondedor RFID subcutáneo. Seguimos la metodología de captura descrita en Materiales y Métodos, capturando aves temprano en la mañana, ya sea bloqueándola entrada de los nidos antes de que las aves salieran o capturándolas con trampas de resorte dentro de la caja. Al final del período de captura de adultos (marzo), la mayoría de los adultos reproductores (>90%) estaban equipados con transpondedores, al igual que un gran número de flotantes que capturamos en las cajas mientras prospectaban, o que fueron marcados con transpondedor como polluelos en los dos años anteriores del estudio (1176 polluelos en 2018 y 1191 en 2019).

Asignamos aleatoriamente los nidos a uno de los dos tratamientos de corte de plumas (macho o hembra) o al grupo de control, equilibrando los tratamientos para machos y hembras, y dejando a ambos miembros de la pareja sin manipulación en el grupo de control. El tratamiento consistió en cortar las cuarta y quinta plumas primarias de cada ala en su base con un cortaúñas (Soler *et al.*, 2008). En los tratamientos de corte de plumas solo se cortó a uno de los miembros de la pareja, nunca a ambos miembros. Las aves en el grupo de control fueron manejadas de manera similar, pero su plumaje se dejó intacto. Las capturas se realizaron en promedio 30.3 días (DE = 9.6) antes de que se pusiera el primer huevo en la colonia. Demostramos con anterioridad que, después de controlar el peso corporal previo a la puesta, las hembras con plumas cortadas eran pesaban menos que los controles durante la incubación (los machos no pudieron ser capturados en este momento) (D'Arpa *et al.*, 2022). Estudios previos que utilizaron la misma manipulación encontraron una reducción de la masa corporal en ambos sexos (Møller *et al.*, 1995; D'Arpa *et al.*, 2022). El tamaño de la muestra fue de 24 nidos de control, 19 nidos con hembras de plumas cortadas y 25 con machos de plumas cortadas. Algunas de las puestas sufrieron sabotajes o depredación antes de la etapa de polluelos, y en algunos nidos los lectores no funcionaron, por lo que nuestro tamaño final de muestra para los datos de visitas se redujo a 17 machos de plumas cortadas, 12 hembras de plumas cortadas y 15 parejas de control.

Después de la manipulación, realizamos el seguimiento de los nidos para determinar la eclosión, unos 11 días después de que se puso el último huevo. Las visitas se monitorearon con tecnología RFID para detectar las visitas de flotantes y medir las

tasas de cebas de los padres. Utilizamos lectores (Trovan LID650) según lo descrito por Redondo et al. (Redondo *et al.*, 2022), que detectan los transpondedores cuando el ave introduce completamente su cuello dentro de la caja (ver materiales y métodos generales). Dado que los flotantes tienden a mostrar una mayor actividad de prospección durante la etapa de pollos que en la incubación (Veiga *et al.*, 2012), monitoreamos los nidos durante la etapa de pollos. Entre las edades de 10 a 14 días de vida de los pollos configuramos los lectores para que funcionaran desde las 07:00 a.m. hasta las 8:00 p.m. En los nidos equipados con una estación de monitoreo continuo (ver materiales y métodos generales), configuramos los lectores para que funcionaran durante todo el período de pollos (1 a 18 días de edad) pero solo desde las 07:00 a.m. hasta las 2:00 p.m. debido a restricciones de energía. Los resultados no cambian cualitativamente si restringimos el análisis a datos recopilados entre los 10 y 14 días de edad, por lo que decidimos usar todos los datos para los análisis.

Calculamos para cada día y nido el número de individuos diferentes y el número total de visitas por nido. Definimos como flotante a cualquier individuo que no estuviera criando durante el tiempo cubierto por las lecturas (esto incluía principalmente flotantes durante todo el año, pero también algunas aves que habían perdido su puesta y flotantes que se convirtieron en reproductores en segundas puestas). También calculamos las tasas de cebas de las parejas propietarias de los nidos del experimento. Como vimos en el Capítulo 1, utilizamos un filtro de corte de 8 segundos entre lecturas consecutivas del mismo pájaro para registrar la tasa de cebas de los padres sin comprometer así la detección del número de visitas de los flotantes. Es probable que los flotantes pasaran más tiempo por visita que los reproductores, y, por lo tanto, nuestra estimación del número de visitas se puede considerar como el tiempo de visita en este caso. Debido a las diferencias en los tiempos de operación del lector o la batería, calculamos para cada nido y día el tiempo transcurrido entre la primera y la última detección de cualquier ave, y asumimos que el lector había funcionado continuamente durante este tiempo.

Análisis estadístico

Todos los análisis se realizaron en el lenguaje R v. 4.2.2 (R Core Team, 2020). Evaluamos si el tratamiento (control, macho de plumas cortadas o hembra de plumas cortadas) influía en el número de flotantes machos y hembras que visitaban cada nido, así como en el número de visitas realizadas por flotantes machos y hembras por nido. También incluimos como covariables escaladas: (1) la cantidad de tiempo que los lectores trabajaron en cada nido, ya que se espera que el número de detecciones aumente linealmente con el tiempo de grabación; (2) el número total de visitas parentales, ya que esperamos que los nidos con tasas de cebas más altas sean más detectables; y (3) el tamaño y la edad de los pollos, ya que los nidos son más fáciles de detectar cuando los polluelos realizan el comportamiento de petición en ausencia de los padres con el aumento de la edad (Bulmer, Celis y Gil, 2008). Los análisis se realizaron por separado para cada sexo.

Utilizamos el paquete glmmTMB (Brooks, 2023) para construir modelos mixtos generalizados lineales (GLMM). Los modelos sobre el número de flotantes machos o hembras que visitaron cada nido se ajustaron utilizando una distribución de Poisson inflada de ceros y una distribución de Poisson, respectivamente, después de elegir la puntuación AIC más baja y un ajuste DHARMA óptimo. Los modelos sobre el número de visitas realizadas por flotantes machos y hembras se ajustaron utilizando una distribución de Poisson inflada de ceros para ambos sexos, después de restar 1 a cada dato. Todos los modelos incluyeron la identidad del nido y la identidad del flotante como efectos aleatorios. La normalidad y la homocedasticidad se verificaron inspeccionando los residuos del modelo utilizando DHARMA (Hartig y Lohse, 2022).

Resultados

Número de visitantes

El número de flotantes machos fue mayor en aquellas cajas nido donde el propietario macho tenía las plumas cortadas en comparación con los nidos de control (Tabla 1, Figura 1). El número de flotantes machos aumentó con el tiempo de grabación y el número de cebas de los padres, y se incrementó con la edad de los polluelos (Tabla 1).

Las polladas más grandes tenían más probabilidades de ser visitadas (componente inflado de ceros del modelo) por flotantes machos, pero no hubo una relación positiva entre el número de visitantes y el tamaño de la puesta (componente condicional del modelo).

En el caso de las flotantes hembras, no encontramos diferencias en el número de aves que visitaban las cajas nido en relación con el tratamiento (Tabla 1). Al igual que en los machos, la duración del período de grabación y el número de visitas realizadas por los padres tuvieron una influencia positiva en el número de flotantes hembras (Tabla 1).

	Machos (Poisson inflada de ceros)		Hembras (Poisson)
	Parte inflada de ceros	Parte condicional	
Efectos aleatorios			
Evento (Intercepto)	3.21e-0.8 (<0.001)	0.165 (0.406)	0.206 (0.454)
Efectos fijos			
Intercepto	- 8.375 (3.224) ***	0.277 (0.160) *	- 0.941 (0.215) ***
Tratamiento hembra	1.454 (1.745)	0.237 (0.208)	0.057 (0.285)
Tratamiento macho	1.924 (1.753)	0.408 (0.193) **	0.275 (0.257)
Edad	- 2.810 (0.830) ***	0.246 (0.081) ***	0.097 (0.128)
Duración	- 1.605 (1.540)	0.190 (0.095) **	0.560 (0.161) ***
Tamaño de puesta	- 2.500 (1.072) **	- 0.036 (0.083)	0.010 (0.111)
Tasa de cebas	- 2.650 (1.603)	0.282 (0.085) ***	0.214 (0.124) *

Tabla 1. Efectos del tratamiento, la edad, la duración, el tamaño de puesta y la tasa de cebas en el número de visitantes flotantes machos (izquierda) y hembras (derecha) a nidos de congéneres. Las cifras para el efecto aleatorio representan la varianza más la desviación estándar entre paréntesis. Para los efectos fijos, las cifras representan la estimación y el error estándar.

Número de visitas

El número de visitas realizadas por flotantes machos aumentó a medida que disminuyeron las visitas del propietario macho (Tabla 2). En el caso de las hembras, el número de visitas realizadas por flotantes hembras fue mayor en aquellas cajas nido donde los polluelos eran más jóvenes (Tabla 2). No detectamos ningún efecto de los tratamientos realizados en ambos sexos en el número de visitas realizadas por los

flotantes (Tabla 2).

	Machos		Hembras	
	Parte inflada de ceros	Parte condicional	Parte inflada de ceros	Parte condicional
Efectos aleatorios				
Evento (Intercepto)	0.022 (0.167)	0.152 (0.390)	3.53e-08 (<0.001)	0.489 (0.699)
ID macho (Intercepto)	0.553 (0.742)	0.332 (0.576)	4.73e-01 (0.698)	0.755 (0.869)
Efectos fijos				
Intercepto	- 2.380 (0.423)	1.203 (0.14)***	- 3.290 (0.936)	0.670 (0.288) *
Tratamiento hembra	0.038 (0.491)	- 0.051 (0.181)	1.654 (0.949)	- 0.116 (0.405)
Tratamiento macho	0.227 (0.452)	- 0.223 (0.171)	0.636 (0.888)	- 0.032 (0.325)
Edad	0.370 (0.208)	0.012 (0.033)	- 0.175 (0.276)*	- 0.203 (0.090) *
Duración	- 0.097 (0.255)	0.057 (0.042)	1.171 (0.584)	- 0.371 (0.099)
Tamaño de puesta	0.359 (0.208)	- 0.118 (0.069)	0.286 (0.376)	- 0.017 (0.135)
Tasa de cebas	-0.006 (0.261)	- 0.103 (0.04)*	- 0.458 (0.449)	0.088 (0.096)
*** p < 0.001; ** p < 0.01, * p < 0.05				

Tabla 2. Efectos del tratamiento, la edad, la duración, el tamaño de puesta y las visitas parentales en el número de visitas realizadas por los visitantes flotantes machos (izquierda) y hembras (derecha) a nidos de congéneres. Las cifras para el efecto aleatorio representan la varianza más la desviación estándar entre paréntesis. Para los efectos fijos, las cifras representan la estimación y el error estándar.

Éxito de puesta

Los nidos en esta población muestran niveles relativamente altos de fracaso debido a sabotajes, depredación o abandono. En este estudio, el 29.1% de las camadas de control no lograron que los polluelos volaran. Este porcentaje no fue diferente entre los tratamientos (GLM, enlace binomial, $X^2 = 2.63$, $P = 0.268$), aunque fue menor para el tratamiento masculino (16%) que para el tratamiento femenino (36%).

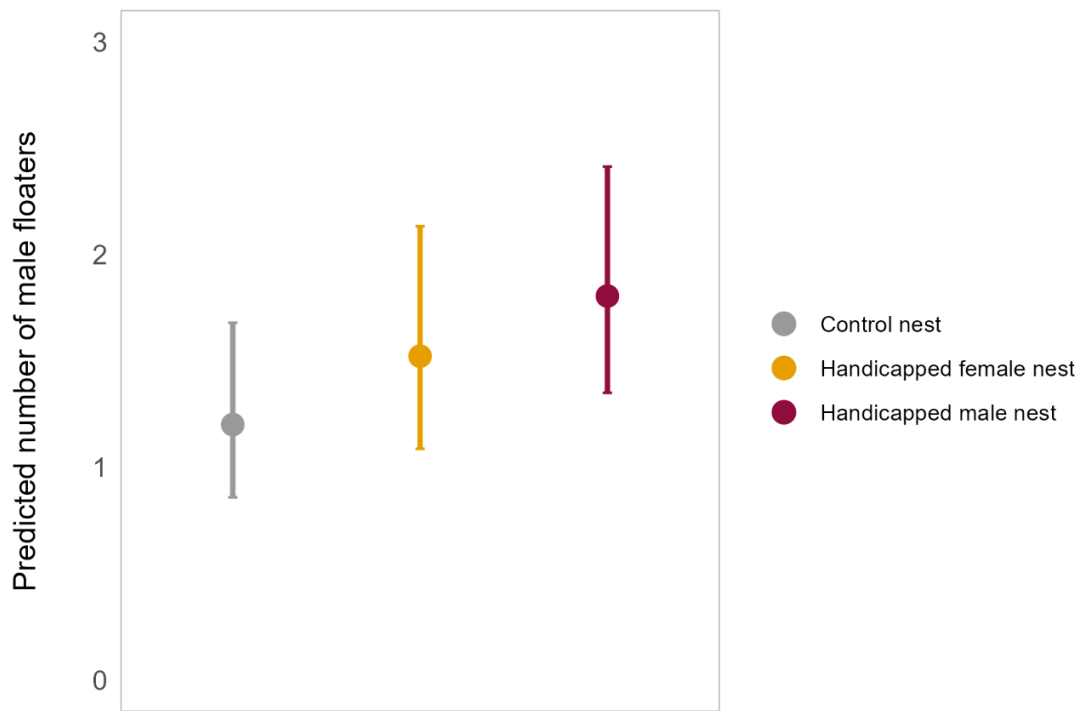


Figura 2: Número predicho de machos flotantes que visitan cajas nido, derivado de un modelo GLMM de Poisson inflado de ceros para los tres grupos experimentales. Los puntos representan el valor predicho por el modelo y las líneas verticales representan el intervalo de confianza del 95%.

Discusión

Nuestro conocimiento de la dinámica territorial en muchas especies de aves está fuertemente sesgado hacia el comportamiento de los propietarios, mientras que los flotantes, que son actores clave en los conflictos territoriales, suelen ser pasados por alto. Al reducir experimentalmente el rendimiento de vuelo y la condición de los reproductores de ambos sexos (D'Arpa *et al.*, 2022), probamos si los flotantes machos y hembras prospectaban preferentemente nidos defendidos por reproductores con un RHP reducido. Encontramos que este era el caso para los flotantes machos, ya que los nidos en los que el propietario macho se le habían cortado las plumas atraían a un mayor número de flotantes machos que los nidos de control. Este patrón refuerza la idea de que los flotantes no prospectan nidos al azar (Piper, Lee y Hoover, 2022). La intrusión de flotantes en nidos ajenos a menudo resulta en peleas entre el propietario y el flotante (Veiga *et al.*, 2012), lo que sugiere que la prospección puede dar lugar a la usurpación de nidos. De hecho, en nuestra población de estudio, la propiedad del nido

puede cambiar entre la primera y la segunda puesta (30% de cambios, datos no publicados), y las nuevas aves son invariablemente flotantes. Los nidos con puestas más grandes eran más propensos a ser visitados por flotantes machos, aunque no hubo efecto en el número de visitantes. Esto sugiere que los flotantes machos prefieren los nidos con un mayor éxito reproductivo (Doligez, Danchin y Clobert, 2002).

Nuestro experimento sugiere que los flotantes son capaces de evaluar la condición y el rendimiento de vuelo de los propietarios que visitan y prefieren los nidos pertenecientes a individuos con un RHP más bajo, lo que podría aumentar sus posibilidades de tomar posesión de un nido. Los individuos con las plumas cortadas ganaron menos peso que las aves de control (D'Arpa *et al.*, 2022), probablemente porque el procedimiento de corte de las plumas resulta en una reducción de la carga alar lo cual aumenta los costes de vuelo (Chai, 1997; Tomotani *et al.*, 2018). Por lo tanto, es posible que estas aves sean menos capaces de defender sus nidos contra un potencial intruso.

¿Qué señales externas podrían utilizar los flotantes para detectar el RHP reducido de las aves experimentales? Encontramos que la tasa de visitas a los nidos realizadas por los propietarios fue un predictor positivo del número de visitantes, como se ha mostrado anteriormente en otros estudios (Doligez, Pärt y Danchin, 2004; Parejo *et al.*, 2008; Veiga *et al.*, 2012), lo que sugiere que los flotantes observan a los propietarios y que los nidos con muchas visitas son más fáciles de localizar. Sin embargo, no hubo diferencias en la tasa de cebas del propietario macho o hembra en relación con el tratamiento (Casquero *et al.*, en preparación). Podemos especular que la manipulación puede haber causado diferencias en la forma en que las aves vuelan, probablemente recordando a un ave con plumaje dañado, lo que indica un RHP más bajo. Curiosamente, no detectamos un mayor número de visitas por flotante en los nidos propiedad de machos con las plumas cortadas, sino un efecto negativo del número de visitas del propietario. Esto sugiere que los flotantes machos son expulsados pasiva o activamente por los propietarios machos, y que los flotantes perseveran solo en nidos que están pobremente vigilados.

En contraste con los machos, no encontramos efecto del tratamiento en las visitas de flotantes hembras. Esperábamos el mismo patrón que en los machos porque

la hembra reproductora también puede cambiar entre la primera y la segunda puesta. Sin embargo, el número de hembras que detectamos como flotantes fue considerablemente menor que en el caso de los machos (164 hembras frente a 504 machos flotantes), lo que lleva a una menor potencia para detectar un efecto en el experimento. Una posibilidad adicional es que las hembras prefieran otros períodos de la temporada de cría para la prospección, por ejemplo, durante la fase de puesta de huevos, cuando ocurren frecuentemente eventos de parasitismo intraespecífico de puestas y sabotajes de nidos (Celis, Graves y Gil, 2021).

En conclusión, gracias al uso de la tecnología RFID hemos podido profundizar en el conocimiento de los flotantes demostrando con nuestros resultados que los flotantes machos no prospectan nidos al azar, sino que visitan preferentemente nidos con propietarios que tienen más probabilidades de ser desplazados (Piper, Lee y Hoover, 2022). Nuestros resultados son consistentes con la hipótesis de que los flotantes prospectan activamente nidos teniendo en cuenta sus posibilidades de asentamiento futuro (Smith, 1978; Piper, Lee y Hoover, 2022)(Smith, 1978; Piper, Lee y Hoover, 2022).

Discusión integradora

La tecnología RFID es cada vez más usada en biología para identificar individuos, y así estudiar distintos aspectos de la ecología y comportamiento de los animales. Sin embargo, es necesaria una validación de esta tecnología para cada especie en el estudio de ciertos aspectos concretos, como ha sido puesto de manifiesto en la literatura (Iserbyt *et al.*, 2018; Hughes, Mady y Bonter, 2021b)

El objetivo de esta tesis es evaluar el uso de esta tecnología para el estudio de las aves y más concretamente del estornino negro, y demostrar que puede ser una gran herramienta con un gran abanico de posibilidades a la hora de estudiar la ecología y el comportamiento del estornino negro. En la primera parte de la tesis se validó el uso de RFID para calcular la tasa de cebas de los padres y posteriormente se usó para estudiar otros aspectos menos conocidos de la biología de esta especie como como el proceso de abandono del nido por parte de los pollos y el comportamiento de prospección en nidos por parte de los individuos flotantes.

Validación y tasa de cebas

Aunque los transpondedores se vienen usando desde hace tiempo para realizar estudios de cuidado parental, el número de estudios de validación de la tecnología RFID son escasos. El problema fundamental consiste en estimar el número de visitas reales, filtrando para ello las detecciones consecutivas de un mismo transpondedor que en realidad corresponden a una misma visita. Para ello, es necesario disponer del cálculo del tiempo de duración de una visita, de manera que todas las detecciones obtenidas dentro de ese tiempo puedan ser eliminadas. Para ello, muchos estudios eligen utilizar un tiempo arbitrario de corte entre detecciones consecutivas (por ejemplo, Garcia-Navas, Ortego y Sanz, 2009), pero estudios como los de Hughes, Mady, & Bonter (2021) e Iserbyt, Griffioen, Borremans, Eens, & Müller (2018) proporcionan una metodología de más fiabilidad. En concreto, proponen conjugar las distribuciones de frecuencia de las duraciones de visitas, y de intervalos entre visitas, y calcular el punto que maximiza la diferencia entre estas dos distribuciones. En esta tesis hemos querido utilizar este marco, y además dar un paso más para determinar las variaciones temporales relevantes para el uso de los transpondedores en aves.

En el Capítulo 1 conjugamos el uso de cámaras de video con el uso de la tecnología RFID para determinar la duración de las visitas y poder ajustar las lecturas consiguientemente. En especies con cuidado biparental, ambos sexos se involucran en la alimentación de los pollos, pero esto no quiere decir que lo hagan de forma equitativa (Gross, 2005). El estornino negro es una especie que presenta cuidado biparental (Moreno *et al.*, 1999; Veiga, Polo y Viñuela, 2006; García-Vigón, Veiga y Cordero, 2009) (ver también el Capítulo 2) aunque son las hembras las que suelen invertir más en la crianza de los pollos, cebando generalmente más que los machos (Moreno *et al.*, 1999) (ver también el Capítulo 2). Las observaciones realizadas con cámaras mostraron que estas diferencias en el cuidado parental se tradujeron en duraciones diferentes de visitas, lo que llevó a realizar un ajuste distinto para machos y para hembras (Capítulo 1).

Al involucrarse más las hembras de estornino negro en el cuidado parental realizan visitas al nido significativamente más largas que los machos, los cuales generalmente solo entran a cebar (Capítulo 1). Esto hace que a la hora de distinguir la entrada y la salida de un evento de ceba por parte de la hembra haya que aplicar un punto de corte más largo que en el caso de los machos. Este aspecto es importante a la hora de trabajar con datos RFID porque los lectores no son direccionales, es decir, no distinguen entradas de salidas. Para ello se calculó el tiempo medio que dura la ceba, y el tiempo entre cebas. De esta manera pudimos calcular un punto óptimo donde se minimizaban los falsos negativos y positivos, y así poder filtrar los datos recogidos en el lector. Esto supone una estima ajustada, que evita tanto la sobreestima o la subestima de la tasa de cebas.

Finalmente encontramos que el filtro que mejor se ajustaba en el caso de las hembras fue de 64 segundos y en el caso de los machos de 37 segundos (Capítulo 1). Esto refleja la diferencia en el cuidado parental entre machos y hembras de estornino negro, invirtiendo significativamente más tiempo por visita al nido las hembras que los machos (Capítulo 1) así como cebando significativamente más (Capítulo 2).

Otro aspecto a tener en cuenta para calcular la tasa de cebas es la edad de los pollos a la que se toman los datos. Al ser el estornino negro una especie con desarrollo altricial las crías necesitan ser empolladas en sus primeras etapas del desarrollo al no

ser capaces de termorregular por ellas mismas (Clark, 1985). En estas fases tempranas donde los pollos tienen menos de 4 días de vida la correlación entre las cebas observadas y las registradas por el lector es más baja que en edades más avanzadas, en especial en el caso de las hembras (Capítulo 1). En esta fase del desarrollo las visitas se reparten entre distintas actividades como son alimentar y dar calor a la nidada, produciéndose visitas para cebar que se alargan, lo que lleva a que una entrada y una salida de una misma visita sea computada como dos visitas, o visitas que no son cebas, que son clasificadas como tales. Otro aspecto importante a tener en cuenta es el uso de la entrada del nido cuando los pollos son mayores. El diseño de nuestro sistema RFID tiene la antena colocada en la entrada de la caja, y esto hace que los pollos marcados con transpondedores (Materiales y métodos generales) sean detectados por el lector cuando se asoman a la entrada del nido. Los pollos pueden ocupar la entrada del nido para interceptar las cebas traídas por los padres y obtener ventaja competitiva respecto a sus hermanos (Johnson *et al.*, 2013), y éste comportamiento se ha comprobado en distintas especies como el carbonero común (Lemes, 1989), el vencejo común (Martins, 1997) o en el estornino pinto (A. Kacelnik *et al.*, 1995). En esta tesis se ha observado que los pollos empiezan a sacar la cabeza a día 15 (Capítulo 3) por lo que ocupan la antena y el lector, impidiendo así que se detenten las entradas de los padres. Por este motivo se descartó el uso de las lecturas RFID a estas edades. Encontramos que la mejor correlación de cebas observadas y detectadas se encontró entre el día 5 y el día 10 de edad de los pollos con un porcentaje de asignaciones correctas del 96% en machos y 80% en hembras (Capítulo 1). A esta edad los pollos son capaces de termorregular (Ricklefs, 1979) por ellos mismos, siendo muy escasas las visitas por parte de los padres para dar calor a los pollos. Por otro lado, a esta edad la demanda de comida por parte de los pollos es mayor, aumentando así la tasa de cebas (Capítulo 2).

Una vez validado el uso de RFID para el estudio de la tasa de cebas en ésta especie, el análisis de la tasa de cebas del Capítulo 2 mostró importantes diferencias entre machos y hembras en función del número y la edad de los pollos, la hora del día y la ola de puesta (Capítulo 2). Al ser una población que realiza dos puestas seguidas, se dibuja asimismo un escenario con climatología y recursos cambiantes entre las primeras

puestas y las segundas, así como en lasuestas intermedias o de reposición (Capítulo 2).

Las hembras cebaron más que los machos en todas las olas de puestas. Los machos se encargan de la obtención y defensa del nido por lo que invertir más en este aspecto que en la tasa de cebas podría hacer aumentar su éxito reproductivo (Veiga, Polo y Viñuela, 2006; Mainwaring y Hartley, 2013). Estas diferencias se ven acentuadas en segundas puestas, lo cual puede explicarse por las temperaturas más altas y por la menor disponibilidad de comida. En estas circunstancias donde las probabilidades de éxito disminuyen, es esperable que el sexo con menor certidumbre de paternidad disminuya la inversión, como es el caso de los machos. Así mismo, en esta época de temporada reproductora hemos observado a machos iniciando la muda lo que se ha visto relacionado con una menor tasa de cebas en otras especies (Hemborg y Lundberg, 1998). A todo esto, habría que sumarle el coste de haber realizado una primera puesta anteriormente (Linden y Møller, 1989; Velando, 2013; Dale, 2016).

La tasa de cebas de ambos sexos en las tres olas de puesta siguió un patrón cuadrático respecto a la edad de los pollos, aumentando con la edad de los pollos hasta alcanzar el máximo entorno a los 10 días de edad y disminuyendo posteriormente, ajustando así la tasa de cebas a la tasa de crecimiento de los pollos (Ricklefs, 1979). Tanto hembras como machos aumentaron la tasa de cebas al aumentar el número de pollos, ajustando así su comportamiento al tamaño de puesta en todas las olas de puesta. Sin embargo, el tamaño de efecto del número de pollos fue mayor en puestas intermedias posiblemente debido a que para esas parejas es la única puesta que realizan en ese año. Aunque ambos sexos modularon la tasa de cebas según el número de pollos lo hicieron de manera distinta tanto en intermedias como en segundas puestas. Las hembras no fueron tan sensibles al número de pollos como los machos, donde observamos una mayor inversión en puestas grandes que en pequeñas, sobre todo en segundas puestas (Figura 8, Capítulo 2). Dado que son las hembras las que invierten más que los machos, es posible que su inversión se encuentra ya en unos niveles muy altos, lo que mostraría que los machos solo invierten de forma intensiva cuando el número posible de pollos supervivientes es alto. Al haber grandes diferencias tanto ambientales como en el éxito reproductivo entre primeras y segundas puestas (Gil *et al.*, 2008) es

posible que este efecto se vea exagerado en el caso de las segundas, cuando los machos invierten una menor cantidad de recursos.

El patrón circadiano de la tasa de cebas fue el mismo para machos que para hembras, aunque este patrón no fue el mismo en las distintas olas de puesta. En Primeras puestas e intermedias se observó un patrón cuadrático teniendo el pico de cebas al amanecer para descender en las horas centrales del día y terminar aumentando levemente antes del anochecer. Este pico de cebas al amanecer ha sido observado en el herrerillo común (García-Navas y Sanz, 2012) en una población mediterránea mientras que en otras especies no se han observado diferencias a lo largo del día (Moreno *et al.*, 1995; Verhulst y Tinbergen, 1997; Barba *et al.*, 2009). Estas diferencias encontradas en nuestra población podrían deberse a un ajuste de las aves a las posibilidades de éxito de captura de alimento durante la cría. La dieta del estornino durante la crianza de los pollos mayormente insectívora (S. J. Peris, 1980). Aunque estas presas suelen tener mayor actividad en las horas centrales del día haciéndolas posiblemente más detectables, es posible que al amanecer la capacidad de captura de las mismas sea más elevada. Aunque no tenemos datos, otros autores destacan la influencia de la probabilidad de depredación en la tasa de cebas a lo largo del día (Rastogi, Zanette y Clinchy, 2006). Aunque solo podemos especular sobre las razones de este patrón circadiano, destaca el hecho del paralelismo entre las tasas de machos y hembras, que sugiere un alto grado de coordinación de actividades.

Los resultados obtenidos en el Capítulo 1 y 2 nos muestran las posibilidades de la tecnología RFID para el estudio del cuidado parental y más concretamente para el cálculo de la tasa de cebas. Con nuestros resultados del Capítulo 1 validamos un marco de estudio en nuestra especie y determinamos las condiciones necesarias que pueden servir de guía y herramienta para extrapolar el uso de la tecnología RFID al estudio de otras especies.

Tecnología RFID y fecha de salto del nido en el estornino negro

Siguiendo la biología reproductora del estornino negro, la tecnología RFID nos ha permitido estudiar el proceso del abandono del nido en estornino negro (Capítulo 3). Aunque este proceso está relativamente poco estudiado se han propuesto cuatro

hipótesis principales que podrían explicarlo. La primera es la hipótesis de manipulación parental en la que se plantea que los padres podrían influenciar el salto del nido mediante un cambio en su comportamiento (Meinertzhagen, 1954; Rowan, 1955; Walker, 1972; Bustamante y Hiraldo, 1990; Michaud y Leonard, 2000). La segunda es la hipótesis del tamaño umbral, en la que se predice que el salto del nido se produce cuando los pollos alcanzan un tamaño mínimo (Nilsson y Svensson, 1993; Johnson, Rauch y Dellone, 2004; Radersma, Tinbergen y Komdeur, 2011; Johnson *et al.*, 2013). La tercera es hipótesis de competición entre pollos, y propone que uno de los pollos intermedios sea el primero en saltar para interceptar cebas fuera del nido (Lemes, 1989) o para buscar comida por el mismo (Martins, 1997). Por último, la hipótesis de la selección de parentesco, en la que el hermano mayor retrasaría su salida del nido con el fin de aprovechar cebas dirigidas a sus hermanos menores (Freed, 1988). No todas estas hipótesis son mutuamente excluyentes.

Al igual que en Johnson *et al.* (2013), nosotros usamos la tecnología RFID para estudiar el proceso de abandono del nido en el estornino negro. Esta tecnología nos permite estudiar este proceso sin interferir en el comportamiento natural de los pollos. Al tener la antena en la entrada del nido (Ver Materiales generales) pudimos registrar la primera vez que asomaban la cabeza fuera del nido, así como el momento de abandono del nido mediante el último registro de cada pollo.

Los resultados del Capítulo 3 mostraron que a nivel de nido ninguna de las variables morfológicas medidas predijo el primer día que el primer pollo abandona el nido. Esto contrasta con el hecho de que el tamaño de nidada y la diferencia de peso en la nidada estén relacionados positivamente con el último día de salto del nido y con intervalo de tiempo entre el salto del primer y último pollo. Esto sugiere que los primeros pollos en abandonar del nido lo hacen independientemente del número de hermanos y de las diferencias de tamaño con ellos. Algunos estudios han sugerido que los pollos más grandes podrían retrasar su salida del nido (Bowers, Sakaluk y Thompson, 2013; Santema *et al.*, 2021) pero los resultados del Capítulo 3 parecen no apoyar esta teoría ya que las puestas con menor desarrollo medio y más diferencia entre los hermanos tienden a saltar del nido más tarde, lo que podría sugerir que hace falta un tamaño mínimo de los pollos para poder abandonar el nido (Lemel, 1989).

Al analizar el salto del nido a nivel de pollos, los resultados del Capítulo 3 también sugieren que hay unas limitaciones morfológicas a la hora de poder abandonar el nido (Hipótesis del tamaño umbral). Encontramos que los pollos con el ala más pequeña tienden a volar más tarde y a abandonar el nido en puestos más retrasados respecto al orden de salida de su nidada. Nilsson y Gårdmark (2001) demostraron que los pollos más pequeños priorizaron el desarrollo del ala frente a otras estructuras para no quedar rezagados, indicando la importancia del tamaño del ala en los pollos. Sin embargo, no encontramos relación morfométrica con el día que ocupan por primera vez la entrada del nido, lo que podría indicar que este comportamiento podría estar influenciado por el hambre y no por el tamaño de los pollos para alcanzar la entrada del nido (Smith y Montgomerie, 1991; A. Kacelnik *et al.*, 1995; Kölliker y Richner, 2004; Porkert y Špinka, 2006). En consonancia con esto, encontramos que los pollos en primeras puestas sacan la cabeza por primera vez significativamente más tarde que en intermedias y segundas puestas. Como ya hemos mencionado en el Capítulo 2, las primeras puestas tienen una mayor tasa de cebas y la comida es más abundante que en el resto. Esto apoya que los pollos ocupen la entrada del nido por hambre (Smith y Montgomerie, 1991; A. Kacelnik *et al.*, 1995; Kölliker y Richner, 2004; Porkert y Špinka, 2006) ya que en primeras puestas donde la tasa de cebas es mayor (Capítulo 2) es esperable que los pollos retrasen el uso de la entrada del nido respecto a intermedias y segundas.

La tecnología RFID nos ha permitido explorar el proceso de salto del nido en el estornino negro y los resultados obtenidos en el Capítulo 3 apoyan la hipótesis del tamaño umbral como explicación más plausible del proceso de abandono del nido. Los nidos con mayor desigualdad de peso y mayor número de pollos saltaron significativamente más tarde y con un intervalo de días entre el primer y último pollo significativamente mayor. Asimismo, los pollos con el ala más pequeña y con mayor número de hermanos saltaron significativamente más tarde y en posiciones más retrasadas respecto al orden de salto de sus hermanos.

Comportamiento de prospección de los flotantes detectado por RFID

Denominamos flotantes a individuos sexualmente maduros en una población que no pueden reproducirse debido a su estatus inferior o a su capacidad limitada para obtener un territorio (Stamps y Tollestrup, 1984; Moreno, 2016; Huck y Fernandez-Duque, 2023). El hecho de que los flotantes no tengan un territorio fijo los hace muy difíciles de estudiar (Moreno, 2016). Suelen hacer incursiones en territorios de individuos reproductores de su especie en busca de potenciales sitios de cría o vacantes territoriales (Walter H Piper, Lee y Hoover, 2022) que se denominan de incursiones de prospección, lo cual da una pequeña oportunidad para poder estudiarlos. En especies sociales y que crían en cavidades como es el estornino negro, la tendencia a la prospección permite una buena oportunidad para estudiar el comportamiento y la ecología de los individuos flotantes mediante el uso de RFID.

Este comportamiento de prospección activa de territorios o nidos donde criar se ha propuesto como un mecanismo de obtener información pública sobre recursos disponibles, éxito de puesta o sobre la estrategia reproductiva de los propietarios (Doligez, Danchin y Clobert, 2002; Doligez, Pärt y Danchin, 2004; Veiga *et al.*, 2012). Se realizó un experimento en el Capítulo 4 en el que se manipuló la condición física de los propietarios de cajas nidos (machos y hembras por separado) con el fin de determinar si los flotantes realizaban este comportamiento de manera aleatoria o bien escogían preferentemente nidos en los cuales la probabilidad de conquista fuese mayor.

Se encontró que los machos flotantes de estornino negro prefieren visitar nidos de machos con reducido potencial de defensa del recurso (RHP). Este patrón es probablemente debido a que, como los flotantes pueden tener encuentros violentos con los reproductores (Veiga *et al.*, 2012; Walter H Piper, Lee y Hoover, 2022), es esperable que tengan mayores posibilidades de ganar la competición por el recurso al encararse a individuos con bajo RHP.

Para poder decidir a quién visitar tienen que basarse en pistas externas. Bruinzeel y Van De Pol (2004) ha mostrado en ostreros (*Haematopus ostralegus*) que, estar familiarizado con el territorio aumenta las posibilidades de conseguir una vacante. En este sentido, el hecho de que el número de flotantes machos que visitan aumenten

conforme aumenta la tasa de cebas del nido sugiere que pueden basarse en pistas visuales como las entradas y salidas de los reproductores en el nido. Es posible que la manipulación realizada, que lleva a un hueco en el ala, pueda indicar un mal estado físico o un inicio temprano de la muda (Hemborg y Lundberg, 1998). El hecho de que el número de visitantes machos aumente con la edad de los pollos puede ser debido a que aumenta la detectabilidad de los nidos debido al aumento en las llamadas de petición en ausencia de esta especie (Jimeno y Gil, 2015).

En cuanto al número de visitas encontramos un patrón opuesto, ya que el número total de visitas de machos flotantes aumentó al disminuir la tasa de cebas de los padres. Esto puede ser explicado si una alta actividad por parte de los padres implica un nido con una defensa más asidua. Al aumentar la tasa de cebas de los padres es más probable que encuentren al flotante dentro del nido, llevando esto a un encuentro agresivo y el desalojo del ave flotante (Veiga *et al.*, 2012; Walter H Piper, Lee y Hoover, 2022).

En el caso de las hembras no encontramos efecto del tratamiento. Durante el experimento detectamos muchas menos hembras flotantes que machos: 164 hembras frente a 504 machos flotantes. Esta diferencia entre sexos puede ser debida a una estrategia diferencial a la hora de prospectar entre machos y hembras. En el estornino negro es común el parasitismo intraespecífico (Veiga *et al.*, 2012; Monclús *et al.*, 2017), por lo que es posible que las hembras flotantes prospecten más en época de huevos que en la época de pollos en la que se realizó el experimento.

Al igual que en el Capítulo 1, la tecnología RFID ha resultado ser muy útil para el estudio de los flotantes, ya que los estudios previos realizados por observaciones directas (citar a Veiga) solo podían acercarse a este problema ignorando la identidad de las aves, y por lo tanto sesgando las estimas de número de aves.

En conclusión, esta tesis demuestra la aplicación exitosa de la tecnología RFID al estudio de varios aspectos de la ecología y el comportamiento del estornino negro. Los resultados muestran que la validación previa es necesaria para su uso en la medición de las tasas de cebas. Una vez realizada esta validación en el primer capítulo, hemos podido determinar patrones clave del cuidado parental en relación a la edad de los pollos, la

hora del día y la época de reproducción en el capítulo segundo. En el capítulo tercero y cuarto, esta tecnología nos ha mostrado una gran sensibilidad para detectar comportamientos muy difíciles de medir en condiciones naturales, como son la fecha del salto de los pollos y el comportamiento de prospección de flotantes.

Conclusiones

1. La tecnología RFID es una herramienta útil para estudiar la tasa de cebas en el estornino negro, aunque la fiabilidad de las estimas depende del sexo del adulto y de la edad del pollo: mientras en machos las estimas son muy fiables desde los 3 a los 10 días de edad de los pollos, en hembras la fiabilidad sólo se maximiza en la franja superior de ese rango de edades. Para estimas precisas en esta especie, se deben filtrar las detecciones consecutivas del mismo transpondedor usando un tiempo de corte entre detecciones de 37 segundos para machos y de 64 para hembras para minimizar la sobreestimación y subestimación de la tasa de cebas.
2. Las hembras de estornino negro ceban significativamente más que los machos, y esta diferencia se hace mayor en el caso de las segundas puestas de la temporada reproductora.
3. Machos y hembras aumentan su tasa de cebas en función del número de pollos, pero en los machos esta relación es más fuerte que en las hembras en las puestas intermedias y segundas de la temporada reproductora.
4. La tasa de cebas en primeras puestas de la temporada y en las intermedias alcanza su máximo en las primeras horas del día, disminuyendo en las horas centrales y aumentando de nuevo antes de anochecer. En el caso de las segundas puestas de la estación reproductora no existe ese aumento al final del día.
5. La tasa de cebas aumenta al aumentar la edad de los pollos para llegar a un punto máximo a los 9-10 días de edad, y decae a partir de ese momento, coincidiendo este patrón con el de la tasa de crecimiento de los pollos.
6. En una nidada de estornino negro, los pollos más pequeños son los últimos en abandonar el nido. Esto cumple una predicción básica de la hipótesis del tamaño umbral, que propone que el principal determinante del momento del salto del nido por un volantón es el haber alcanzado un grado de desarrollo suficiente como para valerse por sí mismo. Las condiciones de competencia en la nidada afectan al proceso de abandono del nido, existiendo un salto más tardío en las nidadas con mayor número de pollos y mayores desigualdades de tamaño entre ellos.

7. Los machos flotantes de estornino negro no prospectan al azar, sino que visitan preferentemente los nidos de machos con menor potencial de defensa de este recurso. Esta estrategia posiblemente les ayude a desplazar a los propietarios más débiles y obtener un lugar para reproducirse en futuros eventos.

Referencias bibliográficas

- Altmann, J. (1974) 'Observational Study of Behaviour: Sampling Methods', *Behaviour*, 49(3), pp. 227–267. Available at: <http://www.jstor.org/stable/4533591>.
- Ampatzidis, Y. G. and Vougioukas, S. G. (2009) 'Field experiments for evaluating the incorporation of RFID and barcode registration and digital weighing technologies in manual fruit harvesting', *Computers and Electronics in Agriculture*. Elsevier, 66(2), pp. 166–172.
- Aplin, L. M. et al. (2012) 'Social networks predict patch discovery in a wild population of songbirds', *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. The Royal Society, 279(1745), pp. 4199–4205.
- Azam, M. A. M. N. et al. (2023) 'PetTag System', *APS*, p. 362.
- Ball, D. J. (1991) 'Evaluation of a microchip implant system used for animal identification in rats', *Lab. Anim. Sci.*, 41, pp. 185–186.
- Ballard, G. et al. (2001) 'Effect of instrument attachment and other factors on foraging trip duration and nesting success of Adélie penguins', *The Condor*. Oxford University Press, 103(3), pp. 481–490.
- Barba, E. et al. (2009) 'Patterns of nestling provisioning by a single-prey loader bird, Great Tit *Parus major*', *Bird Study*. Taylor & Francis, 56(2), pp. 187–197.
- Barnard, S. M. (1989) 'The use of microchip implants for identifying big brown bats (*Eptesicus fuscus*)', in *Animal Keepers Forum*, pp. 50–52.
- Bateson, M. and Martin, P. (2021) *Measuring behaviour: an introductory guide*. Cambridge university press.
- Becker, P. H. and Wendeln, H. (1997) 'A new application for transponders in population ecology of the common tern', *The Condor*. Oxford University Press, 99(2), pp. 534–538.
- Boisvert, M. J. and Sherry, D. F. (2000) 'A system for the automated recording of feeding behavior and body weight', *Physiology & behavior*. Elsevier, 71(1–2), pp. 147–151.

- Bonter, D. N. and Bridge, E. S. (2011) 'Applications of radio frequency identification (RFID) in ornithological research: A review', *Journal of Field Ornithology*, 82(1), pp. 1–10. doi: 10.1111/j.1557-9263.2010.00302.x.
- Booms, T. L. and McCaffery, B. J. (2007) 'A novel use of passive integrated transponder (PIT) tags as nest markers', *Journal of Field Ornithology*. Wiley Online Library, 78(1), pp. 83–86.
- Bowers, E. K., Sakaluk, S. K. and Thompson, C. F. (2013) 'Sibling cooperation influences the age of nest leaving in an altricial bird', *The American Naturalist*. University of Chicago Press Chicago, IL, 181(6), pp. 775–786.
- Boyle, S. A. and Samson, F. B. (1985) 'Effects of nonconsumptive recreation on wildlife: a review.', *Wildlife Society Bulletin*, 13(2), pp. 110–116. doi: 10.2307/3781422.
- Brooks, M. (2023) Generalized Linear Mixed Models using Template Model Builder. Available at: <https://orcid.org/0000-0001-5715-616X>.
- Brown-Brandl, T. M. et al. (2019) 'A review of passive radio frequency identification systems for animal monitoring in livestock facilities', *Applied Engineering in Agriculture*. American Society of Agricultural and Biological Engineers, 35(4), pp. 579–591.
- Bruinzeel, L. W. and Van De Pol, M. (2004) 'Site attachment of floaters predicts success in territory acquisition', *Behavioral Ecology*, 15(2), pp. 290–296. doi: 10.1093/beheco/arh019.
- Bulmer, E., Celis, P. and Gil, D. (2008) 'Parent-absent begging: Evidence for sibling honesty and cooperation in the spotless starling (*Sturnus unicolor*)', *Behavioral Ecology*, 19(2), pp. 279–284. doi: 10.1093/beheco/arm134.
- Burghardt, G. M. et al. (2012) 'Perspectives - Minimizing Observer Bias in Behavioral Studies: A Review and Recommendations', *Ethology*, 118(6), pp. 511–517. doi: 10.1111/j.1439-0310.2012.02040.x.
- Bustamante, J. and Hiraldo, F. (1990) 'Factors influencing family rupture and parent-offspring conflict in the Black Kite *Milvus migrans*', *Ibis*, 132(1), pp. 58–67. doi: 10.1111/j.1474-919X.1990.tb01016.x.

- Camper, J. D. and Dixon, J. R. (1988) Evaluation of a microchip marking system for amphibians and reptiles. Texas Parks & Wildlife Department.
- Celis, P., Graves, J. A. and Gil, D. (2021) 'Reproductive Strategies Change With Time in a Newly Founded Colony of Spotless Starlings (*Sturnus unicolor*)', *Frontiers in Ecology and Evolution*, 9(May), pp. 1–13. doi: 10.3389/fevo.2021.658729.
- Chai, P. (1997) 'Hummingbird hovering energetics during moult of the primary feathers', *The Journal of Experimental Biology*, 200, pp. 1527–1536.
- Chiavacci, S. J., Ward, M. P. and Benson, T. J. (2015) 'Why fledge early in the day? Examining the role of predation risk in explaining fledging behavior', *Behavioral Ecology*, 26(2), pp. 593–600. doi: 10.1093/beheco/aru236.
- Choi, H.-R. et al. (2011) 'Development plan of pet dog safe transportation system using IP-RFID', in *Grid and Distributed Computing: International Conference, GDC 2011, Held as Part of the Future Generation Information Technology Conference, FGIT 2011, Jeju Island, Korea, December 8-10, 2011. Proceedings*. Springer, pp. 317–328.
- Clark, L. (1985) 'Consequences of homeothermic capacity of nestlings on parental care in the european starling', *Oecologia*, 65(3), pp. 387–393. doi: 10.1007/BF00378914.
- Cockburn, A. (2006) 'Prevalence of different modes of parental care in birds', *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 273(1592), pp. 1375–1383. doi: 10.1098/rspb.2005.3458.
- Crofoot, M. C. et al. (2010) 'Does watching a monkey change its behaviour? Quantifying observer effects in habituated wild primates using automated radiotelemetry', *Animal Behaviour*, 80(3), pp. 475–480. doi: 10.1016/j.anbehav.2010.06.006.
- D'Arpa, S. R. et al. (2022) 'Experimentally impaired female condition does not affect biliverdin-based egg colour', *Journal of Avian Biology*, 2022(3), pp. 1–7. doi: 10.1111/jav.02913.

- Dale, S. (2016) 'Cost of reproduction: a comparison of survival rates of breeding and non-breeding male ortolan buntings', *Journal of Avian Biology*, 47(4), pp. 583–588. doi: 10.1111/jav.00898.
- Dittmann, T. and Becker, P. H. (2003) 'Sex, age, experience and condition as factors affecting arrival date in prospecting common terns, *Sterna hirundo*', *Animal Behaviour*. Elsevier, 65(5), pp. 981–986.
- Doligez, B., Danchin, E. and Clobert, J. (2002) 'Public information and breeding habitat selection in a wild bird population', *Science*, 297(5584), pp. 1168–1170. doi: 10.1126/science.1072838.
- Doligez, B., Pärt, T. and Danchin, E. (2004) 'Prospecting in the collared flycatcher: Gathering public information for future breeding habitat selection?', *Animal Behaviour*, 67(3), pp. 457–466. doi: 10.1016/j.anbehav.2003.03.010.
- Dreischman, S. (1987) 'A transponder chip used as a permanent tag for sea otters (*Enhydra lutris*)', *Mar. Mamm. Sci*, 3(3), pp. 271–274.
- Erwin, R. M., Hafner, H. and Dugan, P. (1985) 'Differences in the feeding behavior of Little Egrets (*Egretta garzetta*) in two habitats in the Camargue, France', *The Wilson Bulletin*. JSTOR, 97(4), pp. 534–538.
- Fagerstone, K. A. and Johns, B. E. (1987) 'Transponders as permanent identification markers for domestic ferrets, black-footed ferrets, and other wildlife', *The Journal of wildlife management*. JSTOR, pp. 294–297.
- Farnsworth, G. L., Simons, T. R. and Brawn, J. (2001) 'How many baskets? Clutch sizes that maximize annual fecundity of multiple-brooded birds', *The Auk*. Oxford University Press, 118(4), pp. 973–982.
- Farooq, U. et al. (2014) 'RFID based security and access control system', *International Journal of Engineering and Technology*. IACSIT Press, 6(4), p. 309.
- Freed, L. A. (1988) 'FORCED FLEDGING-AN INVESTIGATION OF THE LENGTHY NESTLING PERIOD OF TROPICAL HOUSE WRENS', *National geographic research*. NATL GEOGRAPHIC SOC 17TH AND M STS NW, WASHINGTON, DC 20036 USA, 4(3), pp. 395–407.

- Freitag, A., Martinoli, A. and Urzelai, J. (2001) 'Monitoring the feeding activity of nesting birds with an autonomous system: case study of the endangered Wryneck *Jynx torquilla*', *Bird Study*. Taylor & Francis, 48(1), pp. 102–109.
- Garcia-Navas, V., Ortego, J. and Sanz, J. J. (2009) 'Heterozygosity-based assortative mating in blue tits (*Cyanistes caeruleus*): implications for the evolution of mate choice', *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. The Royal Society, 276(1669), pp. 2931–2940.
- García-Navas, V. and Sanz, J. J. (2012) 'Environmental and within-nest factors influencing nestling-feeding patterns of Mediterranean blue tits (*Cyanistes caeruleus*)', *The Condor*. Oxford University Press, 114(3), pp. 612–621.
- García-Vigón, E., Veiga, J. P. and Cordero, P. J. (2009) 'Male feeding rate and extrapair paternity in the facultatively polygynous spotless starling', *Animal Behaviour*, 78(6), pp. 1335–1341. doi: 10.1016/j.anbehav.2009.08.017.
- Gendner, J.-P. et al. (2005) 'A new application for transponders in studying penguins', *Journal of Field Ornithology*. BioOne, 76(2), pp. 138–142.
- Gil, D. et al. (2008) 'Adaptive developmental plasticity in growing nestlings: Sibling competition induces differential gape growth', *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 275(1634), pp. 549–554. doi: 10.1098/rspb.2007.1360.
- Gomes, A. C. R. et al. (2022) 'Familiarity, dominance, sex and season shape common waxbill social networks', *Behavioral Ecology*. Oxford University Press UK, 33(3), pp. 526–540.
- Griebeling, H. J. et al. (2022) 'How technology can advance the study of animal cognition in the wild', *Current Opinion in Behavioral Sciences*. Elsevier, 45, p. 101120.
- Gross, M. R. (2005) 'The Evolution of Parental Care', *The Quarterly Review of Biology*, 80(1), pp. 37–45.
- Hartig, F. and Lohse, L. (2022) 'Package "DHARMA" Residual Diagnostics for Hierarchical (Multi-Level / Mixed) Regression Models', (1), pp. 1–65. Available at: <https://cran.r-project.org/web/packages/DHARMA/index.html>.

- Hebblewhite, M. and Haydon, D. T. (2010) 'Distinguishing technology from biology: a critical review of the use of GPS telemetry data in ecology', *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. The Royal Society, 365(1550), pp. 2303–2312.
- Hemborg, C. and Lundberg, A. (1998) 'Costs of overlapping reproduction and moult in passerine birds: An experiment with the pied flycatcher', *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 43(1), pp. 19–23. doi: 10.1007/s002650050462.
- Hemborg, C., Sanz, J. and Lundberg, A. (2001) 'Effects of latitude on the trade-off between reproduction and moult: a long-term study with pied flycatcher', *Oecologia*. Springer, 129, pp. 206–212.
- Hinde, C. A. (2006) 'Negotiation over offspring care? - A positive response to partner-provisioning rate in great tits', *Behavioral Ecology*, 17(1), pp. 6–12. doi: 10.1093/beheco/ari092.
- Hou, L., Verdirame, M. and Welch Jr, K. C. (2015) 'Automated tracking of wild hummingbird mass and energetics over multiple time scales using radio frequency identification (RFID) technology', *Journal of Avian Biology*. Wiley Online Library, 46(1), pp. 1–8.
- Houston, A. I., Székely, T. and McNamara, J. M. (2005) 'Conflict between parents over care', *Trends in Ecology and Evolution*, 20(1), pp. 33–38. doi: 10.1016/j.tree.2004.10.008.
- Hsu, Y.-C., Chen, A.-P. and Wang, C.-H. (2008) 'A RFID-enabled traceability system for the supply chain of live fish', in 2008 IEEE International Conference on Automation and Logistics. IEEE, pp. 81–86.
- Huck, M. and Fernandez-Duque, E. (2023) 'The Great Unknown: The Floating Stage as a Neglected Aspect of Social Systems BT - Owl Monkeys: Biology, Adaptive Radiation, and Behavioral Ecology of the Only Nocturnal Primate in the Americas', in Fernandez-Duque, E. (ed.). Cham: Springer International Publishing, pp. 461–496. doi: 10.1007/978-3-031-13555-2_16.
- Hughes, E. J., Mady, R. P. and Bonter, D. N. (2021a) 'Evaluating the accuracy and biological meaning of visits to RFID-enabled bird feeders using video', *Ecology and Evolution*, (October), pp. 17132–17141. doi: 10.1002/ece3.8352.

- Hughes, E. J., Mady, R. P. and Bonter, D. N. (2021b) 'Evaluating the accuracy and biological meaning of visits to RFID-enabled bird feeders using video', *Ecology and Evolution*, 11(23), pp. 17132–17141. doi: 10.1002/ece3.8352.
- Iserbyt, A. et al. (2018) 'How to quantify animal activity from radio-frequency identification (RFID) recordings', *Ecology and Evolution*, 8(20), pp. 10166–10174. doi: 10.1002/ece3.4491.
- Jimeno, B. and Gil, D. (2015) 'Parent-absent calls are related to nestling reaction time and parental food allocation in the spotless starling', *Behaviour*, 152(10), pp. 1413–1431. doi: 10.1163/1568539X-00003285.
- Johnsen, A. et al. (2005) 'Male sexual attractiveness and parental effort in blue tits: A test of the differential allocation hypothesis', *Animal Behaviour*, 70(4), pp. 877–888. doi: 10.1016/j.anbehav.2005.01.005.
- Johnson, L. S. et al. (2013) 'The process of fledging in the Mountain Bluebird', *Journal of Field Ornithology*, 84(4), pp. 367–376. doi: 10.1111/jof.12036.
- Johnson, L. S., Rauch, R. L. and Dellone, S. N. (2004) 'The process and causes of fledging in a cavity-nesting passerine bird, the house wren (*Troglodytes aedon*)', *Ethology*, 110(9), pp. 693–705. doi: 10.1111/j.1439-0310.2004.01001.x.
- Johnstone, R. A. et al. (2014) 'Reciprocity and conditional cooperation between great tit parents', *Behavioral Ecology*. Oxford University Press UK, 25(1), pp. 216–222.
- Kacelnik, Alex et al. (1995) 'Food allocation among nestling starlings: sibling competition and the scope of parental choice', *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*. The Royal Society London, 259(1356), pp. 259–263.
- Kacelnik, A. et al. (1995) 'Food allocation among nestling starlings: Sibling competition and the scope of parental choice', *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 259(1356), pp. 259–263. doi: 10.1098/rspb.1995.0038.
- Kelly, C. D. (2008) 'The interrelationships between resource-holding potential, resource-value and reproductive success in territorial males: How much

- variation can we explain?', *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 62(6), pp. 855–871. doi: 10.1007/s00265-007-0518-8.
- Knapton, R. W. (1984) 'Parental feeding of nestling Nashville Warblers: the effects of food type, brood-size, nestling age, and time of day', *The Wilson Bulletin*. JSTOR, pp. 594–602.
 - Kokko, H. and Jennions, M. D. (2013) 'Sex differences in parental care', *The Evolution of Parental Care*, pp. 101–116. doi: 10.1093/acprof:oso/9780199692576.003.0006.
 - Kokko, H. and Sutherland, W. J. (1998) 'Optimal floating and queuing strategies: consequences for density dependence and habitat loss', *The American Naturalist*. The University of Chicago Press, 152(3), pp. 354–366.
 - Kölliker, M. and Richner, H. (2004) 'Navigation in a cup: chick positioning in great tit, *Parus major*, nests', *Animal Behaviour*. Elsevier, 68(4), pp. 941–948.
 - Kuwae, T. (2007) 'Diurnal and nocturnal feeding rate in Kentish plovers *Charadrius alexandrinus* on an intertidal flat as recorded by telescopic video systems', *Marine Biology*. Springer, 151(2), pp. 663–673.
 - Lee, J. W., Kim, H. Y. and Hatchwell, B. J. (2010) 'Parental provisioning behaviour in a flock-living passerine, the Vinous-throated Parrotbill *Paradoxornis webbianus*', *Journal of Ornithology*, 151(2), pp. 483–490. doi: 10.1007/s10336-009-0484-1.
 - Lehner, P. N. (1998) *Handbook of ethological methods*. Cambridge University Press.
 - Lemel, J. (1989) 'Body-Mass Dependent Fledging Order in the Great Tit', *Auk*, 106, pp. 490–492.
 - Lemes, J. (1989) 'Body-Mass Dependent Fledging Order in the Great Tit', *Auk*, 106(3), pp. 490–492.
 - Leos-Barajas, V. et al. (2017) 'Analysis of animal accelerometer data using hidden Markov models', *Methods in Ecology and Evolution*. Wiley Online Library, 8(2), pp. 161–173.

- Linden, M. and Møller, A. P. (1989) 'Cost of reproduction and covariation of life history traits in birds', *Trends in Ecology and Evolution*, 4(12), pp. 367–371. doi: 10.1016/0169-5347(89)90101-8.
- MacColl, A. D. C. and Hatchwell, B. J. (2003) 'Heritability of parental effort in a passerine bird', *Evolution*. Blackwell Publishing Ltd Oxford, UK, 57(9), pp. 2191–2195.
- Magnusson, A. et al. (2017) 'Package "glmmTMB"', R Package Version 0.2. 0, 25.
- Maignet, J. L. and Murphy, M. T. (1997) 'Costs and benefits of parental care in eastern kingbirds', *Behavioral Ecology*, 8(3), pp. 250–259. doi: 10.1093/beheco/8.3.250.
- Mainwaring, M. C. and Hartley, I. R. (2013) 'The energetic costs of nest building in birds', *Avian Biology Research*, 6(1), pp. 12–17. doi: 10.3184/175815512X13528994072997.
- Marra, P. P. and Holmes, R. T. (1997) 'Avian removal experiments: Do they test for habitat saturation or female availability?', *Ecology*. Wiley Online Library, 78(3), pp. 947–952.
- Martin, T. E. et al. (2000) 'Parental care and clutch sizes in North and South American birds', *Science*. American Association for the Advancement of Science, 287(5457), pp. 1482–1485.
- Martins, T. L. F. (1997) 'Fledging in the common swift, *Apus apus*: Weight-watching with a difference', *Animal Behaviour*, 54(1), pp. 99–108. doi: 10.1006/anbe.1996.0429.
- Maselyne, J. et al. (2014) 'Validation of a High Frequency Radio Frequency Identification (HF RFID) system for registering feeding patterns of growing-finishing pigs', *Computers and Electronics in Agriculture*. Elsevier, 102, pp. 10–18.
- Maselyne, J., Saeys, W. and Van Nuffel, A. (2015) 'Quantifying animal feeding behaviour with a focus on pigs', *Physiology & Behavior*. Elsevier, 138, pp. 37–51.
- Meinertzhagen, R. (1954) 'The education of young ospreys', *Ibis*, 96(1), pp. 153–155. doi: 10.1111/j.1474-919X.1954.tb04120.x.

- Michaud, T. and Leonard, M. (2000) 'The role of development, parental behavior, and nestmate competition in fledging of nestling Tree Swallows', *Auk*, 117(4), pp. 996–1002. doi: 10.1093/auk/117.4.996.
- Møller, A. P. et al. (1995) 'Morphological adaptations to an extreme sexual display, stone-carrying in the black wheatear, *Oenanthe leucura*', *Behavioral Ecology*, 6(4), pp. 368–375. doi: 10.1093/beheco/6.4.368.
- Møller, A. P. and Birkhead, T. R. (1993) 'Certainty of paternity covaries with paternal care in birds', *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 33(4), pp. 261–268. doi: 10.1007/BF02027123.
- Monclús, R. et al. (2017) 'The role of the mating system and intraspecific brood parasitism in the costs of reproduction in a passerine bird', *Oecologia*. Springer Berlin Heidelberg, 185(4), pp. 629–639. doi: 10.1007/s00442-017-3977-2.
- Moreno, J. et al. (1995) 'Differential response by males and females to brood manipulations in the pied flycatcher: energy expenditure and nestling diet', *Journal of Animal Ecology*. JSTOR, pp. 721–732.
- Moreno, J. et al. (1999) 'Effects of paternal care on reproductive success in the polygynous spotless starling *Sturnus unicolor*', *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 47(1–2), pp. 47–53. doi: 10.1007/s002650050648.
- Moreno, J. (2016) 'The Unknown Life of Floaters: The Hidden Face of Sexual Selection', *Ardeola*, 63(1), pp. 5–33. doi: 10.13157/arla.63.1.2016.rp3.
- Newey, S. et al. (2015) 'Limitations of recreational camera traps for wildlife management and conservation research: A practitioner's perspective', *Ambio*. Springer, 44, pp. 624–635.
- Newton, I. (1992) 'Experiments on the limitation of bird numbers by territorial behaviour', *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 67(2), pp. 129–173. doi: 10.1111/j.1469-185X.1992.tb01017.x.
- Newton, I. (1998) *Population limitation in birds*. Academic press.
- Nicolaus, M., Bouwman, K. M. and Dingemanse, N. J. (2008) 'Effect of PIT tags on the survival and recruitment of Great Tits *Parus major*', *Ardea*, 96(2), pp. 286–292. doi: 10.5253/078.096.0215.

- Nilsson, J.-Å. and Gårdmark, A. (2001) 'Sibling competition affects individual growth strategies in marsh tit, *Parus palustris*, nestlings', *Animal Behaviour*. Elsevier, 61(2), pp. 357–365.
- Nilsson, J. Å. and Svensson, M. (1993) 'Fledging in altricial birds: Parental manipulation or sibling competition?', *Animal Behaviour*, 46(2), pp. 379–386. doi: 10.1006/anbe.1993.1200.
- Nogge, G. and Behlert, O. (1990) 'Ein elektronisches Markierungsverfahren zur Kennzeichnung von Tieren', *Zeitschrift für Angewandte Zoologie*, 77(3–4), pp. 375–380.
- Nomano, F. Y. et al. (2014) 'Validation of an automated data collection method for quantifying social networks in collective behaviours', *Behavioral Ecology and Sociobiology*. Springer, 68, pp. 1379–1391.
- Nowak, K. et al. (2014) 'Human observers impact habituated samango monkeys' perceived landscape of fear', *Behavioral Ecology*. Oxford University Press UK, 25(5), pp. 1199–1204.
- Nunes-Silva, P. et al. (2019) 'Applications of RFID technology on the study of bees', *Insectes sociaux*. Springer, 66, pp. 15–24.
- Oghazi, P. et al. (2018) 'RFID and ERP systems in supply chain management', *European Journal of Management and Business Economics*. Emerald Publishing Limited, 27(2), pp. 171–182.
- Owens, I. P. F. and Hartley, I. R. (1998) 'Sexual dimorphism in birds: why are there so many different forms of dimorphism?', *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*. The Royal Society, 265(1394), pp. 397–407.
- Parejo-Pulido, D. et al. (2023) 'Passive and active parental food allocation in a songbird', *Behavioral Ecology*. Oxford University Press UK, p. arad043.
- Parejo, D. et al. (2007) 'Blue tits use fledgling quantity and quality as public information in breeding site choice', *Ecology*, 88(9), pp. 2373–2382. doi: 10.1890/06-2000.1.

- Parejo, D. et al. (2008) 'Spotless starlings rely on public information while visiting conspecific nests: an experiment', *Animal Behaviour*, 75(2), pp. 483–488. doi: 10.1016/j.anbehav.2007.05.012.
- Pärt, T. and Doligez, B. (2003) 'Gathering public information for habitat selection: Prospecting birds cue on parental activity', *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 270(1526), pp. 1809–1813. doi: 10.1098/rspb.2003.2419.
- Peris, S. (1980) *Biología Del Estornino Negro (Sturnus unicolor Temm.)*.
- Peris, S. J. (1980) 'Biología del estornino negro (sturnus unicolor). II. Dieta del pollo', *Doñana Acta Vertebrata*, 7(2), pp. 249–260.
- Pinxten, R. and Eens, M. (1994) 'Male feeding on nestlings in the facultatively polygynous European starling: allocation patterns and effect on female reproductive success', *Behaviour*, 129(1–2), pp. 113–140. doi: 10.1163/156853994X00389.
- Piper, Walter H, Lee, K. R. and Hoover, B. (2022) 'Territory holders are more aggressive towards older, more dangerous floaters', *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 76(2), p. 22. doi: 10.1007/s00265-022-03131-7.
- Piper, Walter H., Lee, K. R. and Hoover, B. (2022) 'Territory holders are more aggressive towards older, more dangerous floaters', *Behavioral Ecology and Sociobiology*. Springer Berlin Heidelberg, 76(2), pp. 1–11. doi: 10.1007/s00265-022-03131-7.
- Polo, V. and Veiga, J. P. (2006) 'Nest ornamentation by female spotless starlings in response to a male display: An experimental study', *Journal of Animal Ecology*, 75(4), pp. 942–947. doi: 10.1111/j.1365-2656.2006.01103.x.
- Porkert, J. and Špinka, M. (2006) 'Begging in common redstart nestlings: scramble competition or signalling of need?', *Ethology*. Wiley Online Library, 112(4), pp. 398–410.
- R Core Team (2020) 'R: A language and environment for statistical computing.', 21(1), pp. 1–9.

- Radersma, R., Komdeur, J. and Tinbergen, J. M. (2015) 'Early morning fledging improves recruitment in Great Tits *Parus major*', *Ibis*, 157(2), pp. 351–355. doi: 10.1111/ibi.12230.
- Radersma, R., Tinbergen, J. M. and Komdeur, J. (2011) 'Do brood sex ratio, nestling development and sex affect fledging timing and order? An experimental study on great tits', *Animal Behaviour*. Elsevier Ltd, 81(1), pp. 69–75. doi: 10.1016/j.anbehav.2010.09.007.
- Rao, G. N. and Edmondson, J. (1990) 'Tissue reaction to an implantable identification device in mice', *Toxicologic Pathology*. SAGE Publications Sage CA: Los Angeles, CA, 18(3), pp. 412–416.
- Rastogi, A. D., Zanette, L. and Clinchy, M. (2006) 'Food availability affects diurnal nest predation and adult antipredator behaviour in song sparrows, *Melospiza melodia*', *Animal Behaviour*. Elsevier, 72(4), pp. 933–940.
- Redondo, I. et al. (2022) 'Sexual differences in phenotypical predictors of floating status: body condition influences male but not female reproductive status in a wild passerine', *Oecologia*. Springer Berlin Heidelberg, 199(1), pp. 79–90. doi: 10.1007/s00442-022-05180-1.
- Reid, J. M., Monaghan, P. and Ruxton, G. D. (2002) 'Males matter: the occurrence and consequences of male incubation in starlings (*Sturnus vulgaris*)', *Behavioral Ecology and Sociobiology*. Springer, 51, pp. 255–261.
- Remeš, V. and Martin, T. E. (2002) 'Environmental influences on the evolution of growth and developmental rates in passerines', *Evolution*. Blackwell Publishing Ltd Oxford, UK, 56(12), pp. 2505–2518.
- Ricklefs, R. E. (1979) 'Patterns of Growth in Birds. V. A Comparative study of Development in the Starling, Common Tern, and Japanese Quail', *The Auk*, 96(January), pp. 10–30.
- Roff, D. A., Remeš, V. and Martin, T. E. (2005) 'The evolution of fledging age in songbirds', *Journal of evolutionary biology*. Wiley Online Library, 18(6), pp. 1425–1433.
- Rowan, M. K. (1955) 'The breeding biology and behaviour of the redwinged satrling *Onychognathus morio*.' , *Ibis*, 97(0), pp. 663–705.

- Royle, N. J., Hartley, I. R. and Parker, G. A. (2002) 'Sexual conflict reduces offspring fitness in zebra finches', *Nature*, 416(6882), pp. 733–736. doi: 10.1038/416733a.
- Sandell, M. I., Smith, H. G. and Bruun, M. (1996) 'Paternal care in the European starling, *Sturnus vulgaris*: Nestling provisioning', *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 39(5), pp. 301–309. doi: 10.1007/s002650050293.
- Santema, P. et al. (2021) 'Why do nestling birds fledge early in the day?', *Animal Behaviour*, 174, pp. 79–86. doi: 10.1016/j.anbehav.2021.01.026.
- Scharf, H. M. et al. (2022) 'Should I stay or should I go: the effect of avian brood parasitism on host fledging dynamics', *Behavioral Ecology and Sociobiology*. Springer, 76(5), p. 64.
- Schlicht, L. et al. (2012) 'Male extrapair nestlings fledge first', *Animal Behaviour*, 83(6), pp. 1335–1343. doi: 10.1016/j.anbehav.2012.02.021.
- Senécal, S. et al. (2021) 'Poor prey quality is compensated by higher provisioning effort in passerine birds', *Scientific Reports*. Nature Publishing Group UK London, 11(1), p. 11182.
- Sergio, F., Blas, J. and Hiraldo, F. (2009) 'Predictors of floater status in a long-lived bird: a cross-sectional and longitudinal test of hypotheses', *Journal of Animal Ecology*. Wiley Online Library, 78(1), pp. 109–118.
- Sheldon, B. C., Räsänen, K. and Dias, P. C. (1997) 'Certainty of paternity and paternal effort in the collared flycatcher', *Behavioral Ecology*, 8(4), pp. 421–428. doi: 10.1093/beheco/8.4.421.
- Slagsvold, T. and Lifjeld, J. T. (1994) 'Polygyny in birds: the role of competition between females for male parental care', *The American Naturalist*. University of Chicago Press, 143(1), pp. 59–94.
- Smiseth, P. T., Kölliker, M. and Royle, N. J. (2013) 'What is parental care?', *The Evolution of Parental Care*, (August), pp. 1–17. doi: 10.1093/acprof:oso/9780199692576.003.0001.
- Smith, H. G. and Montgomerie, R. (1991) 'Nestling American robins compete with siblings by begging', *Behavioral Ecology and Sociobiology*. Springer, 29, pp. 307–312.

- Smith, J. N. M. and Arcese, P. (1989) 'How fit are floaters? Consequences of alternative territorial behaviors in a nonmigratory sparrow', *American Naturalist*, 133(6), pp. 830–845. doi: 10.1086/284955.
- Smith, S. M. (1978) 'The "Underworld" in a Territorial Sparrow: Adaptive Strategy for Floaters', *The American Naturalist*, 112(985), pp. 571–582. doi: 10.1086/283298.
- Sokal, R. R. and Rohlf, F. J. (1995) *biometry*. Macmillan.
- Soler, J. J. et al. (2008) 'Sexually selected egg coloration in spotless starlings', *American Naturalist*, 171(2), pp. 183–194. doi: 10.1086/524958.
- Spruijt, B. M., Hol, T. and Rousseau, J. (1992) 'Approach, avoidance, and contact behavior of individually recognized animals automatically quantified with an imaging technique', *Physiology & Behavior*. Elsevier, 51(4), pp. 747–752.
- Stamps, J. A. and Tollestrup, K. (1984) 'Prospective resource defense in a territorial species.', *American Naturalist*, 123(1), pp. 99–114. doi: 10.1086/284189.
- Stearns, S. C. (1992) 'The evolution of life histories Oxford: Oxford University Press.[Google Scholar]'
- Tomotani, B. M. et al. (2018) 'Simulated moult reduces flight performance but overlap with breeding does not affect breeding success in a long-distance migrant', *Functional Ecology*. Wiley Online Library, 32(2), pp. 389–401.
- Trivers, R. L. (1972) 'Parental investment and sexual selection', *Sexual Selection and the Descent of Man: The Darwinian Pivot*, pp. 136–179. doi: 10.4324/9781315129266-7.
- Trivers, R. L. (1974) 'Parent-Offspring Conflict', 264, pp. 249–264.
- Vandenabeele, S. P. et al. (2014) 'Excess baggage for birds: inappropriate placement of tags on gannets changes flight patterns', *PloS one*. Public Library of Science San Francisco, USA, 9(3), p. e92657.
- Veiga, J. P. et al. (2002) 'Reproductive consequences for males of paternal vs territorial strategies in the polygynous spotless starling under variable ecological and social conditions', *Behaviour*, 139(5), pp. 677–693. doi: 10.1163/15685390260136762.

- Veiga, J. P. et al. (2012) 'Intruders in Nests of the Spotless Starling: Prospecting for Public Information or for Immediate Nesting Resources?', *Ethology*, 118(10), pp. 917–924. doi: 10.1111/j.1439-0310.2012.02083.x.
- Veiga, J. P. and Polo, V. (2005) 'Feathers at nests are potential female signals in the spotless starling', *Biology Letters*, 1(3), pp. 334–337. doi: 10.1098/rsbl.2005.0329.
- Veiga, J. P., Polo, V. and Viñuela, J. (2006) 'Nest green plants as a male status signal and courtship display in the spotless starling', *Ethology*, 112(2), pp. 196–204. doi: 10.1111/j.1439-0310.2006.01148.x.
- Velando, C. A.-A. and A. (2013) 'Benefits and costs of parental care', *Etica e Politica*, 15(1), pp. 583–605. doi: 10.1093/acprof.
- Verhulst, S. and Tinbergen, J. M. (1997) 'Clutch size and parental effort in the great tit *Parus major*', *Ardea*, 85(1), pp. 111–126.
- Walker, J. E. S. (1972) 'Attempts at fledging of a runt Great Tit', *Bird Study*. BRITISH TRUST ORNITHOLOGY NUNNERY, NUNNERY PLACE, THETFORD NORFOLK, ENGLAND ..., pp. 250–251.
- Wearn, O. R. and Glover-Kapfer, P. (2019) 'Snap happy: camera traps are an effective sampling tool when compared with alternative methods', *Royal Society open science*. The Royal Society, 6(3), p. 181748.
- Wilkin, T. A., King, L. E. and Sheldon, B. C. (2009) 'Habitat quality, nestling diet, and provisioning behaviour in great tits *Parus major*', *Journal of Avian Biology*. Wiley Online Library, 40(2), pp. 135–145.
- Williams, T. D. (2018) 'Physiology, activity and costs of parental care in birds', *Journal of Experimental Biology*, 221(17). doi: 10.1242/jeb.169433.
- Ydenberg, R. C. (1994) 'The behavioral ecology of provisioning in birds', *Ecoscience*, 1(1), pp. 1–14. doi: 10.1080/11956860.1994.11682222.
- Zárbynická, M. et al. (2016) 'Smart nest box: A tool and methodology for monitoring of cavity-dwelling animals', *Methods in Ecology and Evolution*, 7(4), pp. 483–492. doi: 10.1111/2041-210X.12509.

