

Importancia del calcio como
recurso limitante para la
reproducción de pequeñas aves
forestales en el entorno de los
Montes de Toledo



Vicente García-Navas Corrales

**Importancia del calcio como recurso limitante para la
reproducción de pequeñas aves forestales en el entorno de los
Montes de Toledo**

Vicente García-Navas Corrales

Proyecto de investigación tutelado por

Juan José Sanz Cid

Museo Nacional de Ciencias Naturales-CSIC

AGRADECIMIENTOS

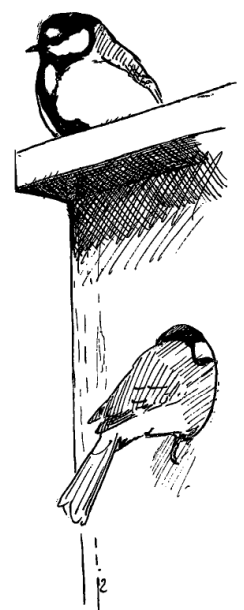
Agradecemos al Servicio de Medio Ambiente de la Diputación de Toledo el interés mostrado por este proyecto desde el comienzo.

José Manuel Sebastián y Carlos Rodríguez Vigal, Director y Director adjunto, respectivamente del Centro Quintos de Mora (Ministerio de Medio Ambiente) dieron las facilidades necesarias para llevar a buen término el presente estudio. También quisiéramos agradecer a José Polo, Alfonso Carlos de Ancos y resto de personal de la finca su disposición a colaborar en todo momento.

Josué de Esteban, Rafael Barrientos, Nagore García y Rut Caparrós aportaron información sobre diferentes aspectos relacionados con las características del medio en nuestra área de estudio.

La Dirección General para la Conservación de la Naturaleza donó los niales utilizados en este trabajo. La Dirección General del Medio Natural (Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha) otorgó los permisos necesarios para el anillamiento y captura de las aves.

Este proyecto fue financiado por la Diputación de Toledo a través de su convocatoria de Ayudas a la Investigación (Área: Ecosistemas toledanos y procesos ecológicos) cuyo fin es contribuir al desarrollo de la investigación y el conocimiento de aspectos concretos relacionados con la Naturaleza en la provincia.



1. Introducción

El calcio es un micronutriente esencial para las aves durante la reproducción. La demanda de dicho recurso es especialmente elevada durante la puesta ya que prácticamente la totalidad de la cáscara del huevo consiste en una forma cristalina de carbonato cálcico. Una correcta formación de la cáscara es crucial puesto que esta estructura cumple diversas funciones tales como evitar la fractura del huevo durante el periodo de incubación (Solomon 1987), servir como fuente de calcio para el embrión (Packard 1994), proteger el contenido del huevo de agentes patógenos (p. e. Pinowski et al. 1994) o controlar el intercambio de gases entre el interior del mismo y el microambiente que se crea en el nido (p. e. Ar et al. 1974, Massaro & Davis 2005, Balkan et al. 2006). Es por ello que la disponibilidad de calcio en el medio puede suponer un factor limitante para las aves, especialmente para las de pequeño tamaño. Así, es frecuente que las aves recurran a fuentes de calcio tales como huesos de micro-mamíferos (MacLean 1974), conchas de moluscos (p. e. Nisbet 1997), granos de arena (Soler et al. 1993, Verbeek 1994, Gionfriddo & Best 1995) o ceniza (Des Lauriers 1994) durante fases críticas del período reproductor. Algunas especies (palomas, correlimos) tienen la capacidad de acumular reservas de calcio en los huesos de sus extremidades de forma previa al comienzo de la puesta (Piersma et al. 1996). Sin embargo, en paseriformes la capacidad de movilizar el calcio acumulado en las regiones óseas es bastante más limitada por lo que dicho recurso debe ser ingerido en dosis diarias (Graveland & van Gijzen 1994, Perrins 1996, Pahl et al. 1997, Reynolds 1997).

Considerando el papel fundamental que para las aves desempeña el metabolismo del calcio es posible comprender la importancia de estos organismos como indicadores dada su elevada susceptibilidad a cambios medioambientales. Un claro ejemplo es el marcado declive que experimentaron algunas rapaces a mediados del siglo pasado como consecuencia del uso masivo del pesticidas organoclorados (ver p. e. Ratcliffe 1967, Mellanby 1992, Hartley et al. 1995). Dichas sustancias interfieren en los canales del calcio provocando que las aves produzcan huevos con la cáscara más frágil (Ratcliffe 1967). Otras alteraciones de origen antrópico como la acidificación o la contaminación química de las aguas (p. e. Nyholm & Myhrberg 1977, Ormerod et al. 1991) también repercuten de forma negativa en la eficacia biológica de las aves al reducirse la disponibilidad de fuentes de calcio en el medio. Por ejemplo, en los Países Bajos la acidificación del suelo ha traído consigo un descenso en la abundancia de caracoles terrestres (Gasteropoda) y esto ha mermado notablemente el éxito reproductor del carbonero común *Parus major* (Drent & Woldendrop 1989, Graveland et al. 1994, Graveland & van der Wal 1996). Casos similares, indicando un déficit de calcio durante la

reproducción, también han sido reportados para ésta y otras especies en distintas zonas de Europa Central y Canadá donde la acidificación es un grave problema ambiental (p. e. Glooschenko et al. 1986, St. Louis & Barlow 1993, Ormerod & Rundle 1998, Burês & Weindinger 2001). Por otro lado, la falta de calcio en determinadas regiones también puede deberse a la naturaleza del medio tal y como se ha mostrado en diversas investigaciones llevadas a cabo en Estonia, donde predominan los bosques de coníferas sobre suelos ácidos, pobres en calcio (Tilgar et al. 1999, Mänd et al. 1998, 2000a, Reynolds et al. 2004).

La mayoría de los estudios llevados a cabo sobre disponibilidad de calcio durante la época reproductora consisten en estudios experimentales donde el suplemento de material rico en calcio dio lugar a puestas más grandes (Johnson & Barclay 1996, Tilgar et al. 2002) y tempranas (Mänd et al. 2000a, 2000b), menos interrupciones durante la puesta (Graveland & Drent 1997), huevos de mayor volumen y con la cáscara más gruesa (Graveland et al. 1994, Tilgar et al. 1999, Mänd et al. 2000a, 2000b; Mänd & Tilgar 2003) y polluelos con una mayor longitud de tarso (Mänd et al. 2000b, Dawson & Bidwell 2005, Mänd & Tilgar 2003). Una gran parte de estos trabajos han sido llevados a cabo utilizando como modelo a dos especies de aves insectívoras de pequeño tamaño que nidifican en el interior de oquedades; el carbonero común y el papamoscas cerrojillo *Ficedula hypoleuca*. La principal fuente de calcio para el papamoscas cerrojillo la constituyen isópodos (Isopoda) y miriápodos (Diplopoda) (Burês & Weindinger 2003), por el contrario, los carboneros y otras especies similares (*Parus* spp, herrerillo común *Cyanistes caeruleus*) consumen conchas de caracol como forma de suministro de dicho micronutriente (Graveland et al. 1994, Graveland 1996, Perrins 1996). La abundancia y distribución de los caracoles terrestres viene determinada por el tipo de vegetación y propiedades del suelo tales como el pH o el contenido de calcio intercambiable en el sustrato dado que estos invertebrados obtienen de la cubierta vegetal el calcio necesario para el desarrollo de su concha (Johannsenn & Solhøy 2001, Martin & Sommer 2004, Jubb et al. 2006).

Recientemente, Gosler y colaboradores (2005) han sugerido que el aspecto de la cáscara del huevo (la intensidad, el tamaño y el grado de distribución de las manchas) en el carbonero común se relaciona con la cantidad de calcio en el medio disponible para estas aves. Los huevos de esta especie, al igual que los de los herrerillos comunes y otros Páridos, se caracterizan por presentar un fondo blanco -la matriz calcárea- salpicado por pequeñas manchas de color rojizo debidas a un pigmento conocido como protoporfirina, una sustancia precursora del grupo hemo. Según la hipótesis de Solomon (1987, 1997) la función de estas motas es la de actuar a modo de lubricante, restando rigidez y disminuyendo la porosidad de la cáscara. Dicho planteamiento es apoyado por Gosler y colaboradores en estudios recientes (2005, Higham & Gosler 2006) donde demuestran que las zonas del huevo cubiertas por

pigmento coinciden con las partes más frágiles de la cáscara. Además, estos autores han sugerido que el patrón de pigmentación se relaciona con el grosor de la cáscara y con las características geológicas de los territorios de cría. Por tanto, según esta “hipótesis estructural” las protoporfirinas actuarían como sustitutas del calcio depositándose en zonas especialmente débiles de la cáscara del huevo cuando dicho recurso es escaso. Para comprobar esta hipótesis es necesario llevar a cabo una aproximación experimental. Por otro lado, en un reciente estudio llevado a cabo con una especie emparentada con la anterior, el herrerillo común, se ha mostrado que el patrón de pigmentación de los huevos guarda relación con determinadas parámetros reproductivos (Sanz & García-Navas 2009; ver también García-Navas & Sanz, en prensa). En concreto estos autores han mostrado que aquellos huevos que presentan las manchas más ampliamente distribuidas a lo largo de la superficie de la cáscara presentan una cáscara más gruesa, una menor tasa de pérdida de agua, un periodo de incubación más corto y un éxito de eclosión más elevado que aquellos con las motas concentradas en uno de los polos del huevo a modo de anillo. A su vez, los huevos con manchas más grandes y de color más intenso son los que presentan una cáscara más gruesa y una menor duración del periodo de incubación.

El presente estudio pretende abordar de forma experimental el efecto de un suplemento de calcio sobre el patrón de pigmentación de los huevos en dos poblaciones de herrerillo común en un entorno, los Montes de Toledo (Toledo-Ciudad Real), donde de forma previa (ver Sanz & García-Navas 2009; García-Navas & Sanz, en prensa) hemos observado evidencias de déficit de calcio tales como: frecuentes interrupciones durante la puesta, huevos con cáscara defectuosa (de escaso grosor, de aspecto rugoso y con pigmentación anómala), una baja tasa de eclosión en comparación con otras zonas de la Península Ibérica, malformaciones en los huesos de los pollos e incluso hembras incubando nidos vacíos. En este trabajo se pretende comprobar si la cáscara de los huevos procedentes de hembras con aporte de material rico en calcio durante la puesta presentan un patrón de pigmentación diferente (grado de distribución, intensidad y tamaño de la manchas) o diferentes propiedades físicas (grosor) en comparación con aquellos procedentes de nidos control y si esto tiene repercusión sobre determinados parámetros reproductivos (longitud del periodo de incubación, éxito reproductor). De esta forma se pretende comprobar por primera vez de forma experimental las asociaciones encontradas en estudios correlacionales anteriores (Gosler et al. 2005, Sanz & García-Navas 2009) a fin de ahondar en los mecanismos subyacentes a la posible relación existente entre la pigmentación de los huevos y la disponibilidad de calcio en el medio para estas aves forestales así como sus consecuencias en términos de eficacia biológica de los individuos.

2. Material y métodos

Área de estudio

El estudio fue llevado a cabo en Quintos de Mora (Los Yébenes, Toledo), un espacio catalogado como Coto Social de Caza y cuya extensión alcanza las 8.862 ha. La gestión de esta reserva, enfocada al aprovechamiento cinegético, corresponde en la actualidad al Organismo Autónomo Parques Nacionales (Ministerio de Medio Ambiente).

Quintos de Mora se encuadra en la parte central del Sistema Oretano, entre los bloques paleozoicos de Montes de Toledo y consiste en un amplio valle (Las Navas) tapizado por depósitos cuarcíticos procedentes de las dos vertientes que flanquean la raña. Estas dos alineaciones montañosas forman parte de la Sierra del Pocito (orientación sur) y de las Guadalerzas (orientación norte) cuya elevación máxima alcanza los 1.230 m de altitud.

Corológicamente, Montes de Mora pertenece a la provincia Luso-Extremadurensis, sector Toledano-Tagano. La vegetación dominante es la serie mesomediterránea silicícola de la encina *Quercus rotundifolia*, especialmente en la solana y en las áreas más degradadas. En las umbrías y fondos de valle abundan las formaciones de roble melojo *Quercus pyrenaica* y aparecen especies con mayores requerimientos hídricos como fresnos *Fraxinus angustifolia* y arces *Acer monspessulanum*. En el valle central confluyen manchas de quercíneas adhesionadas y extensos rodales de pinos (*Pinus pinaster*, *P. pinea*) repoblados y sujetos a un continuo manejo forestal. Especies herbáceas y cultivos que sirven de alimento para los ciervos *Cervus elaphus* durante el estío caracterizan el paisaje de la raña.

El presente trabajo se centró en dos bosques de roble melojo con diferente orientación ubicado cada uno en una de las dos elevaciones que bordean el valle de Las Navas. Una de las zonas, Arroyo de Valdeyerno (en adelante Valdeyerno), forma parte del Puerto de Torneros, en la Sierra de las Guadalerzas. En esta vaguada la especie dominante es el roble melojo o rebollo mientras que el estrato arbustivo se caracteriza por la abundancia de peonías *Paeonia broteroi* y diferentes especies de brezo (*Erica scoparia*, *E. lusitanica*, *E. australis*). En las zonas más húmedas se forman turberas (formaciones conocidas en la comarca de Montes de Toledo como “trampales”) y aparecen especies relicticas propias de ambientes higromorfos como el Mirto de Brabante *Myrica gale*. La segunda de las áreas de trabajo se ubica en la Sierra del Pocito, en un fondo de valle conocido como Barranco de Gil García (en adelante Gil García). En esta zona el quejigo *Quercus faginea* acompaña al melojo como especie principal del estrato arbóreo. El sotobosque está compuesto principalmente por *Erica arborea*, *Cistus ladanifer* y *Asphodelus albus*. Ver Gómez Manzaneque (1988), Álvarez (1999) y Torneros (2003) para más detalles sobre la vegetación en el área de estudio.

En ambos bosques hay instalados un total de cien niales de madera para Párido. Estos niales fueron colocados entre 2004 y 2005 con objeto de facilitar la reproducción de aves insectívoras forestales y, por tanto, servir como herramienta de control biológico de las poblaciones de insectos defoliadores en estos bosques (ver p. e. Mols & Visser 2006).

Especie objeto de estudio

La especie modelo escogida para este estudio fue el herrerillo común. Este pequeño passeriforme (10 g) es una de las especies más representativas de los bosques de la Península Ibérica. Especie sedentaria, territorial y monógama, con cierto grado de poliginia. Realiza una única puesta entre Abril y Junio cuyo tamaño suele oscilar entre los cinco y los doce huevos (tamaño medio de puesta registrado en el Sistema Central: 9,5 huevos). En la cría de los polluelos colaboran ambos miembros de la pareja. Para más detalles sobre la ecología de esta especie consultar Tellería et al (1996).

Diseño del experimento

El experimento de suplemento de calcio fue llevado a cabo mediante la colocación de comederos de plástico transparentes (9 x 5 x 6 cm) en la parte inferior del frontal de los niales una vez finalizado el período de construcción del nido. Tras la puesta del primer huevo, al nido en cuestión se le asignó una categoría: control o experimental. En los nidos experimentales aportamos una dosis diaria de 1.0 g de una mezcla (50:50) compuesta por cáscara de huevo blanco de gallina y conchas de caracol trituradas hasta el final de la puesta. Cada día los comederos fueron revisados para pesar la cantidad remanente de mezcla con una balanza de alta precisión (Tanita mod. 123, 0.001 g) y determinar así la tasa de consumo y la cantidad a añadir hasta llegar a la dosis diaria establecida. En los nidos control no se aportó material rico en calcio con objeto de comprobar el posible efecto *per se* de la instalación de los comederos sobre las variables reproductivas. A la hora de asignar a cada nido el tratamiento a recibir se tuvo en cuenta el estado de los nidos adyacentes con objeto de evitar el consumo de calcio por parte de aves sin suplemento localizadas en territorios vecinos (Graveland & Drent 1997, Reynolds et al. 2004). Así, se estableció una separación mínima de 100 m entre nidos correspondientes a distintos tratamientos. Por otro lado, con el fin de evitar la existencia de diferencias entre los dos grupos provocadas por la diferente fenología de los individuos, se trató de emparejar nidos experimentales y nidos control en relación a la fecha de puesta (fecha media de inicio de la puesta: 1 = 1 de Abril, Gil García: experimental = 17.9; control = 17.9; Valdeyerno: experimental = 20.6; control = 20.4). El tamaño de muestra fue de catorce pares de nidos en cada uno de los dos bosques (Gil García: n experimental = 14, n control = 14; Valdeyerno: n experimental = 14, n control = 14).

Debido al diseño del experimento las aves tardaron tiempo en acostumbrarse a usar los comederos. Fueron frecuentes los casos en los que no se detectó consumo de calcio durante uno o varios días especialmente al comienzo del periodo de puesta. El porcentaje de huevos para los que se detectó ingesta de material rico en calcio el día previo a la puesta fue 73.2 % y 59.6 % en Gil García y Valdeyerno, respectivamente. Los datos de consumo de calcio se presentan como peso neto asumiendo un contenido del 34 % en calcio (33 % para las conchas de caracol y 35 % para las cáscara de huevo, ver Graveland 1995) para la mezcla proporcionada a las aves en los comederos.

Protocolo de campo

Mediante revisiones diarias de los nidales se obtuvieron los siguientes parámetros reproductivos: fecha de inicio de la puesta, tamaño de puesta, duración del período de incubación, éxito de eclosión (número de pollos nacidos/ tamaño de puesta) y éxito reproductor (número de polluelos volados/ tamaño de puesta). El huevo del día fue numerado con un rotulador permanente Staedtler y fotografiado de perfil con ayuda de una pequeña peana y un fondo con una referencia para calcular el tamaño real. La mayoría de los huevos no eclosionados fueron retirados de los nidos y conservados en frío (-4 °C) para su posterior análisis en el laboratorio (ver más abajo).

Cuando los polluelos contaban con 8 días de edad los padres fueron capturados en el nido mientras cebaban a las crías. Cada individuo fue identificado con una anilla metálica (ICONA, DGCONA-Ministerio de Medio Ambiente), se determinó su sexo y edad siguiendo a Svensson (1996) y se procedió a la toma de medidas biométricas: longitud del ala, longitud del metatarso y peso. Estas mismas medidas también se obtuvieron para los polluelos a la edad de 13 días. La tasa de depredación observada (2 %) fue baja debido a que los nidales fueron protegidos con una malla metálica en los laterales para evitar la acción del pico picapinos *Dendrocopos major* (ver Mainwaring & Hartley 2008 para un método similar) y un tubo de PVC adosado al orificio de entrada para impedir el acceso al nido por parte de comadreja *Mustela nivalis*, garduñas *Martes foina* y otros carnívoros similares (p. e. Potti & Merino 1994, Sanz 2001).

Estimas de la disponibilidad de conchas de gasterópodos (Gastropoda) como fuente de calcio para las aves

La abundancia de caracoles terrestres en las dos parcelas de estudio fue estimada a partir de la inspección del mantillo o capa superficial del suelo dentro de cuadrículas de 1 x 1 m seleccionadas al azar y distribuidas en el espacio y en el tiempo. Aparte de estos conteos directos también se llevaron a cabo entrevistas a personas que por su actividad (botánicos, micólogos, guardería forestal) pudieran tener información sobre la presencia de estos organismos en el interior del área de estudio o en zonas limítrofes.

Obtención de datos referentes al patrón de pigmentación de los huevos y propiedades físicas de la cáscara

A partir de las fotografías obtenidas durante el trabajo de campo a todos los huevos ($n = 503$, correspondientes a 56 puestas) se les asignó un valor para cada una de las siguientes categorías siguiendo el protocolo utilizado por Gosler y colaboradores (2000): intensidad (de 1 a 5, con valor 1 para aquellos huevos con las manchas muy tenues y valor 5 para los que presentan un moteado de color muy intenso), tamaño (de 1 a 3, con valor mínimo para los huevos con las motas más pequeñas y valor máximo para aquellos que presentan amplias superficies cubiertas por pigmento) y grado de distribución de las manchas (de 1 a 5, con valores más bajos para los huevos con las manchas concentradas en uno de sus polos y valores más altos para aquellos que presentan una distribución homogénea del moteado a lo largo de la superficie de la cáscara). La categorización del patrón de pigmentación de los huevos fue realizada por un único observador (VGN). Dado que estas tres variables están altamente correlacionadas se llevó a cabo un Análisis de Componentes Principales (PCA) a partir de la matriz de correlación de los valores de intensidad, distribución y tamaño de las manchas con objeto de disminuir la redundancia de estas medidas (ver Gosler et al. 2000, 2005; Sanz & García-Navas 2009 para un procedimiento similar). Los dos componentes principales obtenidos, Pc1 y Pc2, explican un 80.3 % de la varianza total. El primer componente (Pc1) hace referencia a la intensidad del pigmento y el tamaño de las manchas; huevos con valores más elevados del primer componente principal son aquellos que presentan manchas más grandes y con un color más marcado. El segundo componente (Pc2) describe el grado de agregación de las manchas; huevos con un valor más alto del segundo componente principal son aquellos que presentan una distribución más homogénea de las manchas a lo largo de la superficie de la cáscara. Para algunos análisis la muestra inicial fue reducida a 249 huevos tras descartar aquellos para los cuales no se encontraron evidencias de consumo de calcio el día previo a la puesta (ver análisis estadísticos).

Por otro lado, los huevos no eclosionados (27 huevos procedentes de 27 puestas) fueron partidos por la mitad con una cuchilla y se procedió al vaciado de su contenido de manera minuciosa utilizando material de disección. A continuación se pesó la cáscara en una balanza de mesa y se midió el grosor de la misma con ayuda de un espesímetro digital (Mitutoyo, 0.001 mm) en tres zonas diferentes de la parte roma del huevo incluyendo áreas con y sin pigmento. A partir de las fotografías tomadas durante la primavera se obtuvo la longitud y anchura de cada huevo utilizando el programa Adobe Photoshop 7.0. y se procedió a calcular el índice de esfericidad (ratio anchura/longitud). El volumen de cada huevo se obtuvo empleando la fórmula dada por Hoyt (1979). Debido al bajo tamaño de muestra (Valdeyerno: $n = 11$) en análisis posteriores sólo fueron tenidos en cuenta los huevos recogidos en Gil García (experimental = 13, control = 14).

Análisis estadísticos

Los dos tratamientos (nidos experimentales, nidos control) fueron comparados mediante el uso de Modelos Lineales Generales Mixtos (GLMMs). Se comprobó si [1] el patrón de pigmentación, [2] determinados parámetros reproductivos (tamaño de puesta, duración del periodo de incubación, éxito de eclosión) y [3] la condición corporal de adultos y polluelos difirió entre ambos grupos incluyendo el área de estudio, el tratamiento y la interacción de ambos como factores y una serie de términos como covariables (fecha de puesta, tamaño de puesta, tamaño de la nidada, orden de puesta, volumen del huevo). Todos los análisis fueron llevados a cabo utilizando valores medios por nido excepto aquellos relativos a las propiedades físicas de la cáscara (muestra de huevos no eclosionados). El efecto del suplemento de calcio sobre el patrón de pigmentación de la cáscara fue también analizado teniendo en cuenta sólo aquellos huevos en los que se encontraron evidencias de consumo de calcio al día siguiente y sus equivalentes en el orden de puesta para los nidos control. Siguiendo este mismo procedimiento, se comparó el éxito de eclosión de huevos procedentes de nidos experimentales y nidos control (emparejados por fecha de puesta) mediante un test de la *t*. Por último, en los nidos experimentales comprobamos la existencia de diferencias en el patrón de pigmentación dentro de una misma puesta entre aquellos huevos en los cuales se detectó consumo de calcio y aquellos en los cuales la cantidad de mezcla depositada en los comederos permaneció constante durante dos o más días.

En los resultados sólo se muestran los estadísticos resultantes de los modelos finales, obtenidos tras la eliminación de aquellos términos no significativos incluidos de forma inicial en los distintos análisis. Todos los valores se presentan como la media \pm su desviación estándar. Los análisis estadísticos fueron llevados a cabo con el software Statistica 6.

3. Resultados

Disponibilidad de conchas de gasterópodos como fuente de calcio para las aves en el área de estudio

No se detectó presencia de caracoles terrestres en ninguna de las cuadrículas muestreadas. Las consultas realizadas entre el personal de la finca confirman este resultado; ninguno de los informadores ha detectado la presencia de conchas de gasterópodos en esta localidad durante la época de cría o recuerdan su observación en otros periodos del año.

Rasgos reproductivos de las poblaciones

Las dos poblaciones consideradas en el estudio no difirieron en la fecha (Bosque: $F_{1,26} = 0.37$, $P = 0.54$; Tabla 1), el tamaño de puesta (Bosque: $F_{1,25} < 0.01$, $P = 0.93$; Fecha de puesta: $F_{1,25} = 22.05$, $P < 0.001$; Tabla 1) o la longitud del periodo de incubación (Bosque: $F_{1,24} = 0.99$, $P = 0.33$;

Fecha de puesta: $F_{1,24} = 2.70$, $P = 0.12$; Tamaño de puesta: $F_{1,24} = 0.07$, $P = 0.80$; Tabla 1). Sí se observaron diferencias significativas entre ambos bosques en relación al éxito de eclosión (Bosque: $F_{1,26} = 5.52$, $P = 0.03$; Tabla 1); en Gil García la tasa de eclosión fue inferior a la encontrada en Valdeyerno. La misma tendencia fue observada en relación al éxito reproductor; el número de polluelos volados por nido fue significativamente inferior en Gil García (Bosque: $F_{1,26} = 13.70$, $P < 0.01$; Tabla 1).

También se encontraron diferencias naturales entre estas dos poblaciones en cuanto a pigmentación de los huevos considerando sólo los nidos control. En Gil García los huevos presentaron una distribución del moteado más extrema (tendencia de las manchas a concentrarse en uno de los polos) que en Valdeyerno (Bosque: $F_{1,25} = 7.55$, $P = 0.01$; Fecha de puesta: $F_{1,25} = 5.92$, $P = 0.02$; Tabla 1). El porcentaje de huevos con las manchas agregadas en un extremo a modo de anillo (distribución ≤ 2.5) fue 30.2 % ($n = 122$) y 5.7 % ($n = 129$) en Gil García y Valdeyerno, respectivamente. Los huevos en Gil García también presentaron valores más bajos de intensidad y tamaño de las manchas (Tabla 1) aunque las diferencias no fueron significativas ($P > 0.5$ en ambos casos).

	Gil García ($n = 14$)	Valdeyerno ($n = 14$)
Fecha de puesta (1 = 1 Abril)	17.86 \pm 13.9	20.57 \pm 9.24
Tamaño de puesta	9.29 \pm 2.46	8.93 \pm 1.27
Duración de la incubación	14.00 \pm 0.35	13.36 \pm 0.35
Éxito de eclosión	71.28 \pm 4.11	85.32 \pm 4.11
Éxito reproductor	56.18 \pm 25.5	84.63 \pm 12.3
Intensidad de las manchas	3.74 \pm 0.59	3.91 \pm 0.34
Distribución del moteado	3.22 \pm 0.97	3.73 \pm 0.52
Tamaño de las manchas	2.00 \pm 0.30	2.08 \pm 0.34

Tabla 1. Parámetros reproductivos generales y atributos del patrón de pigmentación de los huevos para dos poblaciones de herrerillo común del centro de España. Sólo se incluyen los nidos control.

Patrón de ingesta diaria de material rico en calcio

El consumo medio de calcio durante la puesta fue de 238.5 mg (32.5 por huevo) y 148.9 mg (17.9 mg por huevo) en Gil García y Valdeyerno, respectivamente. La ingesta diaria aumentó el día posterior a la puesta de huevos con cáscara defectuosa (cáscara frágil, manchas de pigmento agregadas en un extremo del huevo a modo de anillo; obs. pers.). En Gil García, el porcentaje de huevos con las manchas concentradas en uno de los polos fue significativamente menor en los nidos que se aportó calcio respecto a los nidos control considerando todos los huevos (experimental: 19.3 %, control: 35.7 %; $\chi^2_1 = 3.68$, $P = 0.049$) y sólo aquellos puestos previo consumo de calcio el día anterior y sus equivalentes en orden de puesta para los nidos control

(experimental: 8.6 %, control: 37.9 %; $\chi^2_1 = 8.81$, $P < 0.01$). En Valdeyerno, la proporción de huevos con pigmentación anómala no difirió de forma significativa entre los dos grupos ($P > 0.05$).

Efecto del suplemento de calcio sobre el patrón de pigmentación de los huevos

Con respecto al patrón de pigmentación, no se encontraron diferencias significativas entre nidos experimentales y nidos control en cuanto a la intensidad y tamaño de las manchas de pigmento (Pc1; Bosque: $F_{1,51} = 9.39$, $P < 0.01$; Tratamiento: $F_{1,51} = 0.71$, $P = 0.40$; Bosque \times Tratamiento: $F_{1,51} = 0.13$, $P = 0.72$; Tamaño de puesta: $F_{1,51} = 0.44$, $P = 0.51$) o el grado de distribución de éstas (Pc2; Bosque: $F_{1,51} = 3.94$, $P = 0.05$; Tratamiento: $F_{1,51} = 0.02$, $P = 0.90$; Bosque \times Tratamiento: $F_{1,51} = 1.46$, $P = 0.23$; Tamaño de puesta: $F_{1,51} = 0.77$, $P = 0.38$). En cambio, se observaron diferencias significativas entre grupos en relación al grado de distribución de las manchas al considerar sólo aquellos huevos para los cuales se detectó consumo de calcio el día anterior y sus semejantes en la secuencia de puesta dentro de los nidos control (Pc2; Bosque: $F_{1,51} = 3.91$, $P = 0.05$; Tratamiento: $F_{1,54} = 4.17$, $P = 0.046$; Bosque \times Tratamiento: $F_{1,51} = 2.53$, $P = 0.12$; Tamaño de puesta: $F_{1,51} = 0.87$, $P = 0.36$). Los huevos procedentes de nidos experimentales presentaron una distribución más homogénea de las manchas en comparación con los de los nidos control (Fig. 1). Para el caso de la intensidad y tamaño de las manchas se mantuvo el resultado obtenido al incluir todos los huevos, aunque se observó una ligera tendencia indicando un incremento de la intensidad y el tamaño de las manchas en los nidos con suplemento de calcio (Pc1; Bosque: $F_{1,51} = 6.4$, $P = 0.01$; Tratamiento: $F_{1,51} = 3.04$, $P = 0.09$; Bosque \times Tratamiento: $F_{1,51} = 0.26$, $P = 0.61$; Tamaño de puesta: $F_{1,51} < 0.01$, $P = 0.94$).

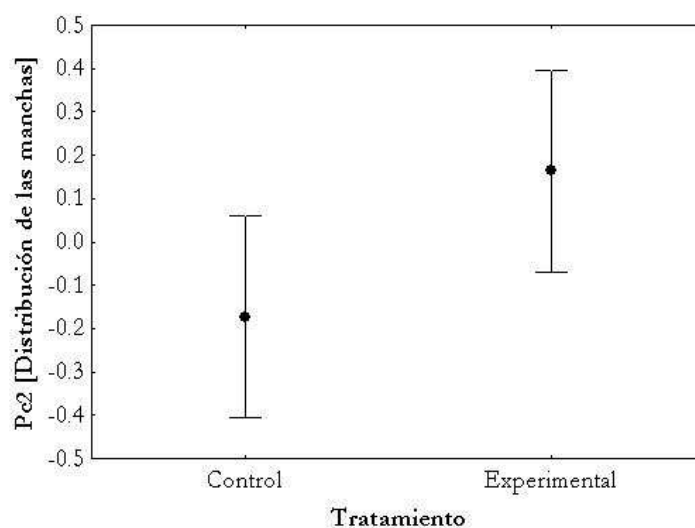


Fig. 1. Diferencias en el grado de distribución de las manchas (Pc2) entre huevos procedentes de nidos en los cuales se aportó calcio durante la puesta y aquellos procedentes de nidos control.

En cuanto a la variación a nivel intra-puesta (es decir, diferencias existentes entre los huevos pertenecientes a un mismo nido) en los valores de pigmentación dentro de los nidos experimentales, se encontró que aquellos huevos para los cuales se detectó consumo de calcio el día previo a la puesta presentaron manchas más grandes, de color más intenso y más ampliamente distribuidas en comparación con aquellos para los cuales no se encontraron evidencias de ingesta de calcio el día anterior (Pc1: $t_{44} = -2.25$, $P = 0.03$, Fig. 2a; Pc2: $t_{44} = -2.23$, $P = 0.03$, Fig. 2b).

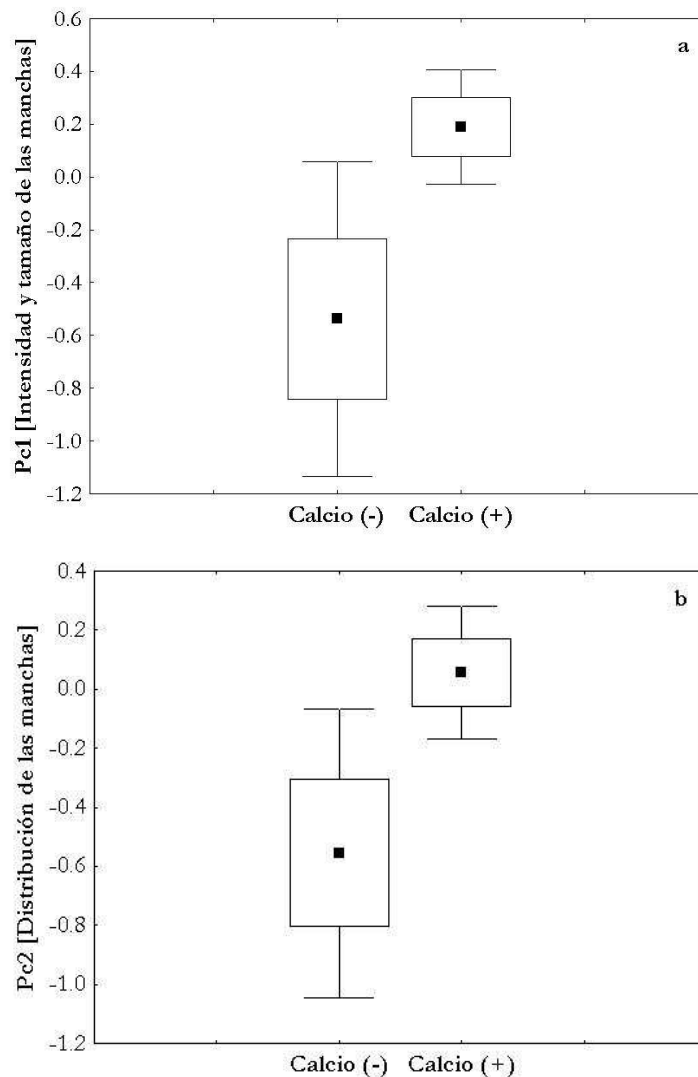


Fig. 2. Variación intra-puesta en la intensidad y tamaño de las manchas (a) y el grado de distribución del moteado (b) entre aquellos huevos para los cuales se detectó consumo de calcio el día previo a la puesta [Calcio (+)] y para los que no [Calcio (-)] dentro de nidos experimentales.

Efecto del suplemento de calcio sobre el grosor de la cáscara

El grosor de la cáscara de los huevos se vio afectado por el experimento. Se encontró que los huevos no eclosionados procedentes de nidos experimentales presentaron una cáscara

significativamente más gruesa que aquellos procedentes de nidos en los cuales no hubo aporte de calcio durante la puesta (Fig. 3, Tratamiento: $F_{1,24} = 10.37$, $P < 0.01$; Fecha de puesta: $F_{1,21} = 0.03$, $P = 0.87$; Orden de puesta: $F_{1,21} = 0.96$, $P = 0.34$; Índice de esfericidad: $F_{1,21} = 2.47$, $P = 0.13$; Volumen del huevo: $F_{1,24} = 6.73$, $P = 0.02$).

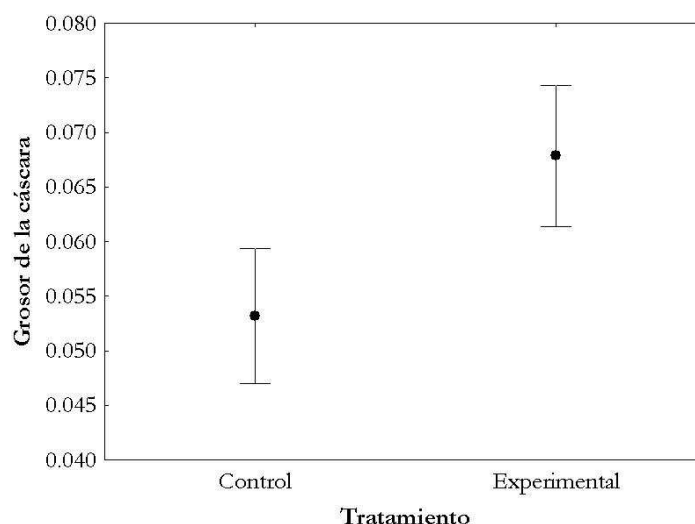


Fig. 3. Diferencia en el grosor de la cáscara (mm) entre huevos hueros procedentes de nidos experimentales y huevos hueros procedentes de nidos control recolectados en Gil García.

Efecto del suplemento de calcio sobre variables reproductivas: tamaños de puesta, periodo de incubación, condición de las crías y de los adultos y éxito reproductor

El tamaño de puesta no difirió de forma estadísticamente significativa entre ambos tratamientos (Bosque: $F_{1,52} = 0.96$, $P = 0.33$; Tratamiento: $F_{1,52} = 0.08$, $P = 0.78$; Bosque \times Tratamiento: $F_{1,52} = 2.82$, $P = 0.10$). Por el contrario, sí encontramos diferencias significativas entre nidos experimentales y nidos control en cuanto a la duración del periodo de incubación, aunque sólo en uno de las dos zonas de estudio (Bosque: $F_{1,51} = 1.03$, $P = 0.31$; Tratamiento: $F_{1,51} = 2.70$, $P = 0.11$; Bosque \times Tratamiento: $F_{1,51} = 0.93$, $P = 0.34$; Tamaño de puesta: $F_{1,51} = 4.46$, $P = 0.04$). Los análisis *a posteriori* revelaron que en el Barranco de Gil García las hembras que recibieron el suplemento de calcio presentaron un periodo de incubación más corto en comparación con las hembras de los nidos control (LSD test, Gil García: $P = 0.03$; Valdeyerno: $P = 0.86$).

El éxito de eclosión no varió entre nidos experimentales y nidos control al considerar las puestas en su conjunto, es decir, incluyendo todos los huevos independientemente del uso que se hizo de los comederos durante la fase de puesta (Bosque: $F_{1,51} = 13.14$, $P < 0.001$; Tratamiento: $F_{1,51} = 0.25$, $P = 0.62$; Bosque \times Tratamiento: $F_{1,51} = 0.80$, $P = 0.37$; Tamaño de puesta: $F_{1,51} = 4.02$, $P = 0.05$). Sin embargo, se encontró una diferencia significativa en la probabilidad de eclosión al incluir sólo los huevos para los cuales las hembras ingirieron calcio

el día previo a la ovoposición y su equivalentes en cuanto a orden de puesta para los nidos control; la tasa de eclosión fue más elevada en los nidos experimentales (Fig. 4; $t_{27} = 3.29$, $P < 0.001$).

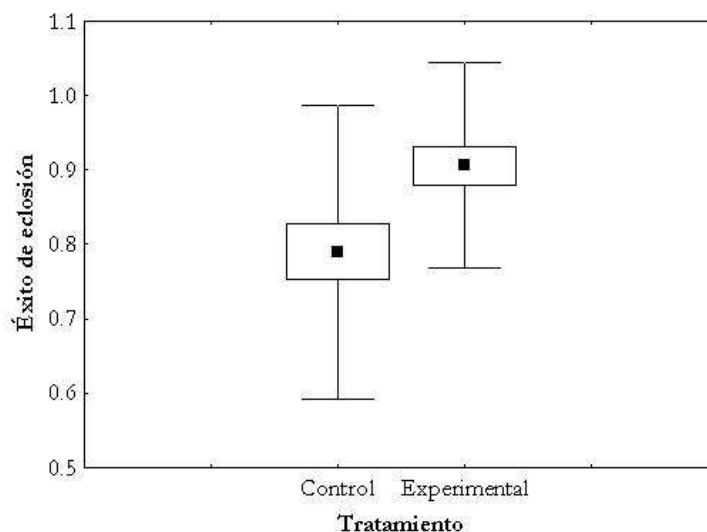


Fig. 4. Éxito de eclosión medio reportado en nidos con suplemento de calcio frente al obtenido para los nidos control.

El experimento no tuvo un efecto significativo sobre el éxito reproductor de las aves; las parejas suplementadas con calcio no criaron más polluelos que las control (Bosque: $F_{1,51} = 6.23$, $P = 0.02$; Tratamiento: $F_{1,51} < 0.01$, $P = 0.94$; Bosque \times Tratamiento: $F_{1,51} = 1.08$, $P = 0.30$; Tamaño de puesta: $F_{1,51} = 4.32$, $P = 0.04$). No se encontró un efecto del aporte de calcio sobre los parámetros corporales de las crías; los valores medios de peso (Bosque: $F_{1,48} = 5.30$, $P = 0.03$; Tratamiento: $F_{1,48} = 0.25$, $P = 0.62$; Bosque \times Tratamiento: $F_{1,48} = 0.14$, $P = 0.71$; Tamaño de la nidada: $F_{1,48} = 5.97$, $P = 0.02$; Longitud del tarso: $F_{1,48} = 16.93$, $P < 0.001$), longitud del tarso (Bosque: $F_{1,49} = 1.35$, $P = 0.25$; Tratamiento: $F_{1,49} = 0.12$, $P = 0.73$ Bosque \times Tratamiento: $F_{1,49} = 0.38$, $P = 0.54$; Tamaño de la nidada: $F_{1,49} = 0.04$, $P = 0.85$) y longitud del ala (Bosque: $F_{1,49} = 1.74$, $P = 0.19$; Tratamiento: $F_{1,49} = 1.35$, $P = 0.25$; Bosque \times Tratamiento: $F_{1,49} = 1.34$, $P = 0.25$; Tamaño de la nidada: $F_{1,49} = 0.66$, $P = 0.42$) no difirieron significativamente entre nidadas experimentales y nidadas control.

Tampoco hubo diferencias entre ambos grupos en relación a la condición corporal de machos (Bosque: $F_{1,37} = 0.17$, $P = 0.68$; Tratamiento: $F_{1,37} = 0.70$, $P = 0.41$; Bosque \times Tratamiento: $F_{1,37} = 1.33$, $P = 0.25$; Longitud del tarso: $F_{1,37} = 2.21$, $P = 0.14$) y hembras (Bosque: $F_{1,45} = 5.03$, $P = 0.03$; Tratamiento: $F_{1,45} = 0.46$, $P = 0.50$; Bosque \times Tratamiento: $F_{1,45} = 2.60$, $P = 0.11$; Longitud del tarso: $F_{1,45} = 1.97$, $P = 0.17$).

4. Discusión

El presente estudio es el primero en mostrar evidencias de un efecto limitante del calcio sobre la reproducción de aves silvestres en España pese a que los suelos de la Península Ibérica presenta los valores más bajos de calcio intercambiable de toda Europa Occidental (Patten 2008 y referencias). A su vez, este trabajo aborda por primera vez de forma experimental el papel del calcio en el patrón de pigmentación de los huevos maculados, aquellos que se caracterizan por presentar un fondo blanco salpicado por manchas de color rojizo debidas a un pigmento llamado protoporfirina. La hipótesis de la función estructural propuesta por Solomon (1987, 1997) y los resultados obtenidos en recientes estudios correlacionales (Gosler et al. 2005, Higham & Gosler 2006, Jagannath et al. 2008, Sanz & García-Navas 2009) sugieren la existencia de una relación entre la pigmentación del huevo y el grosor de la cáscara mediada por la adquisición de calcio. En concreto, Gosler y colaboradores (2005) mostraron que la intensidad y el tamaño de las manchas de pigmento en los huevos estaba estrechamente relacionada con la disponibilidad de calcio en las inmediaciones de los territorios de cría. Sin embargo estos autores no encontraron asociación entre el grado de dispersión de las manchas sobre la superficie de la cáscara y la abundancia local de calcio disponible.

De acuerdo con la “hipótesis estructural” propuesta por Solomon (1987, 1997) las protoporfirinas actuarían a modo de lubricante incrementado la cohesión de la matriz cristalina de carbonato cálcico que conforma la cáscara. En hábitats pobres en calcio dicha función resultaría especialmente importante al tener que compensar las protoporfirinas (como sustitutas del calcio) el escaso grosor de la cáscara en determinadas regiones del huevo. Por tanto, si las áreas cubiertas por pigmento se corresponden con zonas especialmente frágiles de la cáscara deberíamos esperar encontrar un efecto del suplemento de calcio sobre la intensidad y el tamaño de las manchas, con valores más bajos en los huevos procedentes de nidos experimentales en comparación con aquellos procedentes de los nidos control. En contra de lo esperado, la intensidad y el tamaño de las manchas (Pc1) no difirió de forma significativa entre ambos grupos. Cabe señalar que dichos atributos no varían de forma tan marcada como el patrón de distribución de las manchas (Pc2), cuya varianza es amplia incluso dentro de una misma puesta. Este hecho podría estar relacionado con el elevado componente genético que este rasgo (Pc1) parece presentar. Gosler y colaboradores (2000) mostraron en un estudio llevado a cabo con carboneros comunes que la intensidad y el tamaño de manchas son heredables vía materna, sugiriendo que parte de la variación observada en el patrón de pigmentación de los huevos en una población es debida al factor hereditario, es decir, al grado de parentesco entre los individuos que la componen.

Por otro lado, en este trabajo se ha encontrado una relación no descrita con anterioridad entre el grado de dispersión del moteado y la disponibilidad de calcio. El aporte

de material-rico en calcio durante el periodo de puesta afectó a patrón de distribución de las manchas, el cual determina en gran medida la viabilidad del huevo (es decir, su probabilidad de eclosión) y, por tanto, puede servir como un indicador de calidad del mismo (Sanz & García-Navas 2009). En este sentido, se observó que las hembras que recibieron aporte de calcio pusieron huevos con las manchas más ampliamente distribuidas. Además, considerando sólo los nidos experimentales, hubo diferencias estadísticamente significativas entre aquellos huevos para los cuales se detectó consumo de calcio el día anterior a la ovoposición y aquellos en los que no fue así dentro de la misma puesta. Esta diferencia presumiblemente sea debida al hecho de que las aves insectívoras y granívoras de pequeño tamaño deben de recolectar la cantidad de calcio necesaria para la formación del huevo en dosis diarias (Graveland & van Gijzen 1994, Perrins 1996, Reynolds 1997, Graveland & Berends 1997). En este estudio se observó una asociación directa entre la variación del grado de distribución de las manchas dentro de los huevos de un mismo nido y el patrón de ingesta de calcio reportado durante la secuencia de puesta. La ausencia de uso de los comederos o el consumo de baja cantidad de material-rico en calcio coincidió con los valores mínimos de calidad de la cáscara (huevos con pigmentación anómala, cáscara mate y muy porosa) tras los cuales se incrementó la ingesta de calcio de forma notable. Por tanto, parece existir una relación inmediata (de un día para otro) entre la ingesta del calcio y la deposición de pigmento en el huevo posiblemente mediada por las reservas o la condición física de la hembra.

En Gil García, se observó que el suplemento de calcio redujo la proporción de huevos con cáscaras defectuosas. Por el contrario, en Valdeyerno no se encontraron diferencias significativas entre nidos experimentales y nidos control presumiblemente debido a que la situación de partida, es decir, las condiciones naturales de esta población resultaron más óptimas que en Gil García tal y como se apreció al comparar los parámetros reproductivos generales (éxito de eclosión, éxito reproductor) y los valores de pigmentación de los nidos control de ambos bosques (Tabla 1). La existencia de estas diferencias entre las dos poblaciones pese a la escasa distancia que les separa (< 8 km) podría estar relacionada con el diferente grado de desarrollo que presenta el estrato arbustivo en estas zonas; en Gil García el sotobosque es mucho menos escaso que en el melojar de Valdeyerno. La cobertura arbustiva se torna especialmente importante para las aves de pequeño tamaño dado que su grado de desarrollo podría afectar a la abundancia de su principal fuente de calcio en estos bosques, miriápodos e isópodos (Graveland & van Gijzen 1994; V. García-Navas, datos inéditos). En este sentido, la presión herbívora ejercida por especies de caza mayor como ciervos, corzos *Capreolus capreolus* o gamos *Dama dama* podría afectar de forma negativa a las aves forestales de un modo indirecto tal y como se ha mostrado en diversos estudios (Allomber et al. 2005, Gill & Fuller 2007, Pedersen et al. 2007). De hecho, en una zona próxima al área de estudio, el Parque Nacional de

Cabañeros (Ciudad Real-Toledo), se ha encontrado una relación entre los valores de pigmentación de los huevos y la proximidad de cercados que impiden el acceso a los unguados; la calidad de la cáscara de los huevos descendió al aumentar la distancia existente entre los territorios de cría y las exclusiones (Sanz & García-Navas, datos inéditos). En Quintos de Mora, un paraje con una carga cinegética elevada (30 ind./100 ha, Orueta et al. 1998) el efecto de la presión herbívora sobre la abundancia de invertebrados (Spitzer et al. 2008) y en consecuencia sobre la aves podría ser aún más acuciante. A este factor debemos añadir otra peculiaridad que encontramos en los Montes de Toledo, su particular geología. Este sistema constituye una de las orogénias más antiguas de la Península Ibérica donde se predominan los afloramientos de cuarcitas en las sierras, siendo comunes las pedrizas y canchales, y los depósitos de arcilla y conglomerados en los valles o rañas dando lugar a un relieve apalachense. Este substrato ácido y la cobertura vegetal de estos bosques (donde el calcio presente en el suelo se transforma en oxalato, una sal menos soluble) impiden la presencia de moluscos terrestres (p. e. Wäreborn 1969, Skeldon et al. 2007)

El tamaño de puesta no se vio afectado por el experimento. Con respecto a esto cabe mencionar que los efectos del aporte de calcio sobre determinados parámetros reproductivos (especialmente sobre aquellos sujetos a fuertes limitaciones fisiológicas) podrían variar ampliamente de un año en función de determinados factores ambientales (es decir, variaciones anuales en la disponibilidad de alimento o factores abióticos como la temperatura que determinan que una primavera en particular pueda ser catalogada como “buena” o “mala”) tal y como mostraron Tilgar y colaboradores (1999, 2002) mediante una investigación a largo plazo. Por tanto, debemos de ser cautos a la hora de interpretar estos resultados. Por otra parte, el experimento sí afectó a la duración del periodo de incubación. De forma previa, Higham & Gosler (2006) mostraron en un estudio en el que intercambiaron huevos entre nidos de carbonero común una asociación entre la coloración de la cáscara y el comportamiento de la hembra durante la incubación. En el presente trabajo se encontró que aquellas hembras que recibieron aporte de calcio durante la puesta presentaron un periodo de incubación más corto. Siguiendo esta línea, en un trabajo anterior (Sanz & García-Navas 2009) se ha mostrado una asociación entre la duración de la incubación y el grado de distribución de las manchas. Ambos resultados coinciden con el hecho de que los huevos con cáscaras defectuosas y un patrón de pigmentación aberrante presentan una mayor pérdida de agua (Graveland et al. 1994, Sanz & García-Navas 2009, García-Navas & Sanz, en prensa). En este sentido, los resultados aquí presentados muestran un incremento del grosor de la cáscara en aquellos nidos en los que se aportó calcio durante la puesta. Un resultado similar al obtenido en estudios experimentales llevados a cabo con carboneros y papamoscas cerrojillo en Estonia (Mänd et al. 1999, Tilgar et al. 1999). Probablemente como resultado de lo anterior la proporción de huevos que fracasaron

debido a una pérdida excesiva de agua por evapotranspiración o a la fractura de la cáscara fue inferior en los nidos experimentales. Por otro lado, dado que los comederos fueron retirados una vez completada la puesta (ver Tilgar et al. 2002, Mänd & Tilgar 2003, Dawson & Bidwell 2005 para un procedimiento alternativo) no resulta sorprendente la ausencia de un efecto del suplemento de calcio sobre la condición de los polluelos.

Los resultados obtenidos apoyan la idea de que el patrón de pigmentación de los huevos constituye un buen indicador de la calidad de la cáscara y, por tanto, de su viabilidad (Gosler et al. 2005, Sanz & García-Navas 2009). La razón por la cual las aves que presentan un déficit de calcio tienden a poner huevos con las manchas concentradas en uno de los polos merece ser objeto de futuros estudios. De acuerdo con la hipótesis de la función estructural planteada por Solomon (1987, 1997), Gosler y colaboradores (2005) han sugerido que la protoporfirina es depositada en regiones especialmente frágiles de la cáscara donde falta calcio. En este estudio no se han encontrado evidencia experimental que apoye dicha idea puesto que, en contra de lo que cabría esperarse, el aporte de calcio no redujo el tamaño de las manchas ni la intensidad del pigmento. Los datos obtenidos sugieren que la cantidad de protoporfirinas presente en la superficie de la cáscara no refleja la cantidad de calcio disponible en el medio; por tanto, los huevos immaculados (huevos blancos, sin marcas de pigmento) no parecen ser el mejor morfotipo posible que pueden presentar los huevos de los Páridos y otras especies con pigmentación similar. Así, este estudio experimental no apoya la idea de las protoporfirinas como sustitutas del calcio cuando este micronutriente es limitante (Solomon 1987, Gosler et al. 2005). Este aspecto requiere investigación centrada en los mecanismos que determinan la deposición del pigmento a fin de aumentar nuestro conocimiento sobre los procesos fisiológicos implicados en un fenómeno que ha llamado la atención de numerosos ecólogos evolutivos desde finales del XIX (p. e. Wallace 1889, ver Kilner 2006 para una revisión).

En conclusión, el suplemento de material rico en calcio durante la fase de puesta dio lugar a un incremento del grosor de la cáscara y la tasa de eclosión y una disminución de la duración del periodo de incubación y de la frecuencia de aparición de huevos con cáscara defectuosa. Tal y como se ha mostrado, el grado de distribución de las manchas constituye un rasgo plástico sensible a las condiciones ambientales experimentadas por la hembra durante la fase de formación del huevo. Estudios a gran escala que reporten el grado de variación de esta variable considerando puestas procedentes de diferentes poblaciones de Europa (es decir, la varianza en el patrón de distribución de las manchas a lo largo de un gradiente de disponibilidad de calcio desde latitudes más septentrionales hasta el sur del continente) podrían proporcionar información sobre la preponderancia del calcio como factor limitante para las aves de pequeño tamaño durante la reproducción en hábitats diferentes.

5. Referencias

- Allombert, S., Gaston, A. J. & Martin, J.-L. 2007. A natural experiment on the impact of overabundant deer on songbird populations. *Biodiv. Conserv.* 126: 1-13.
- Álvarez, G. 1999. Ecología y gestión de las poblaciones de cérvidos, ciervo (*Cervus elaphus*) gamo (*Dama dama*) y corzo (*Capreolus capreolus*) en los Quintos de Mora (Montes de Toledo). Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid, Madrid.
- Ar, A., Paganelli, C. V., Reeves, R. B., Greene, D. G. & Rahn, H. 1974. The avian egg: water vapour conductance, shell thickness, and functional pore area. *Condor* 76: 153-158.
- Balkan, M., Karakas, R. & Biricik, M. 2006. Changes in eggshell thickness, shell conductance and pore density during incubation in the Peking Duck (*Anas platyrhynchos* f. *dom*). *Ornis Fennica* 83: 117-123.
- Burês, S. & Weidinger, K. 2001. Do pipits use experimentally supplemented rich sources of calcium more often in an acidified area? *J. Avian Biol.* 32: 194-198.
- Burês, S. & Weidinger, K. 2003. Sources and timing of calcium intake during reproduction in flycatchers. *Oecologia* 137: 634-647.
- Dawson, R. D. & Bidwell, M. T. 2005. Dietary calcium limits size and growth of nestling tree swallows *Tachycineta bicolor* in a non-acidified landscape. *J. Avian Biol.* 36: 127-134.
- Des Lauriers, J. R. 1994. Hummingbirds eating ashes. *Auk* 111: 755-756.
- Drent, P. J. & Woldendorp, J. W. 1989. Acid rain and eggshells. *Nature* 339: 431.
- García-Navas, V. & Sanz, J. J. *En prensa*. El patrón de pigmentación en los huevos del herrerillo común (*Cyanistes caeruleus* L.) en relación con su éxito reproductor. Actas del II Congreso de Naturaleza en la Provincia de Toledo. Diputación de Toledo, Toledo.
- Gill, R. M. A. & Fuller, R. J. 2007. The effects of deer browsing on woodland structure and songbirds in lowland Britain. *Ibis* 149: 119-127.
- Gionfriddo, J. P. & Best, L.B. 1995. Grit use by house sparrows: Effects of diet and grit size. *Condor* 97: 57-67.
- Glooschenko, V., Blancher, P., Herskowitz, J., Fulthorpe, R. & Rang, S. 1986. Association of wetland acidity with reproductive parameters and insect prey of the Eastern Kingbird (*Tyrannus tyrannus*) near Sudbury, Ontario. *Water Air Soil Pollut.* 30: 553-567
- Gómez Manzaneque, F. 1988. La cubierta vegetal de Los Montes de Mora (Los Yébenes, Toledo). *Ecología* 2: 111-130.
- Gosler, A. G., Barnett, P. R. & Reynolds, S. J. 2000. Inheritance and variation in eggshell patterning in the great tit *Parus major*. *Proc. R. Soc. Lond. B* 267: 2469-2473.
- Gosler A. G., Higham J. P. & Reynolds S. J. 2005. Why are birds' eggs speckled? *Ecol. Lett.* 8: 1105-1113.

- Graveland, J. 1995. The quest for calcium: calcium limitation in the reproduction of forest passerines in relation to snail abundance and soil acidification. Tesis Doctoral. Netherlands Institute of Ecology, Países Bajos.
- Graveland, J. 1996. Avian eggshell formation in calcium-rich and calcium-poor soils: importance of snail shells and anthropogenic calcium sources. *Can. J. Zool.* 74: 1035-1044.
- Graveland, J. & Berends, A. E. 1997. Timing of the calcium intake and effect of calcium deficiency on behaviour and egg laying in captive Great Tits, *Parus major*. *Physiol. Zool.* 70: 74-84.
- Graveland, J. & Drent, R. H. 1997. Calcium availability limits breeding success of passerines on poor soils. *J. Anim. Ecol.* 66: 279-288.
- Graveland, J. & van der Wal, R. 1996. Decline in snail abundance causes eggshell defects in forest passerines. *Oecologia* 105: 351-360.
- Graveland, J., van der Wal, R., van Balen, J. H. & van Noordwijk, A. J. 1994. Poor reproduction in forest passerines from decline of snail abundance on acidified soils. *Nature* 368: 446-448.
- Graveland, J. & van Gijzen, T. 1994. Arthropods and seeds are not sufficient as calcium sources for shell formation and skeletal growth in passerines. *Ardea* 82: 299-314.
- Hartley, R. R., Newton, I. & Robertson, M. 1995. Organochlorine residues and eggshell thinning in the Peregrine Falcon *Falco peregrinus minor* in Zimbabwe. *Ostrich* 66: 69-73.
- Higham, J.P. & Gosler, A.G. 2006. Speckled eggs: water-loss and incubation behaviour in the great tit *Parus major*. *Oecologia* 149: 561-570.
- Hoyt, D. F. 1979. Practical methods of estimating volume and fresh weight of bird egg. *Auk* 96: 73-77.
- Jagannath, A., Shore, R. F., Walker, L. A., Ferns, P. N., & Gosler, A. G. 2008. Eggshell pigmentation indicates pesticide contamination. *J. Appl. Ecol.* 45: 133-140.
- Johannsenn, L. E. & Solhøy, T. 2001. Effects of experimentally increased calcium levels in the litter on terrestrial snail populations. *Pedobiol.* 45: 234-242.
- Johnson, L. S. & Barclay, R. M. R. 1996. Effects of supplemental calcium on the reproductive output of a small passerine, the House Wren (*Troglodytes aedon*). *Can. J. Zool.* 74: 278-282.
- Jubb, M., Gosler, A. G. and Wilkin, T. A. 2006. Eggshell-pigmentation, soil calcium and the local abundance, distribution and diversity of woodland snails (Mollusca). *Ardea* 94: 1-12.
- Kilner, R. M. 2006. The evolution of egg colour and patterning in birds. *Biol. Rev.* 81: 383-406.
- Mainwaring, M. C. & Hartley, I. R. 2008. Covering nest boxes with wire mesh reduces great spotted woodpecker *Dendrocopos major* predation of blue tit *Cyanistes caeruleus* nestlings, Lancashire, England. *Conserv. Evidence* 5: 45-46.
- Mänd, R. & Tilgar, V. 2003. Does supplementary calcium reduce the cost of reproduction in the Pied Flycatcher *Ficedula hypoleuca*? *Ibis* 145: 67-77.

- Mänd, R., Tilgar, V. & Leivits, A. 1998. Calcium deficiency as an ecological constraint for passerines in oligotrophic forests of Estonia. *Biol. Conserv. Fauna* 102: 345.
- Mänd, R. & Tilgar, V. 2003. Does supplementary calcium reduce the cost of reproduction in the Pied Flycatcher *Ficedula hypoleuca*? *Ibis* 145: 67-77.
- Mänd, R., Tilgar, V. & Leivits, A. 2000a. Calcium, snails, and birds: a case study. *Web Ecol.* 1: 63-69.
- Mänd, R., Tilgar, V. & Leivits, A. 2000b. Reproductive response of Great Tits, *Parus major*, to calcium supplementation in a naturally base-poor forest habitat. *Can. J. Zool.* 78: 689-695.
- Martin, K. & Sommer, M. 2004. Relationships between land snail assemblage patterns and soil properties in temperate-humid forest ecosystems. *J. Biogeogr.* 31: 531-534.
- Massaro, M. & Davis, L. S. 2005. Differences in egg size, shell thickness, pore density, pore diameter and water vapour conductance between first and second eggs of Snares Penguins *Eudyptes robustus* and their influence on hatching asynchrony. *Ibis* 147: 251-258.
- Mellanby, K. 1992. *The DDT Story*. British Crop Protection Council, Farnham.
- Mols, C. M. M. & Visser, M. E. 2002. Great tits can reduce caterpillar damage in apple orchards. *J. Appl. Ecol.* 39: 888-899.
- Nyholm, N. E. I. & Myhrberg, H. E. 1977. Severe eggshell defects and impaired reproductive capacity in small passerines in Swedish Lapland. *Oikos* 29: 336-341.
- Nisbet, I.C.T. 1997. Female Common Terns *Sterna hirundo* eating mollusc shells: Evidence for calcium deficits during egg laying. *Ibis* 139: 400-401.
- Ormerod, S. J., O'Halloran, J., Gribbin, S. D. & Tyler, S. J. 1991. The ecology of Dippers *Cinclus cinclus* in relation to stream acidity in upland Wales: breeding performance, calcium physiology and nestling growth. *J. Appl. Ecol.* 28: 419-433.
- Ormerod, S. J. & Rundle, S. D. 1998. Effects of experimental acidification and liming on terrestrial invertebrates: implications for calcium availability to vertebrates. *Environ. Pollut.* 103: 183-191.
- Orueta, J. F., Aranda, Y. & García, F. J. 1998. Efecto del ramoneo del ciervo (*Cervus elaphus*) sobre dos especies del matorral mediterráneo en los Montes de Toledo (centro de España). *Galemys* 10: 27-36.
- Packard, M. J. 1994. Mobilization of shell calcium by the chick chorioallantoic membrane in vitro. *J. Exp. Biol.* 190: 141-150.
- Pahl, R. et al. 1997. Song-birds do not create long-term stores of calcium in their legs prior to laying: results from high-resolution radiography. *Proc. R. Soc. Lond. B* 264: 239-244.
- Pattern, M. 2008. Geographic variation in calcium and clutch size. *J. Avian Biol.* 38: 637-643.
- Pedersen, S., Nilsen, E. B. & Andreassen, H. P. 2007. Moose winter browsing affects the breeding success of great tits. *Ecoscience* 14: 499-506.

- Perrins, C. M. 1996. Eggs, egg formation and the timing of breeding. *Ibis* 138: 2-15.
- Piersma, T., Gudmundsson, G. A., Davidson, N. C. & Morrison, R. I. G. 1996. Do Arctic-breeding Red Knots (*Calidris canutus*) accumulate skeletal calcium before egg laying? *Can. J. Zool.* 74: 2257-2261.
- Pinowski, J., Barkowska, M., Kruszewicz, A. H. & Kruszewicz, A. G. 1994. The causes of the mortality of eggs and nestlings of *Passer* sp. *J. Biosci.* 19: 441-451
- Potti, J & Merino, S. 1994. Depredación sobre aves insectívoras en cajas-nido. Algunas implicaciones para el manejo y conservación de sus poblaciones y el diseño de los nidales. *Ecología* 8: 445-452.
- Ratcliffe, D. A. 1967. Decrease in eggshell weight in certain birds of prey. *Nature* 215: 208-210.
- Reynolds, S. J. 1997. Uptake of ingested calcium during egg production in the Zebra Finch (*Taeniopygia guttata*). *Auk* 114: 562-569.
- Reynolds, S. J., Mänd, R. & Tilgar, V. 2004. Calcium supplementation of breeding birds: directions for future research. *Ibis* 146: 601-614.
- Sanz, J. J. 2001. Problemas detectados en las cajas-nido para aves insectívoras forestales. *Quercus* 181: 10-13
- Sanz, J. J. & García-Navas, V. 2009. Eggshell pigmentation pattern in relation to breeding success of blue tits (*Cyanistes caeruleus*). *J. Anim. Ecol.* 78: 31-41.
- Skeldon, M. A., Vadeboncoeur, M. A., Hamburs, S. P. & Blum, J. D. 2007. Terrestrial gastropod responses to an ecosystem-level calcium manipulation in a northern hardwood forest. *Can. J. Zool.* 84: 994-1007.
- Soler, J. J., Soler, M. & Martinez, J. G. 1993. Grit ingestion and cereal consumption in five corvid species. *Ardea* 81: 143-149.
- Solomon, S. E. 1987. Egg shell pigmentation. In *Egg Quality – Current Problems and Recent Advances*. Pp. 147-157. R. G. Wells & C. G. Belyarin (eds.) Butterworths, Londres.
- Solomon, S. E. 1997. *Egg and eggshell quality*. Iowa State University Press, Ames.
- Spitzer, L., Konvick, M., Benes, J., Tropek, R., Tuf, I. & Tufova, J. 2008. Does closure of traditionally managed open woodlands threaten epigeic invertebrates? Effects of coppicing and high deer densities. *Biol. Conserv.* 141: 827-837.
- St. Louis, V. L. & Barlow, J. C. 1993. The reproductive success of Tree Swallows nesting near experimentally acidified lakes in northwestern Ontario. *Can. J. Zool.* 71: 1090-1097.
- Svensson, L. 1996. *Guía para la identificación de los Passeriformes Europeos*. SEO/BirdLife, Madrid.
- Tellería, J. L., Asensio, B. & Díaz, M. 1996. *Aves Ibéricas II. Paseriformes*. J. M. Reyero Editor, Madrid.

- Tilgar, V., Mänd, R. & Leivits, A. 1999. Effect of calcium availability and habitat quality on reproduction in Pied Flycatcher *Ficedula hypoleuca* and Great Tit *Parus major*. J. Avian Biol. 30: 383-391.
- Tilgar, V., Mänd, R. & Mägi, M. 2002. Calcium shortage as a constraint on reproduction in Great Tits *Parus major*: a field experiment. J. Avian Biol. 33: 407-413.
- Torneros, J. 2003. Los Quintos de Mora. Organismo Autónomo Parques Nacionales, Ministerio de Medio Ambiente, Madrid.
- Verbeek, N. A. 1994. The use of grit in pipits, especially the American Pipit. J. Field Ornithol. 65: 498-503.
- Wallace, A. R. 1889. Darwinism: An exposition of the theory of natural selection with some its applications. Macmillan, Londres.
- Warebörn, I. 1969 Land mollusc and their environment in an oligotrophic area in southern Sweden. Oikos 20: 461-479.