



I I B y T

Universidad Nacional de Córdoba

Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

Tesina de Grado para optar por el título de Bióloga

**Evaluación de dos métodos de sujeción de acelerómetros para
registros automáticos comportamentales en codornices
(*Coturnix japonica*)**

Tesista: Florencia Belén Rossi

Firma:

Directora: Dra. Jackelyn Melissa Kembro

Firma:

Co-director: Dr. Lucas Miguel Barberis

Firma:

Tesina de Grado para optar por el título de Biólogo

**Evaluación de dos métodos de sujeción de acelerómetros para registros automáticos
comportamentales en codornices (*Coturnix japonica*)**

Alumna: Florencia Belén Rossi

Directora: Dra. Jackelyn Melissa Kembro

Co-director: Dr. Lucas Miguel Barberis

Tribunal Examinador

- Nombre y Apellido: Firma:
- Nombre y Apellido: Firma:
- Nombre y Apellido: Firma:
- Calificación:
- Fecha:

Agradecimientos

A mis viejos y a la Universidad Pública.

Índice

Resumen	6
Abstract	6
Introducción	7
Hipótesis y predicciones	11
Hipótesis	11
Predicciones	12
Objetivos	12
Objetivos generales	12
Objetivos específicos	12
Cría de animales	13
Elementos utilizados para la simulación de acelerómetros en animales y métodos de Sujeción	14
Pruebas Conductuales	15
Prueba en caja Hogar, respuesta inmediata al método de sujeción.	15
Prueba de habituación al tratamiento.	17
Prueba de retención del dispositivo semanal	17
Prueba de objeto novel	17
Análisis de las Pruebas conductuales	18
Reacción Inmediata al dispositivo	18
Habituación al Tratamiento	24
Capacidad de quitarse el dispositivo	25
Análisis de la prueba a un objeto novel	25
Análisis Estadísticos	27
Resultados	27
Reacción Inmediata al dispositivo	27
Habituación al Tratamiento	35
Capacidad de quitarse el dispositivo	39
Reacción a un objeto novel	39
Conclusiones y Discusión	42
Bibliografía	47
Anexos	52
Anexo 1	52

Anexo 2	53
Anexo 3	53
Anexo 4	54

Evaluación de dos métodos de sujeción de acelerómetros para registros automáticos comportamentales en codornices (*Coturnix japonica*)

Palabras clave: aves de corral, comportamiento social, sistemas de sujeción.

Resumen

El acelerómetro es un sensor que permite la automatización de registros de comportamiento animal. Un buen sistema de fijación no debe afectar el comportamiento, ni poder ser retirado por el animal mismo o por conespecíficos, además debe permitir una alta calidad de registro. En este trabajo se evaluaron en codornices (*Coturnix japonica*) hembras adultas dos sistemas de sujeción: Parche y Arnés. Los Controles fueron individuos sin acelerómetro, que recibieron similar manipulación inicial. Se registró el comportamiento de los animales (N=30) por medio de videograbaciones: i) durante 15 min del momento de colocación de los dispositivos, ii) luego de 24 hs de haber sido colocado y iii) en la prueba de objeto novel. La respuesta inicial del Arnés mostró que dedicaron más tiempo a Correr, Caminar y Sacudida ($P<0.01$), y menos a Reposo sentado y Dormir en comparación con las Controles y Parche, indicando una mayor reactividad inicial al sistema de sujeción arnés. En cambio, luego de 24 horas, se observaron diferencias entre los grupos en el tiempo dedicado a la Caminata. En la prueba de objeto novel (9 días), las aves con Parches se mantuvieron más alejadas de la pelota que las con Arnés y los Controles, indicando una mayor reacción de temor. Las aves eran capaces de retirar el parche pero no el arnés de su compañero. Concluimos entonces que el sistema de sujeción tipo arnés es un método adecuado para implementar el uso de acelerómetros en estudios comportamentales de codornices dentro de grupos sociales.

Abstract

The accelerometer is a sensor that allows the automatization of animal behavior recordings. A good fixation system should not affect the behavior, nor should it be able to be removed by the animal itself or by conspecifics. Also, it should allow a high quality of recording. In this work, two different fixation systems were evaluated in adult female quails (*Coturnix japonica*): Patch and Harness. Controls were individuals

without accelerometers, which received similar initial manipulation. The behavior of the animals (N=30) was recorded by means of video recordings: i) during 15 min from the moment of placement of the devices, ii) 24 hrs after placement and iii) in the novel object test. Evaluation of the initial response showed that the birds in the Harness group spent more time performing the behaviors Running, Walking and Shaking ($P < 0.01$), and less time Sitting and Sleeping compared to those with a Patch, indicating a greater initial reactivity to the harness restraint system. After 24h no significant differences were observed between treatments in the majority of the variables recorded, except for Walking. In the novel objects test, the birds with Patches stayed farther away from the ball than those with Harness and the Controls, indicating a greater fear reaction in the birds of this group. In addition, birds were able to remove the Patch but not the Harness from their partner. We conclude that the Harness fixation system is a more suitable method for implementing the use of accelerometers in behavioral studies of quail within social groups.

1. Introducción

El análisis del comportamiento en animales tradicionalmente se ha basado en la observación directa (Lopez et al., 2000) o a partir de videograbaciones (Castañeda et al., 2015). Esta última con la ventaja de reducir el impacto sobre el comportamiento de animales inducido por la presencia del observador. Sin embargo, existen diversas limitaciones técnicas en dichos métodos de observación tradicional asociadas al esfuerzo de muestreo por lo que, muchas veces, se utiliza una frecuencia de muestreo baja y/o se realizan estudios de corta duración (Xue & Henderson, 2006). Como consecuencia, se dificulta la cuantificación de transiciones entre comportamientos, como así también la detección de comportamientos de corta duración y/o infrecuentes. Por ejemplo, en animales pequeños como las codornices, las transiciones entre comportamientos diferentes pueden suceder a velocidades muy altas, con duraciones de fracciones de segundo (Simian et al., 2020), dada su alta tasa fisiológica y metabólica (Healy & McNally, 2013) pasando por ende, desapercibidas para un investigador que muestrea a intervalos de minutos o incluso segundos.

En las últimas décadas han surgido nuevas formas de medición remota de comportamiento animal orientadas a evitar posibles efectos de la presencia del observador, por ejemplo,

manteniendo o aumentando la resolución temporal de la frecuencia de muestreo en la recolección de los datos en comparación con la observación directa (Aguilar and Moro-Rios, 2009). La detección remota de comportamientos mediante diferentes tipos de sensores, basados en tecnología de detección de radio frecuencia, de intensidad de la señal o de acelerómetros (Seigford et al., 2016) entre otras (Fowler et al., 2001; Troscianko et al., 2004), podrían proveer un gran avance en la determinación del estado de bienestar de animales en cautiverio (Asher et al., 2009). Algunas de estas metodologías, tienen el potencial de permitir el seguimiento continuo de los individuos durante periodos largos de tiempo (días, semanas) y en entornos donde filmar resulta complejo.

En cuanto a las aves de corral, existe una tendencia al abandono de las jaulas en batería que resulta en el aumento de tamaño de bandadas con la consecuente generación de entornos sociales más complejos (Seigford et al., 2016 y Banerjee et al., 2012). Por lo tanto, es imprescindible el desarrollo y perfeccionamiento de tecnologías que permitan la observación y seguimiento individual de los animales en espacios grandes y abiertos para entender la dinámica de los comportamientos sociales y así garantizar su bienestar.

En la última década se ha implementado, para el estudio de la conducta, la tecnología de los acelerómetros. Estos dispositivos son sensores que miden el valor de la aceleración a lo largo de uno o más ejes permitiendo calcular la velocidad y el desplazamiento del individuo bajo estudio. De este modo los acelerómetros montados en el cuerpo de un individuo permiten detectar remotamente el comportamiento de ese individuo partiendo de los datos que genera su movimiento (Banerjee et al., 2012). La idea se ha utilizado en numerosas especies y contextos (ver ejemplos: Calvo et al., 1992, Gebhardt-Henrich et al., 2014, Hartcher et al., 2015, Daigle et al., 2012, Hansen et al., 2007, Martiskainen et al., 2009, Robert et al., 2009, Rothwell et al., 2001, Keegan et al., 2011, Quwaider et al., 2010 y Banerjee et al., 2012). Esta innovación podría no sólo proveer información valiosa sobre los entornos sociales presentes en la granja, favoreciendo la toma de decisiones dentro de la misma, sino que también permitiría minimizar comportamientos que comprometen el

bienestar de los animales durante su cría, como por ejemplo, la ocurrencia de agresiones exacerbadas entre individuos.(Gonyou, 1994).

El acelerómetro, para poder ser utilizados en el contexto de estudios comportamentales, debe colocarse sujeto al cuerpo del animal (Seigford et al., 2016). Por lo tanto, validar su influencia es importante para determinar si el sistema causa algún cambio de comportamiento y, de ser así, en qué grado (Seigford et al., 2016). Entre los retos que se presentan al utilizar esta tecnología se encuentran el método de sujeción y el peso del dispositivo y tener en cuenta variables relevantes para la detección precisa de los movimientos (Seigford et al., 2016).

Existen diversas formas de sujeción como, por ejemplo, collares en perros (Hansen et al., 2007) y vacas (Martiskainen et al., 2009), tobilleras en terneros (Robert et al., 2009) y elefantes (Rothwell et al., 2011), parches en caballos (Keegan et al., 2011) e incluso a pollos se les ha colocado cápsulas sujetas al dorso por medio de un arnés de nylon (Quwaider et al., 2010 y Banerjee et al., 2012). Es importante notar que el método de sujeción a utilizar es dependiente del objetivo del estudio y las características del animal, cobrando especial importancia cuando estos son de pequeño tamaño como es el caso de la mayoría de las aves. Es una recomendación común que el equipo sujeto al cuerpo del animal pese menos del 5% de la masa corporal del animal (Seigford et al., 2016), ya que estudios sobre aves silvestres han demostrado que, los sensores, pueden alterar las interacciones sociales, la selección de pareja, la comunicación de señales visuales, la condición corporal y causar lesiones físicas incluso cuando el equipo pesa más que lo sugerido (Calvo et al., 1992, Gebhardt-Henrich et al., 2014, Hartcher et al., 2015 y Daigle et al., 2012). En el caso de las codornices, que alcanzan un peso medio de 200 g, el acelerómetro y el dispositivo debería pesar, según la sugerencia de Siegford et al., (2016) menos de 10g, lo que imposibilita la implementación de muchos tipos de sistemas usados en otras especies.

Si bien la elección de la forma de sujeción del acelerómetro presenta un desafío metodológico, en un estudio previo se observó que la presencia de acelerómetros sujetos al animal mediante sistemas de arnés o un parche de tela autoadhesiva podrían tener baja incidencia en el comportamiento reproductivo de los machos (Simian et al., 2020). En otro estudio preliminar con machos socialmente aislados se observó, con ambos métodos, que los animales por si mismos no habían retirado los acelerómetros a lo largo de un periodo de 1 semana (comunicación personal con Jackelyn M. Kembro). En la presente tesina, estudiamos estos dos tipos de métodos de sujeción de acelerómetros en codornices. Cabe aclarar que ambos sistemas cumplen con la recomendación de Siegford et al., (2016). Además, el formato del arnés está basado en el dispositivo utilizado en el trabajo de Pellegrini et al. (2015), donde se observó que las codornices no se veían afectadas en el repertorio de ambulación, comportamiento reproductivo y social luego de 7 días de habituación. En este estudio proponemos como alternativa un sistema de sujeción denominado Parche en este sistema el acelerómetro está pegado a una tela autoadhesiva de tipo deportiva que, a su vez, va pegada directamente al cuerpo del animal. En contraposición al Arnés propuesto por Pellegrini et al., 2015, este último implica una estructura sobre la cual se coloca el acelerómetro que no está en contacto directo con el animal, como consecuencia esta podría interferir en la calidad de la señal de los registros del acelerómetro tanto por la estructura como por la posición donde se ubica (por encima de las alas) donde se generan movimientos o vibraciones que no son propias, específicamente de los comportamientos. El Parche se ubica en la zona lumbar de las caderas, esta posición podría favorecer la detección del movimiento por parte del acelerómetro. En este sentido la alternativa del Parche podría constituir una mejora en cuanto a la ubicación espacial en el cuerpo del animal y no necesita de una estructura intermedia entre el sensor y el cuerpo del ave.

Cualquier objeto novel o foráneo, como en este caso el mismo acelerómetro y el correspondiente sistemas de sujeción, tiene el potencial de inducir en el animal una respuesta de temor. Específicamente, el miedo se considera un estado de ánimo indeseable,

una manera de definirlo es como “ la respuesta psicofísica adaptativa al peligro percibido” (Jones, 1987). Los estímulos que provocan miedo pueden resultar en altos niveles de estrés y pueden potencialmente reducir el bienestar, el crecimiento y el rendimiento reproductivo de las aves (Jones et al., 1992). Por ejemplo, en los sistemas de cría intensiva de aves, altos niveles de estrés han resultado en una disminución de la productividad; ya que interfieren con la conversión alimenticia, la producción de huevos, el estado de la cáscara de los huevos y el estado del plumaje (Jones et al., 1991). Adicionalmente, puede predisponer a los animales a reaccionar con una mayor respuesta de miedo a nuevos acontecimientos alarmantes (Ladewig, 2000; Grissom & Bhatnagar, 2009). Los acelerómetros adheridos al cuerpo de las codornices japonesas pueden actuar como un estresor en primera instancia y de esta manera, aún cuando estén habituadas al dispositivo, un enriquecimiento ambiental como la colocación de un objeto novel en su entorno podría llevar a una respuesta de tipo sensibilización ante el nuevo estresor (Ladewig, 2000; Grissom & Bhatnagar, 2009).

En esta tesina, evaluaremos los efectos de la colocación de acelerómetros sobre el animal usando dos sistemas de sujeción (Arnés y Parche) sobre el comportamiento de las aves con foco en cuatro aspectos. En primer lugar, en la respuesta inmediata al dispositivo de sujeción sobre el comportamiento. En segundo lugar, la habituación al dispositivo después de 24 hs de su colocación. En tercer lugar, la capacidad de quitarse el dispositivo propio o el de sus congéneres a lo largo de una semana. Y por último, si modula la respuesta de temor a un objeto novel (Jones & Waddington, 1991).

2. Hipótesis y predicciones

2.1. Hipótesis

La colocación de métodos de sujeción (del tipo Arnés y Parche) no tiene un efecto modulador sobre el comportamiento en codornices (*Coturnix japonica*) una vez que se hayan habituado al mismo.

2.2. Predicciones

- ▶ En la respuesta inmediata al método de sujeción del acelerómetro predomina comportamientos asociados a reconocer e incluso intentar sacar el dispositivo.
- ▶ Las codornices son capaces de habituarse al dispositivo adherido a su cuerpo, por lo que, a corto plazo (días), no afecta significativamente el repertorio conductual de las codornices ni el tiempo dedicado a cada conducta.
- ▶ Las codornices no serán capaces de quitarse el acelerómetro propio ni el de sus congéneres.
- ▶ La presencia del dispositivo no incrementa la respuesta de miedo ante un objeto novel.

3. **Objetivos**

3.1. Objetivos generales

Avanzar en la implementación de acelerómetros para el estudio del comportamiento animal.

3.2. Objetivos específicos

1. Determinar si la colocación del acelerómetro en su cuerpo modula el comportamiento de las aves, y si esta respuesta es dependiente del método de sujeción de sensor. Para ellos se estudiaron las respuestas comportamentales mediante el registro de videgrabaciones en los 15 minutos inmediatos a la colocación de los dispositivos. Si la respuesta comportamental cambia proponemos el objetivo 2.
2. Evaluar si los individuos muestran signos de habituación al método de sujeción del acelerómetro transcurridas 24 horas luego de su colocación..Para ello se estudiaron

las respuestas comportamentales mediante el registro de videograbaciones (10 minutos) 24 horas después de la colocación de los dispositivos.

3. Determinar si las codornices japonesas son capaces de quitar el acelerómetro, ya sea el propio o el de su compañera a lo largo de una semana. Además, si es dependiente del método de sujeción de sensor. Para ello se controló una vez al día si alguno de los individuos alojados conjuntamente poseía o no el acelerómetro colocado.
4. Determinar si la experiencia de la colocación y posterior exposición a los acelerómetros sujetos mediante los métodos arnés y/o parche a las espaldas de las aves pueden producir una respuesta tipo sensibilización a la presencia de nuevos estímulos potencialmente atemorizantes a mediano plazo. Para ello se realizó la una prueba de objeto novel luego de 9 días de la colocación del dispositivo.

Materiales y Métodos

Esta tesina se focalizó en el análisis de los videos comportamentales resultantes de videograbaciones de un experimento llevado a cabo en 2019, en el que colaboré activamente en calidad de ayudante alumna en el laboratorio de Ciencias Avícolas. El experimento se desarrolló en codornices (*Coturnix japonica*) criadas y mantenidas en el bioterio de nuestro Instituto, según protocolos descritos por nuestro grupo de trabajo (J. M. Kembro et al., 2012) y en manuales de estándares internacionales (Shanaway, 1994). Todos los experimentos se llevaron a cabo de acuerdo a la “Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio” publicada por el US National Institute of Health (NIH, publicación 85-23, revisión 1996), y el protocolo fue aprobado por el CICUAL del IIByT Acta n°6.

4.1. Cría de animales

Durante 10 días consecutivos se recolectaron huevos provenientes de codornices adultas del plantel de reproductores del bioterio perteneciente a nuestro Instituto. Estos huevos se almacenaron en heladera a 15°C hasta el momento de la incubación. Durante 17 días, los

huevos fueron colocados en una incubadora/nacedora con controles automáticos de rotación (volteo) de huevos (giro de aproximadamente 45° en la posición de los huevos cada 1 h) y de temperatura y humedad. Durante los primeros 14 días de incubación los huevos se rotaron, la temperatura promedio se mantuvo en 37.8°C y la humedad relativa en 65%. En los últimos 3 días de incubación, los huevos fueron transferidos a bandejas sin rotación, la temperatura se redujo a 37.5°C y la humedad relativa se estableció en 62%. De este modo, las condiciones microambientales dentro de la incubadora se mantuvieron óptimas para el desarrollo de los embriones.

Ciento ochenta pichones fueron alojados en la sala de cría, en 6 cajas de cría de melamina blanca de 90 x 80 x 60 cm (ancho, largo, alto respectivamente), en cada una de las cuales se alojaron grupos de hasta 60 individuos por caja. Las cajas incluyen un sistema automático de control de temperatura que se fijó en 37.5° C durante la primera semana de vida y luego se continuó con un programa de disminución de 3.0°C por semana hasta alcanzar la temperatura ambiente (24 a 27° C) en la cuarta semana de vida. Las codornices fueron sometidas a un ciclo diario de 14 h de luz (300 a 320 lx).

A los 28 días de edad, los animales fueron sexados de acuerdo a la coloración del plumaje. A los 50 días de edad, 40 hembras permanecieron en dos cajas de cría mientras que 20 machos fueron alojados individualmente en jaulas 40 x 20 x 25 cm (largo x ancho x alto). Los restantes animales fueron utilizados para otros experimentos. La provisión de comida y agua continuó *ad libitum*. Las pruebas comenzaron a partir de los 60 días de edad.

4.2. Elementos utilizados para la simulación de acelerómetros en animales y métodos de Sujeción

Se utilizó un dispositivo de la mismas dimensiones que un acelerómetro TechnoSmArt@ (9.5x15x4mm 0,7 g). Este artefacto se colocó en los animales utilizando los dos métodos:

- ▶ **ARNÉS:** En este método se utilizó una plataforma plástica a la cual se le adhiere el acelerómetro y bandas elásticas en sus extremos, las cuales se pasan

por debajo de las alas del animal (basado en el modelo propuesto por Pellegrini et al. 2019) como se muestra en la Fig. 1.

- ▶ **PARCHE:** En este método se adhirió el acelerómetro a un parche de tela autoadhesiva de tipo deportiva, posteriormente se utilizó pegamento quirúrgico para adherir el dispositivo a la zona lumbar/sacra del dorso del animal, la cual fue previamente desplumada manualmente, como se muestra en la Fig. 1.



Figura 1: Métodos de sujeción de acelerómetros en codornices japonesas (*Coturnix japonica*): Arnés (izquierda) y Parche (derecha).

Los animales **CONTROLES** a los que no se les aplicaron un sistema de sujeción fueron manipulados de manera similar a los otros grupos previo al inicio de la prueba.

4.3. Pruebas Conductuales

4.3.1. Prueba en caja Hogar, respuesta inmediata al método de sujeción.

Las hembras fueron alojadas de a pares en cajas hogar (Fig. 2) de melamina blanca de 40 x 40 x 40 cm (largo x alto x ancho), suelo de viruta, un bebedero automático y un comedero tipo tolva. La caja contaba con una partición de reja, a 20 cm de la pared, detrás de la cual se colocó una cámara lateral. También una segunda cámara filmadora fue suspendida 1m

por encima de las cajas. Ambas cámaras estaban conectadas por circuito cerrado a una computadora.



Figura 2: Caja Hogar: En la figura se muestra una fotografía de 4 cajas hogares cada una con un par de hembras.

Luego de por lo menos 18h de habituación a la caja, se le asignó a cada par de hembras un grupo experimental dependiendo de si los acelerómetros eran colocados siguiendo uno de los 2 métodos de sujeción (tratamientos Arnés o Parche) o si permaneció sin llevar ningún acelerómetro (Control). Un total de 36 hembras fueron evaluadas, distribuidas en 6 tandas experimentales, donde, en cada tanda, se evaluó un par de hembras de cada grupo experimental. A las 9:00 hs se colocaron los acelerómetros de acuerdo al método de sujeción correspondiente, previamente asignados al azar. En este momento los animales del grupo control también fueron manipulados de manera similar a los que tenían algún tratamiento. Luego, las aves fueron retornadas a su caja hogar y su comportamiento fue grabado en videos durante 15 minutos.

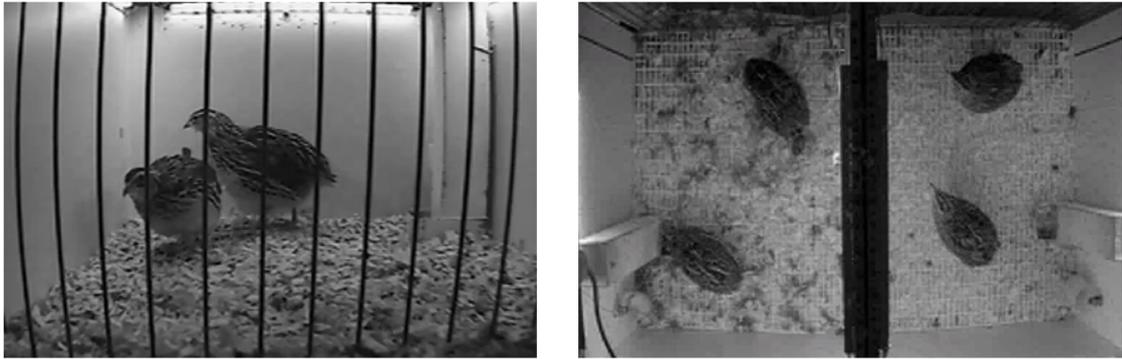


Figura 3: Vista de las cámaras de video: vista lateral (izquierda) y vista superior (derecha).

4.3.2. Prueba de habituación al tratamiento.

Se observó el repertorio conductual en la caja hogar, luego de 24 hs de haber colocado el acelerómetro, mediante filmaciones durante 10 min (ver análisis en la sección 4.4.2).

4.3.3. Prueba de retención del dispositivo semanal

Las hembras permanecieron en la caja hogar descrita en la sección previa y no fueron perturbadas externamente durante los siguientes 9 días. Al día 9 se realizó la prueba de objeto novel (ver en la sección 4.3.4). Las codornices fueron controladas diariamente a la mañana, registrándose la presencia o ausencia del dispositivo sobre el cuerpo del animal. En el caso en que se hubieren quitado el dispositivo, se les volvió a colocar en el mismo momento.

4.3.4. Prueba de objeto novel

Al día 9 del experimento se colocó, en el centro de cada jaula, una pelota de 5 cm de diámetro (Fig. 4), y el comportamiento fue filmado durante los siguientes 10 min (ver ubicación de las cámaras sección 4.3.1). Finalizado este periodo, el objeto se retiró de la caja.



Figura 4: Caja Hogar luego de la colocación del objeto novel (pelota).

4.4. Análisis de las Pruebas conductuales

4.4.1. Reacción Inmediata al dispositivo

En el marco del objetivo 1, utilizando los videos obtenidos en la prueba de caja hogar (ver la sección 4.3.1), se registró el comportamiento de cada animal a intervalos de 1 segundo durante los 15 minutos de prueba y, basándose en el etograma propuesto por Simian (2020), se construyó la siguiente Tabla 1.

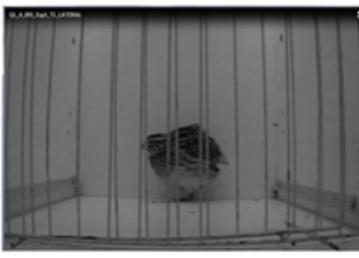
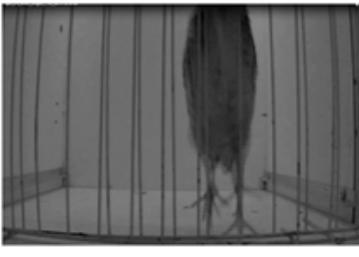
Tabla 1: Etograma de comportamientos utilizado.

Clasificación	Comportamiento	Sigla	Foto	Descripción
Actividades de limpieza y forrajeo	Acicalamiento	A		Utiliza el pico para levantar las plumas de las alas, abdomen o parte posterior

Clasificación	Comportamiento	Sigla	Foto	Descripción
Actividades de limpieza y forrajeo	Acicalamiento erguido	G		Intercala vigilancia con cortos acicalamientos cercanos al cuello, sin abandonar la posición erguida
Actividades de limpieza y forrajeo	Sacudida sentado	Z		Sacude el cuerpo mientras se encuentra apoyando el abdomen en el suelo
Actividades de limpieza y forrajeo	Sacudida	S		Se aprecia el despliegue de gran parte del plumaje, junto con la agitación del cuerpo completo
Actividades de limpieza y forrajeo	Estabilización con alas	X		Corto despliegue de alas rápidamente para estabilizar su posición

Clasificación	Comportamiento	Sigla	Foto	Descripción
Actividades de limpieza y forrajeo	Pica el piso	P		Utiliza el pico para tocar el sustrato
Actividades de limpieza y forrajeo	Rascado con pata	T		Utiliza la pata trasera para rascar el abdomen
Actividades de limpieza y forrajeo	Alimentación	G		Introduce la cabeza en el comedero de tipo tolva para alimentarse
Actividades relacionadas con la inmovilidad	Vigilante sentado	B		Posición erguida del cuerpo mientras que las patas se mantienen flexionadas en el suelo

Clasificación	Comportamiento	Sigla	Foto	Descripción
Actividades relacionadas con la inmovilidad	Vigilante parado	V		Posición erguida del cuerpo y de las patas que se encuentran estiradas
Actividades relacionadas con la inmovilidad	Inmovilidad	I		Se mantiene parado en posición relajada
Actividades relacionadas con la inmovilidad	Reposo sentado	J		Se acuesta apoyándose en el abdomen, patas flexionadas debajo del cuerpo
Actividades relacionadas con la inmovilidad	Dormir	L		Se recuesta en el suelo con los ojos cerrados.

Clasificación	Comportamiento	Sigla	Foto	Descripción
Actividades relacionadas con la ambulaci3n	Caminata	C		Se desplaza en posici3n relajada
Actividades relacionadas con la ambulaci3n	Caminata agachado	H		Da pasos con patas flexionadas.
Actividades relacionadas con la ambulaci3n	Exploraci3n	E		Acerca la cabeza hacia el suelo sin tocarlo con el pico
Actividades relacionadas con la ambulaci3n	Corre	K		Caminata acelerada

Clasificación	Comportamiento	Sigla	Foto	Descripción
Actividades relacionadas con la ambulación	Picoteo sentado	D		Durante los intervalos de descanso entre caminatas agachado, se sienta y incluye picoteo del sustrato
Actividades relacionadas con la interacción con el acelerómetro	Picar acelerómetro del otro	F		Acerca la cabeza hacia el lugar del cuerpo donde se encuentra el acelerómetro del compañero
Actividades relacionadas con la interacción con el acelerómetro	Picar su propio acelerómetro	M		Durante intervalos de acicalamiento se voltea pica su acelerómetro o las parte del dispositivo de sujeción

Se registraron 22 comportamientos: 9 de ellos tienen que ver con comportamientos de aseo o forrajeo: Acicalamiento, Accalamiento Erguido, Sacudida Sentado, Sacudida, Estabilización con Alas, Baños de Viruta, Rascar con Pata, Picar el Piso y Alimentación; 5 de los comportamientos están relacionados con la inmovilidad de los animales: Vigilancia Sentado, Vigilancia Parado, Inmóvil Parado, Reposo Sentado y Dormir; 4 de los mismos son comportamientos relacionados con la exploración: Caminata, Caminata Agachado, Exploración y Correr y, los últimos 4, tienen que ver con la interacción entre congéneres o con el dispositivo: Interacción social Agresiva, Interacción Social no Agresiva, Picar el

Acelerómetro del otro y el propio. Para el registro se utilizó una aplicación, desarrollada en Matlab R2018a, basada en el programa Behavior Collect (Tietjen, 1981). Esta aplicación permite registrar los comportamientos observados utilizando una clave alfanumérica (Sigla en Tabla 1), resultando en una serie temporal de 900 datos (1 dato por segundo durante 15 minutos) comportamentales por animal. A partir de estas series temporales, se calculó el porcentaje de tiempo que los animales destinan a cada comportamiento.

Se calculó el porcentaje de animales que realizaron cada comportamiento al menos una vez para cada grupo. Luego, a partir de ese dato, se estimó el porcentaje relativo de animales que realizaron un comportamiento dado dividiendo el porcentaje observado en cada tratamiento por el número de tratamientos estudiados, de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$P = p/3,$$

donde P es el porcentaje relativo y p es el porcentaje de animales que realizaron el comportamiento dentro del grupo. De esta manera, cada tratamiento representa el 33,33% del total.

4.4.2. Habitación al Tratamiento

A partir de los resultados obtenidos en el inciso anterior se eligieron, de entre los comportamientos, a los más frecuentemente observados: los comportamientos asociados a la limpieza y forrajeo (Acicalamiento, Sacudida, Picar Piso y Alimentarse), los asociados a la inmovilidad del animal (Vigilancia, Inmóvil, Reposo y Dormir), los asociados a la ambulación (Caminata, Exploración y Correr) y los relacionados a la interacción con el dispositivo (Picar el acelerómetro del Otro y Picar el acelerómetro Propio). Estos se registraron durante 10 minutos luego de un día de aclimatación al dispositivo. Se calculó el porcentaje de tiempo que los animales destinan a cada comportamiento. También se estimó el porcentaje relativo de animales que realizaron cada uno de los comportamientos

(ver cálculos y definiciones sección 4.4.1). Para ello se utilizó el programa ANY-MAZE, que también permite registrar los comportamientos que detecta el observador mediante una clave alfabética.

4.4.3. Capacidad de quitarse el dispositivo

Como se describió previamente (sección 4.3.3), se realizó de manera directa la observación de la permanencia del dispositivo a lo largo del experimento, para alcanzar el objetivo 3. Con los datos de presencia/ausencia del acelerómetro sobre el cuerpo del animal, recogidos a lo largo los 9 días del experimento, se calculó la cantidad de veces que se quitaron el acelerómetro por tanda.

4.4.4. Análisis de la prueba a un objeto novel

Para el análisis de esta prueba se delimitó la caja en zonas imaginarias donde el individuo podía encontrarse con respecto a la ubicación de la pelota (Fig. 5). Se consideraba que la hembra se encontraba en un área determinada si la mayor parte de su cuerpo se ubicaba dentro de ella:

- Zona de 5cm.: área contenida en un radio de 5 centímetros alrededor de la pelota.
- Zona de 10 cm.: área contenida en un radio de 10 centímetros alrededor de la pelota.
- Salida de la zona de 10 cm.: zona contenida entre la zona de 10 centímetros y la Zona Pared.
- Zona Pared: espacio contenido entre la pared y 5 centímetros hacia adentro.

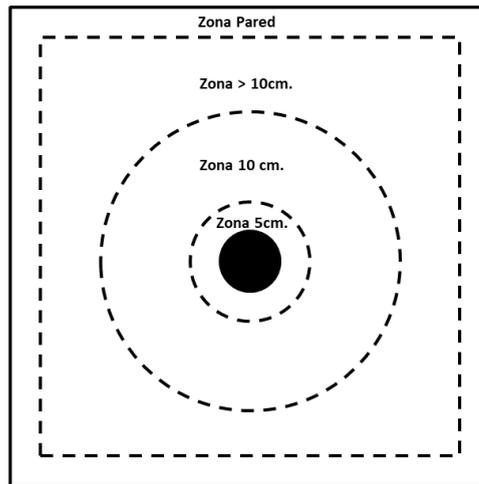


Figura 5: Esquema de la caja hogar con el objeto novel (pelota) en el centro, con líneas punteadas se delimitan zonas imaginarias donde podría encontrarse el individuo.

Luego de la colocación de la pelota, mediante el programa ANY-MAZE y durante 10 minutos, se registró el tiempo que cada individuo se encontraba en cada zona y el tiempo que los individuos destinaban a realizar los comportamientos de: Picar la pelota, Saltar para escapar, Sacudida, Picar al compañero, Picar el acelerómetro del otro y Picar el acelerómetro propio (ver Tabla 1), estos comportamientos son relevantes para el estudio, ya que se relacionan a la interacción con el dispositivo, con el congénere y con el objeto novel. También se estimó el porcentaje relativo de animales que realizaron cada uno de los comportamientos (ver cálculos y definiciones Sección 4.4.1)

Se considera que una menor distancia entre el individuo y la pelota representa una menor respuesta de temor ante el objeto novel (Sefton 1976). También se registró a partir de la colocación del objeto en la caja, la duración de comportamiento de “congelamiento” (permanencia inmóvil del animal) (Pellegrini et al 2019).

4.5. Análisis Estadísticos

Para evaluar si difieren entre sí los métodos (Control, Arnés, y Parche), en la proporción de individuos que realizaba por lo menos un evento de cada tipo de comportamiento, se utilizó la prueba de diferencia de proporciones (InfoStat).

Además, para evaluar su efecto, se utilizaron Modelos Lineales Generalizados Mixtos (MLGM) teniendo en cuenta la distribución de las variables comportamentales. En la mayoría de los casos, el modelo se ajustó a una distribución Gamma. En el caso de las excepciones, las variables se ajustaron mejor a una distribución Binomial Negativa y se lo aclara en las leyendas de los diagramas de cajas que se muestran en la sección de resultados para cada prueba. Se usaron como factores aleatorios las tandas experimentales y las cajas y como factor fijo al método.

Para visualizar el efecto global de los métodos sobre el comportamiento, se utilizó un análisis de componentes principales sobre las variables comportamentales estimadas de las que fueron excluidas aquellas que se correlacionan con un $R^2 < 0,7$.

El total de animales por tratamiento fue afectado por la pérdida de algunas videograbaciones, por lo que de los tratamientos Control, Arnés y Parche se estudiaron 8, 12 y 10 hembras, respectivamente.

5. Resultados

5.1. Reacción Inmediata al dispositivo

En la Figura 6 se observa el porcentaje relativo de animales que realizaron cada uno de los 22 comportamientos registrados durante la prueba de reacción inmediata al dispositivo.

Un mayor detalle sobre el correspondiente número de animales y el porcentaje observado en cada grupo se observa en Tabla S1 (Anexo 1). Cuando se realizó el análisis de diferencia de proporciones, se compararon los tratamientos Control vs. Arnés (Fig. 6, Tabla S1) y se observaron diferencias significativas entre ellos con respecto a la proporción de

animales que realizaron los comportamientos de Caminata agachado ($P=0,04$), Picar el acelerómetro del otro ($P=0,01$) y Picar el acelerómetro propio ($P=0,001$). En la comparación de los tratamientos Control vs. Parche solo se encontraron tendencias a encontrar diferencias entre ellos (Fig. 6, Tabla S1) en los comportamientos de Interacción social agresiva y Estabilización con Alas ($P=0,06$ y $P=0,07$). Cuando se compararon los tratamientos de Arnés vs. Parche (Fig. 6, Tabla S1) se encontraron diferencias significativas en la proporción de hembras que realizaron los comportamientos de Correr ($P=0,008$), Interacción social agresiva ($P=0,002$) y Estabilización con alas ($P=0,009$).

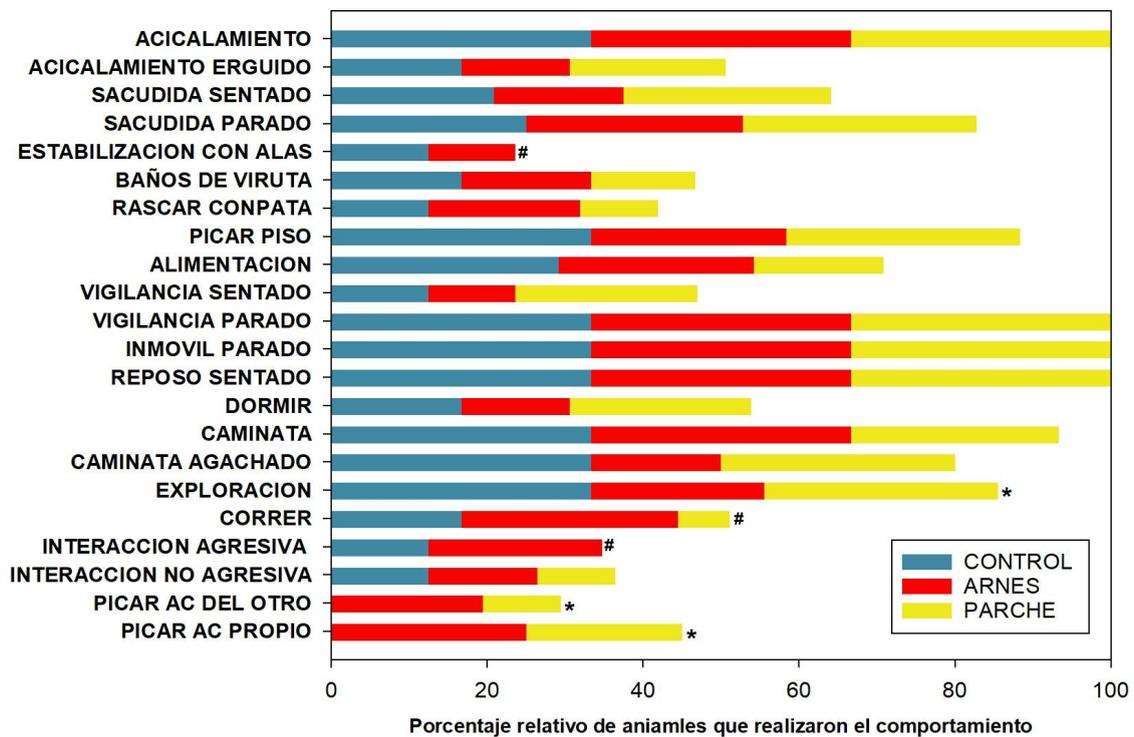


Figura 6: Porcentaje relativo de animales que realizaron cada comportamiento dentro de los tratamientos:

Control en azul, Arnés en rojo y Parche en amarillo. Este porcentaje relativo se calculó a partir del porcentaje de animales de cada tratamiento que realizaban el comportamiento dividido el número de tratamientos estudiado (ver Sección 4.4.1). Así, cada tratamiento representa el 33,33% del total y, por lo tanto, el valor del eje x no representa los valores de la Tabla S1. Ver detalle del número de animales y porcentaje de cada grupo en ANEXO 1. * Indica diferencias significativas ($P<0.05$) entre Control y Arnés; +

Indica diferencias significativas ($P < 0.05$) entre Control y Parche y # Indica diferencias significativas ($P < 0.05$) entre Arnés y Parche.

A partir de los registros comportamentales se obtuvo el porcentaje de tiempo total que los individuos dedicaban a realizar cada comportamiento. En las Figuras 7- 10 se observan los gráficos de caja (box plot) que se obtuvieron. En el eje “X” se observa el tiempo dedicado al comportamiento en valores de porcentaje y en el eje “Y” cada uno de los tratamientos (Control, Arnés y Parche), los gráficos están agrupados según la clasificación de comportamientos (Sección 4.4.1): comportamientos de aseo o forrajeo (Fig. 7), inmovilidad (Fig. 8), exploración/movilidad (Fig. 9), e interacción entre congéneres o con el dispositivo (Fig. 10). El modelo se ajustó a una distribución Gamma, con la excepción de algunas variables que se ajustaron mejor a una distribución Binomial Negativa (ver estas excepciones en la leyenda de las figuras cuando corresponde gráficos). Se encontraron diferencias significativas en los comportamientos de Sacudida Parado ($F_{2,27}=3,59$; $P= 0,04$), Reposo Sentado ($F_{2,27}= 7,13$; $P=0,003$), Caminata ($F_{2,27}=6,07$; $P=0,006$) y Correr ($F_{2,27}=14,67$; $P=0,0001$). Además, se observan una tendencia hacia diferencias significativas en el comportamientos de Vigilancia Parado ($F_{2,27}$, $P=0,1$), Dormir ($F_{2,27}=3,15$; $P=0,06$) y Exploración ($F_{2,27}=1,83$; $P=0,1$).

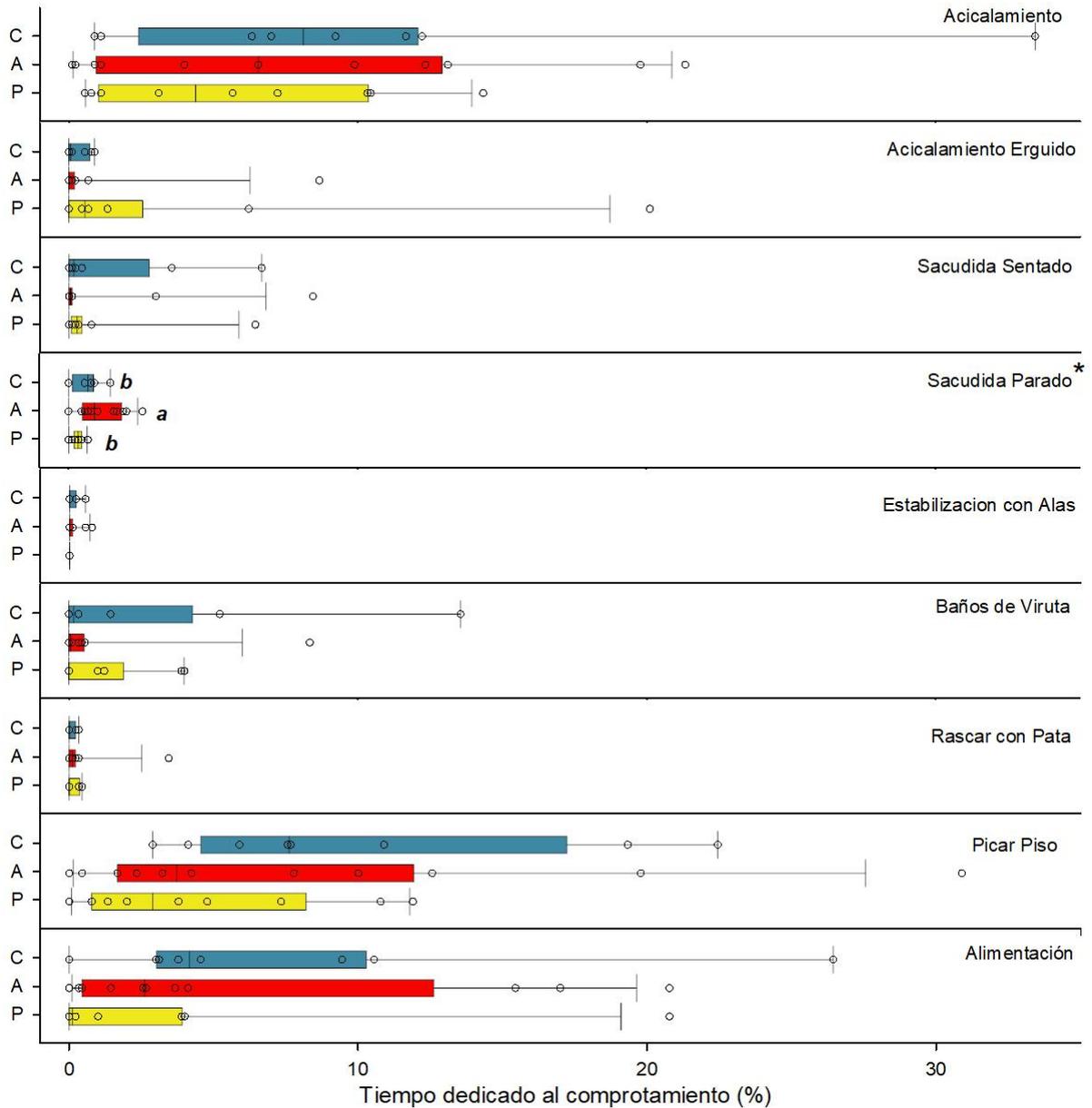


Figura 7: Diagrama de Cajas (“box plot”) del Tiempo dedicado a cada comportamiento (%) relacionado al aseo o forrajeo luego de la colocación del método de sujeción de tipo Arnés (A - Rojo) o Parche (P - Amarillo). Se utilizaron como Controles (C - Azul) individuos sin acelerómetro, que recibieron similar manipulación inicial. Cada barra representa el 1° y 3° cuartil, con la mediana marcada con una línea. Los bigotes representan los percentiles 10 y 90. Los valores de cada individuo se representan con círculos. Los datos se analizaron con MLGM. Los comportamientos en los que los grupos difieren entre sí

significativamente $P < 0,05$ poseen un * y el grupo que no comparte la letra se diferencia, Los comportamientos en los que aparecen Tendencias significativas $P > 0,05$ poseen un +. Las variables Acicalamiento Erguido y Estabilización con alas se ajustaron a una distribución Binomial Negativa, mientras que las restantes a una distribución Gamma.

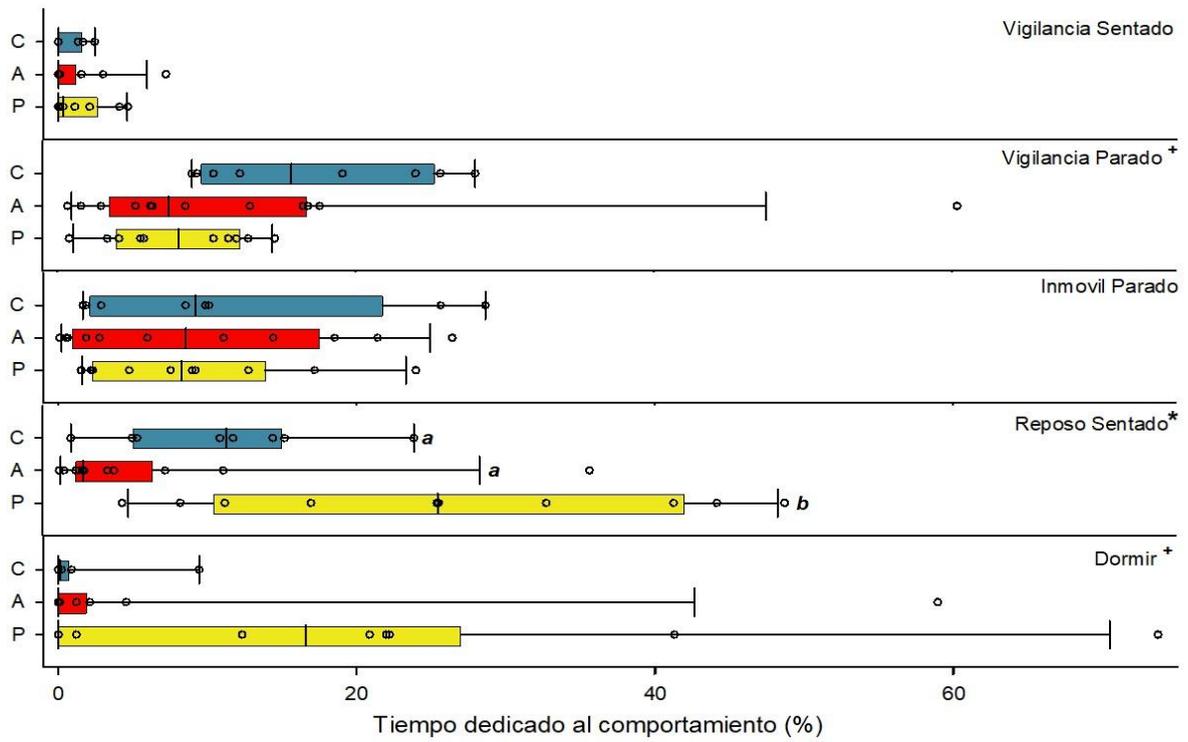


Figura 8: Diagrama de Cajas (“box plot”) del Tiempo dedicado a cada comportamiento (%) relacionado a la inmovilidad luego de la colocación del método de sujeción de tipo Arnés (A - Rojo) o Parche (P - Amarillo). Se utilizaron como Controles (C - Azul) individuos sin acelerómetro, que recibieron similar manipulación inicial. Cada barra representa el 1° y 3° cuartil, con la mediana marcada con una línea. Los bigotes representan los percentiles 10 y 90. Los valores de cada individuo se representan con círculos. Los comportamientos en los que los grupos difieren entre sí significativamente $P < 0,05$ poseen un * y el grupo que no comparte la letra se diferencia. Los datos se analizaron con MLGM. Los comportamientos en los que aparecen Tendencias significativas $P > 0,05$ poseen un +. Solamente a la variable Vigilante Parado se ajustó a una distribución Binomial Negativa.

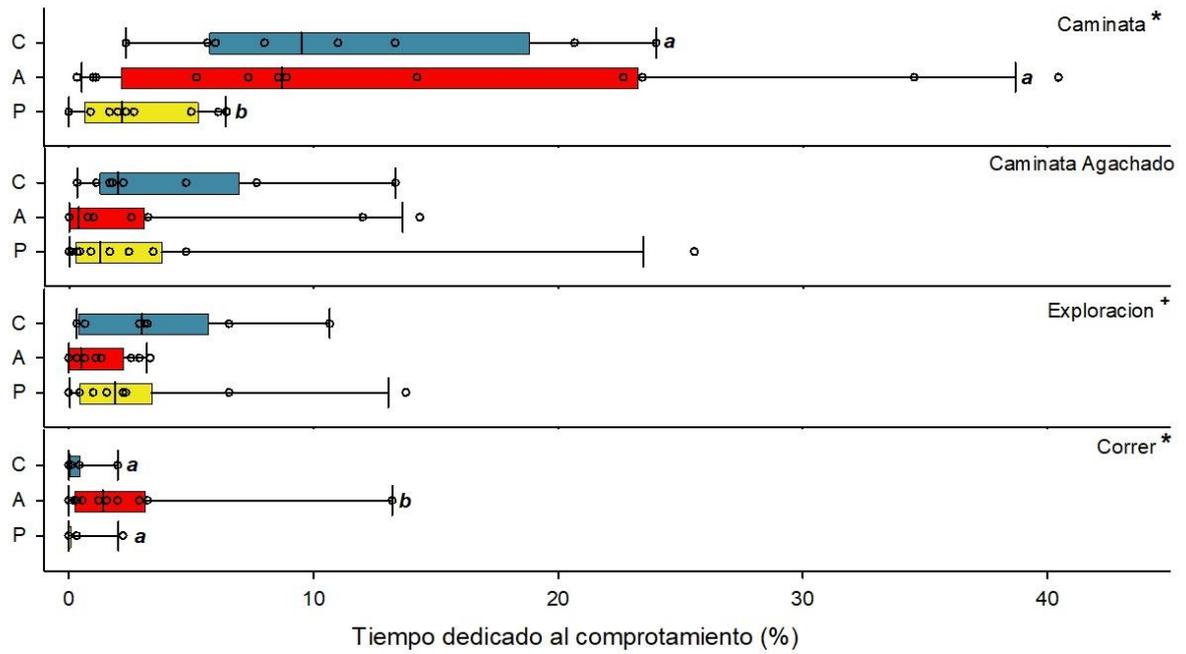


Figura 9: Diagrama de Cajas (“box plot”) del Tiempo dedicado a cada comportamiento (%) relacionado a la deambulaci3n luego de la colocaci3n del m3todo de sujeci3n de tipo Arn3s (A - Rojo) o Parche (P - Amarillo). Se utilizaron como Controles (C - Azul) individuos sin aceler3metro, que recibieron similar manipulaci3n inicial. Cada barra representa el 1º y 3º cuartil, con la mediana marcada con una l3nea. Los bigotes representan los percentiles 10 y 90. Los valores de cada individuo se representan con c3rculos. Se analiz3 con MLGM. Los comportamientos en los que los grupos difieren entre s3 significativamente $P < 0,05$ poseen un * y el grupo que no comparte la letra se diferencia, Los comportamientos en los que aparecen Tendencias significativas $P > 0,05$ poseen un +.

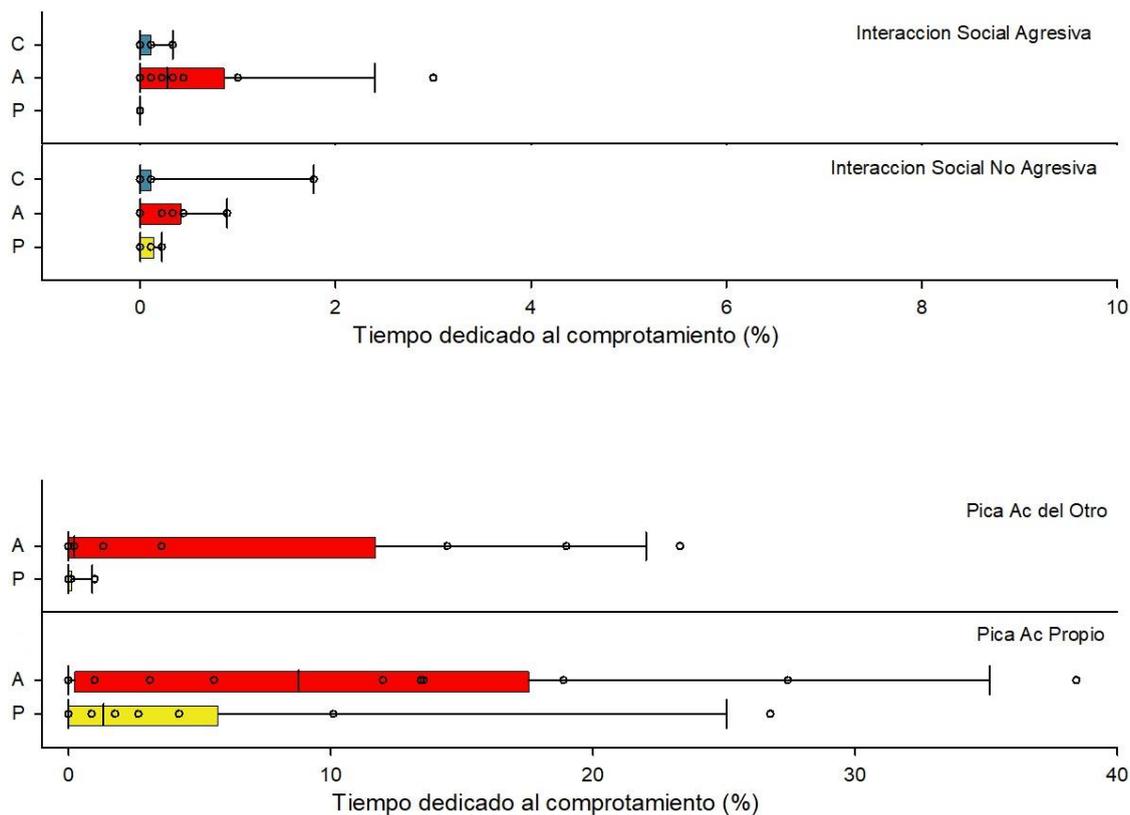


Figura 10: Diagrama de Cajas (“box plot”) del Tiempo dedicado a cada comportamiento (%) relacionado a la interacción con el congénere y con el acelerómetro inmediatamente luego de la colocación del método de sujeción de tipo Arnés (A - Rojo) o Parche (P - Amarillo). Se utilizaron como Controles (C - Azul) individuos sin acelerómetro, que recibieron similar manipulación inicial. Cada barra representa el 1° y 3° cuartilo, con la mediana marcada con una línea. Los bigotes representan los percentiles 10 y 90. Los valores de cada individuo se representan con círculos. Se utilizó la prueba MGLM, y los comportamientos en los que los grupos difieren entre sí significativamente $P < 0,05$ poseen un * y el grupo que no comparte la letra se diferencia. Los comportamientos en los que aparecen Tendencias significativas $P > 0,05$ poseen un +. Las variables Interacción Social no Agresiva y Agresiva se ajustaron a una distribución Binomial Negativa.

La Figura 11 muestra el análisis multivariado de componentes principales sobre el comportamiento en caja hogar. Notar que el Componente Principal 1 (Fig. 11 eje de las “x”) explica el 21% de la variabilidad y se correlaciona principalmente de manera positiva con Dormir y Reposo sentado y negativamente con Caminata, Acicalamiento y

Alimentación; mientras que el Componente Principal 2 (Fig. 11 eje de las “y”) explica el 19% de la variabilidad y se correlaciona positivamente con Picar piso y negativamente con Vigilancia parado, Inmóvil Parado, y Exploración. Si bien existe un solapamiento entre la disposición en el plano de los 3 grupos y una gran variabilidad entre los animales, a modo general, si recorremos el eje “X” de izquierda a derecha, se puede ver un gradiente de puntos, la mayoría de los puntos rojos (Arnés) se encuentran más cercanos a los azules (Control), mientras que los puntos amarillos (Parche) se encuentran dispersos en la zona derecha un poco más alejados del grupo control, reflejando la menor locomoción general observado en este último grupo.

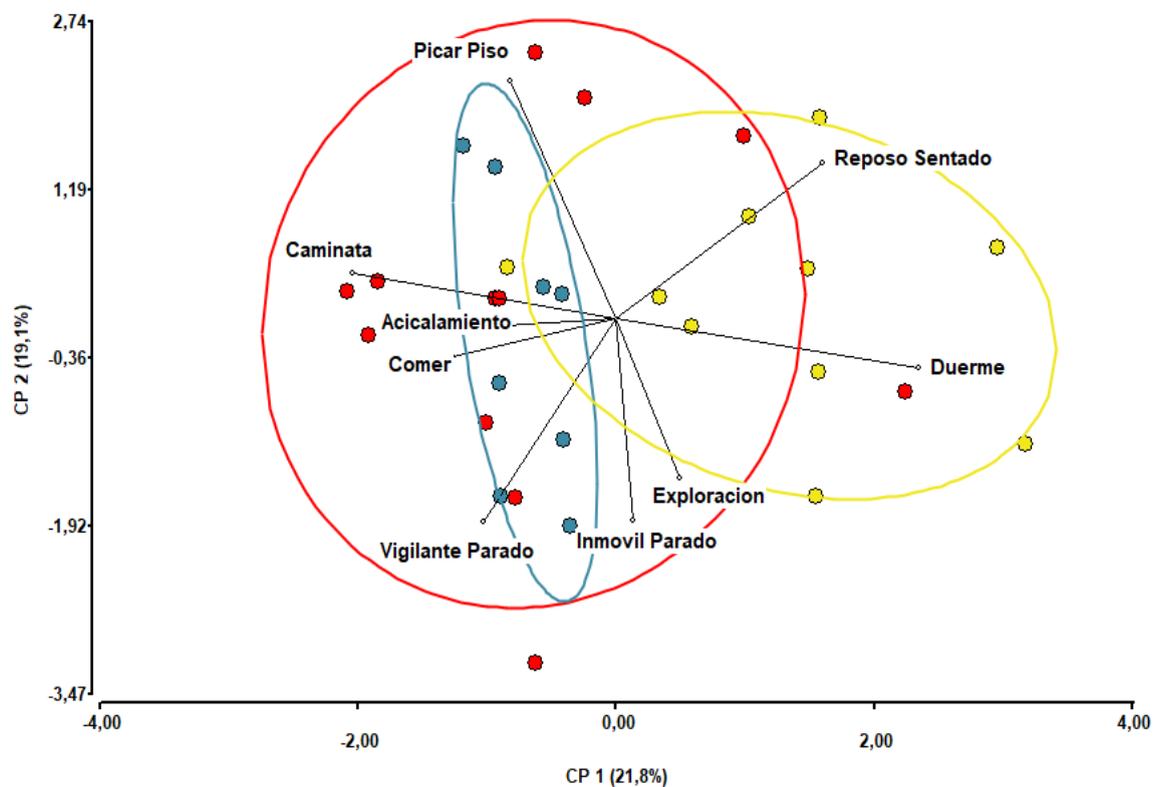


Figura 11: Análisis de componentes principales multivariado. Los puntos representan cada individuo, los azules corresponden a los animales del tratamiento Control, los rojos a los animales con el tratamiento Arnés y en amarillo los individuos con el tratamiento Parche. a su vez los puntos de cada tratamiento están englobados con una elipse de predicción del 70%. Las variables implicadas están representadas con puntos blancos (ver correlaciones con los ejes en el párrafo anterior).

5.2. Habitación al Tratamiento

En la Figura 12 se visualiza el porcentaje relativo (ver sección 5.1) de animales que realizaron cada uno de los comportamientos registrados en la prueba de habituación al tratamiento. En la Tabla S2 (Anexo 2) se puede observar el detalle del número y porcentaje de animales que realizaron cada uno de los comportamientos registrados en cada grupo. El análisis de estos datos mostraron diferencias significativas entre la proporción de animales que realizaron el comportamiento de Dormir cuando se comparó el tratamiento Control (5 individuos de 8) vs Arnés (7 individuos de 12) ($P=0,005$) y Control (5 individuos de 8) vs. Parche (4 individuos de 10) ($P=0,01$).

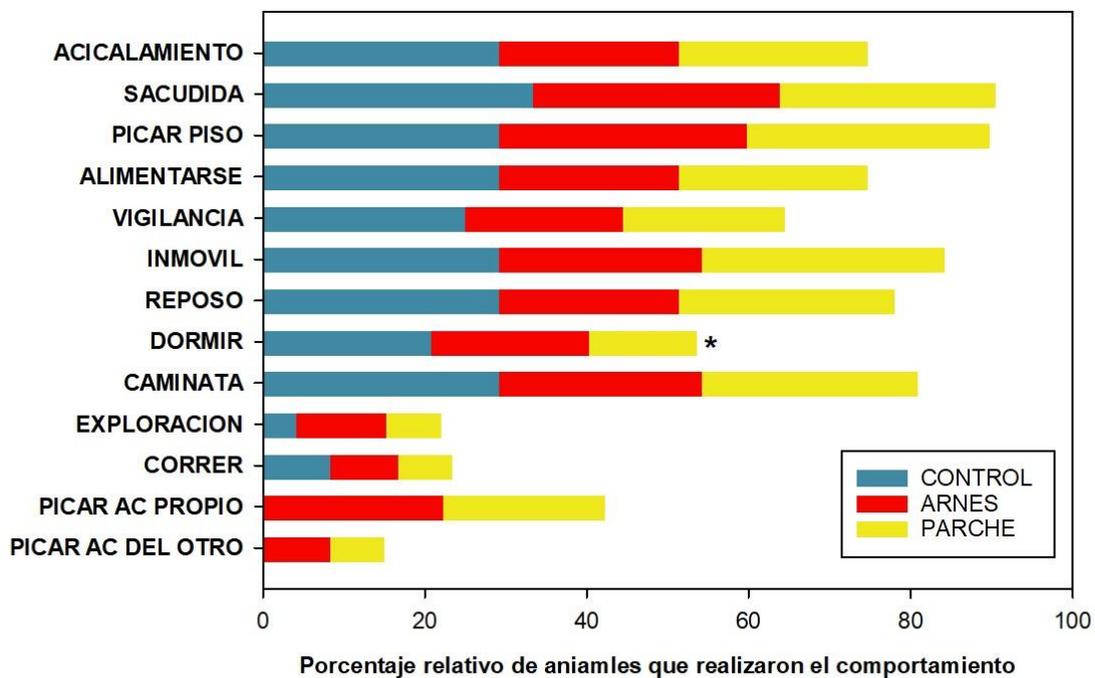


Figura 12: Porcentaje relativo de animales que realizaron cada comportamiento dentro de los tratamientos: Control en azul, Arnés en rojo y Parche en amarillo. Este porcentaje relativo se calculó a partir del porcentaje de animales de cada tratamiento que realizaban el comportamiento dividido el número de tratamientos estudiado (ver Sección 4.4.1). Así, cada tratamiento representa el 33,33% del total y, por lo

tanto, el valor del eje x no representa los valores de la Tabla S2. Ver detalle del número de animales y porcentaje de cada grupo en ANEXO 2. * Indica diferencias significativas ($P < 0.05$).

En las Figuras 13-16 se observa el porcentaje de tiempo que cada individuo destina a cada uno de los comportamientos registrados. Cada figura, como mencionamos anteriormente, corresponde a uno de los grupos de clasificación mencionados anteriormente: comportamientos de aseo o forrajeo (Fig. 13), relacionados a la inmovilidad (Fig. 14), de ambulación (Fig. 15) y de interacción con el dispositivo (Fig. 16). El modelo se ajustó a una distribución Gamma, con la excepción de algunas variables que se ajustaron mejor a una distribución Binomial Negativa (ver estas excepciones en la leyenda de las figuras cuando corresponde). Se encontraron solamente diferencias significativas en los comportamientos de Caminata ($F_{2,27}=3,72$; $P=0,04$).

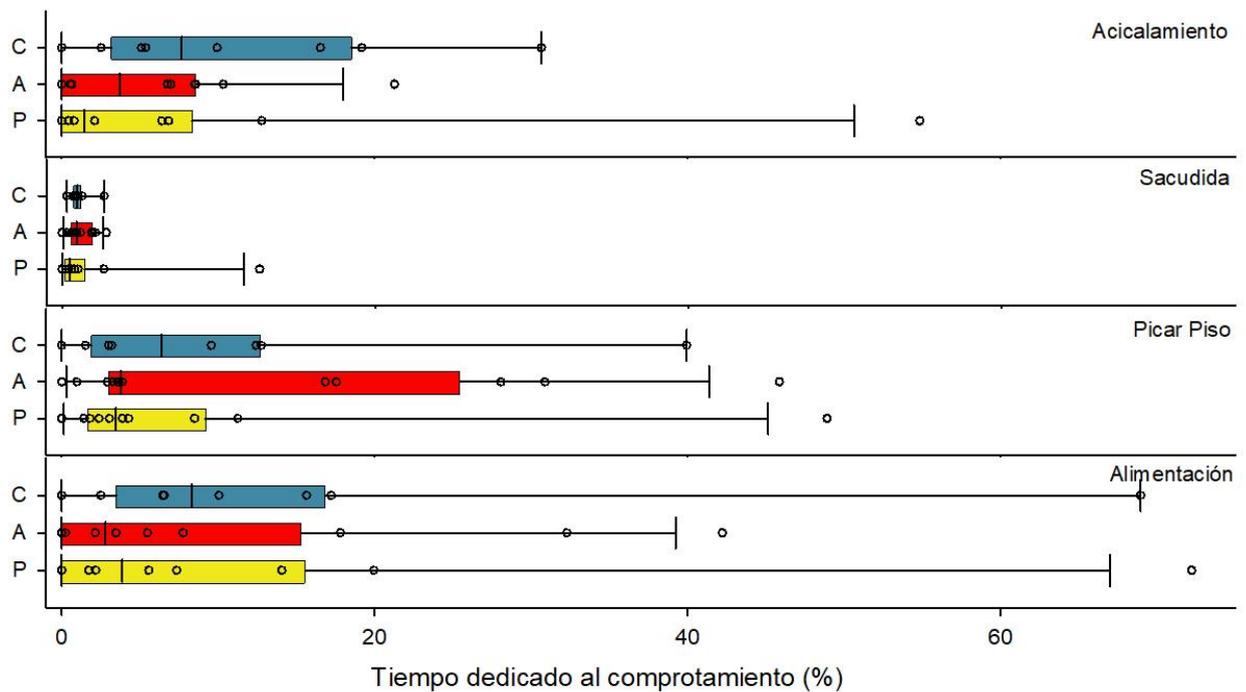


Figura 13: Diagrama de Cajas (“box plot”) del Tiempo dedicado a cada comportamiento (%) relacionado con el aseo o forrajeo luego de 1 día de la colocación del método de sujeción de tipo Arnés (A) o Parche (P). Se utilizaron como Controles (C) individuos sin acelerómetro, que recibieron similar manipulación inicial. Cada barra representa el 1° y 3° cuartil, con la mediana marcada con una línea. Los

bigotes representan los percentil 10 y 90. Los valores de cada individuo se representan con círculos. Los datos fueron analizados con MGLM, y comportamientos en los que los grupos difieren entre sí significativamente $P < 0,05$ poseen un * el grupo que no comparte la letra se diferencia.

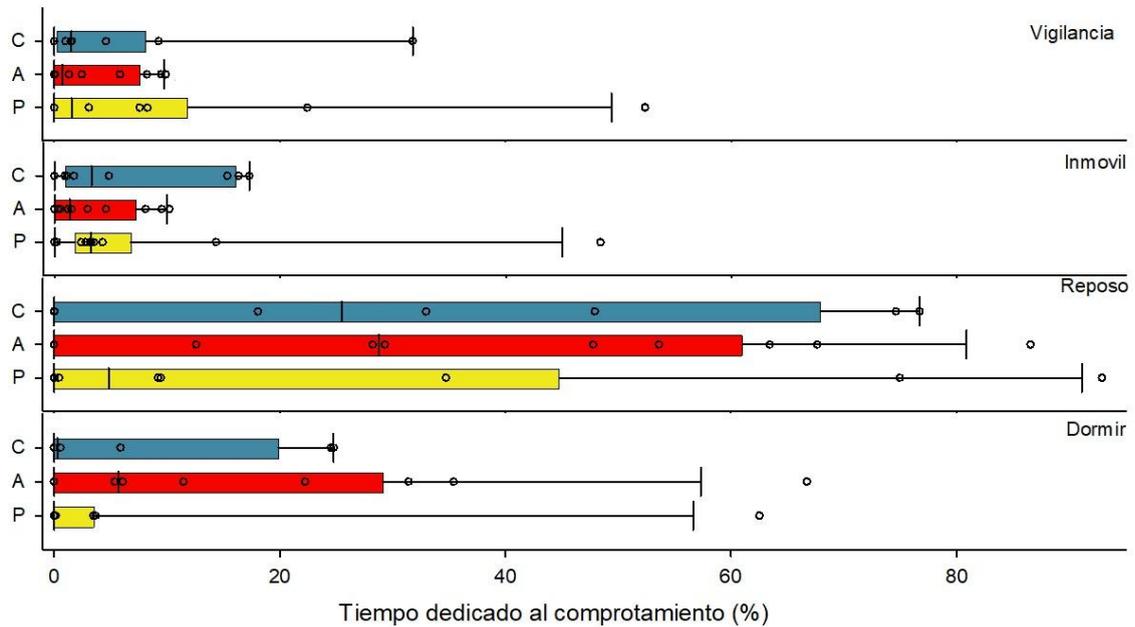


Figura 14: Diagrama de Cajas (“box plot”) del Tiempo dedicado a cada comportamiento (%) relacionado con la on la inmovilidad o reposo luego de 1 día de la colocación del método de sujeción de tipo Arnés (A) o Parche (P). Se utilizaron como Controles (C) individuos sin acelerómetro, que recibieron similar manipulación inicial. Cada barra representa el 1° y 3° cuartil, con la mediana marcada con una línea. Los bigotes representan los percentil 10 y 90. Los valores de cada individuo se representan con círculos. Los datos fueron analizados con MGLM, y los comportamientos en los que los grupos difieren entre sí significativamente $P < 0,05$ poseen un * el grupo que no comparte la letra se diferencia. La variable de Vigilancia se ajustó a una distribución Binomial Negativa.

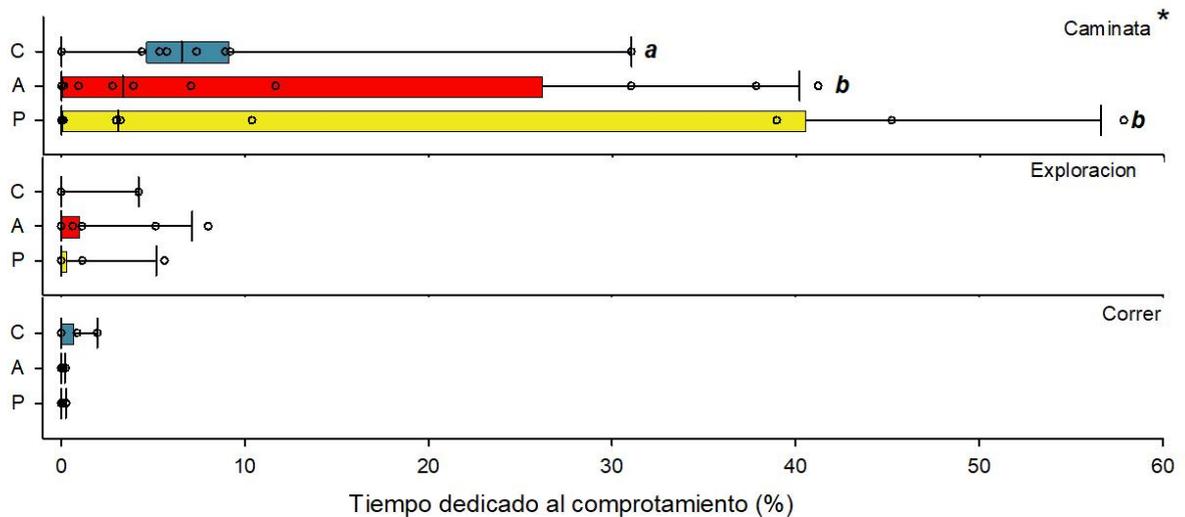


Figura 15: Diagrama de Cajas (“box plot”) del Tiempo dedicado a cada comportamiento (%) relacionado con la deambulaci3n luego de 1 d3a de la colocaci3n del m3todo de sujeci3n de tipo Arn3s (A) o Parche (P). Se utilizaron como Controles (C) individuos sin aceler3metro, que recibieron similar manipulaci3n inicial. Cada barra representa el 1º y 3º cuartilo, con la mediana marcada con una l3nea. Los bigotes representan los percentil 10 y 90. Los valores de cada individuo se representan con c3rculos. Los datos fueron analizados con MGLM, y los comportamientos en los que los grupos difieren entre s3 significativamente $P < 0,05$ poseen un * el grupo que no comparte la letra se diferencia. Las variables de Caminata y Correr se ajustaron a una distribuci3n Binomial Negativa.

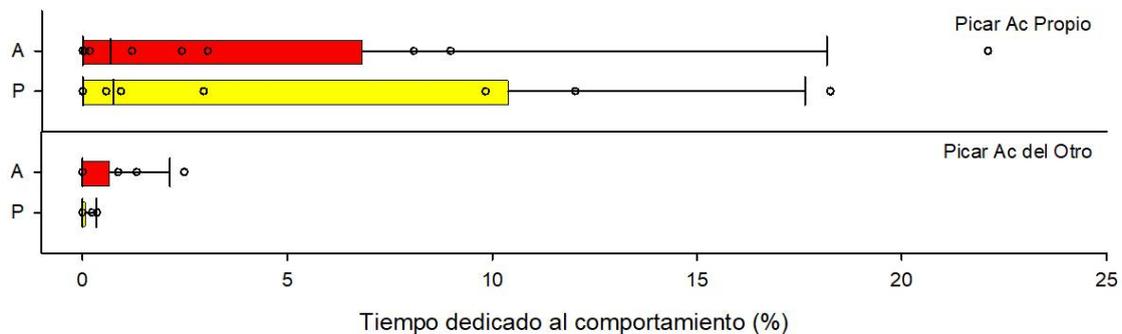


Figura 16: Diagrama de Cajas (“box plot”) del Tiempo dedicado a cada comportamiento (%) relacionado con la interacci3n con el dispositivo luego de 1 d3a de la colocaci3n del m3todo de sujeci3n de tipo Arn3s (A) o Parche (P). Se utilizaron como Controles (C) individuos sin aceler3metro, que recibieron similar manipulaci3n inicial. Cada barra representa el 1º y 3º cuartilo, con la mediana marcada con una l3nea. Los bigotes representan los percentil 10 y 90. Los valores de cada individuo se representan con c3rculos.

Los datos fueron analizados con MGLM, y los comportamientos en los que los grupos difieren entre sí significativamente $P < 0,05$ poseen un * el grupo que no comparte la letra se diferencia.

5.3. Capacidad de quitarse el dispositivo

En la Tabla 2 se presenta el número diario de veces que se observó a las hembras de cada tanda sin el acelerómetro presente en el cuerpo. Se observó que las aves del grupo de Arnés no se pudieron sacar el dispositivo, mientras que las del grupo Parche demuestran capacidad de sacarse el acelerómetro propio o el de sus congéneres con regularidad.

Tabla 2: Registro de ausencia de acelerómetros presente en el cuerpo de las dos hembras de cada tanda a lo largo de los 9 días de experimentación.

TANDA	PARCHE	ARNÉS
1	6	0
2	5	0
3	3	0
4	7	0
5	5	0
6	4	0

5.4. Reacción a un objeto novel

En la Figura 17 se observa el porcentaje relativo (ver sección 5.1) de animales que realizan cada comportamiento. El detalle del número y porcentaje de animales que realizaron cada uno de los comportamientos registrados en cada grupo se encuentra en la Tabla S4 (Anexo 4). Cuando se compararon los tratamientos Control vs Arnés se observaron diferencias significativas en la proporción de hembras que realizaron los comportamientos de Sacudida ($P=0,002$), en la comparación de los tratamientos Control vs. Parche solo se encontraron diferencias significativas en los comportamientos de Sacudida ($P=0,0002$). Cuando se compraron los tratamientos de Arnés vs. Parche no se encontraron diferencias significativas. Debido a la baja ocurrencia de los comportamientos de Picar la Pelota, Saltar para escapar, Sacudida, Picar al Compañero, Picar el acelerómetro del otro y el propio, no

se realizaron análisis sobre el porcentaje de tiempo dedicado a estos comportamientos, se puede ver los correspondiente cuartiles estimados en la Tabla S3 (ver Anexo 3).

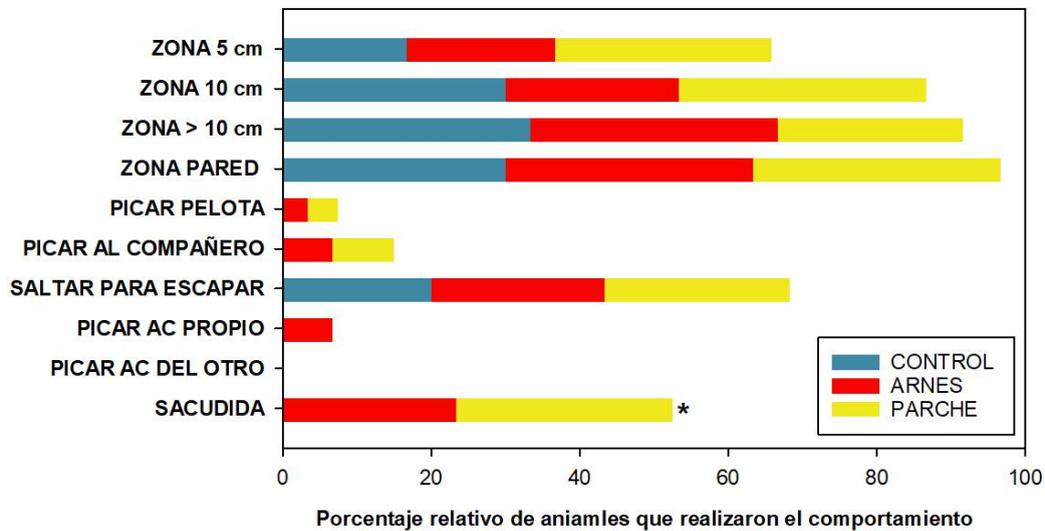


Figura 17: Porcentaje relativo de animales de cada tratamiento que realizaron cada comportamiento y que estuvieron en cada zona de la jaula.. Este porcentaje relativo se calculó a partir del porcentaje de animales de cada tratamiento que realizaban el comportamiento dividido el número de tratamientos estudiado (ver Sección 4.4.1). Así, cada tratamiento representa el 33,33% del total y, por lo tanto, el valor del eje x no representa los valores de la Tabla S4. Ver detalle del número de animales y porcentaje de cada grupo en ANEXO 4. * Indica diferencias significativas ($P < 0.05$).

En la Figura 18 se observa el tiempo que los animales de cada grupo permanecieron en cada una de las zonas delimitadas. Notar que no se observaron diferencias significativas entre grupos, posiblemente debido a la alta variabilidad encontrada entre animales.

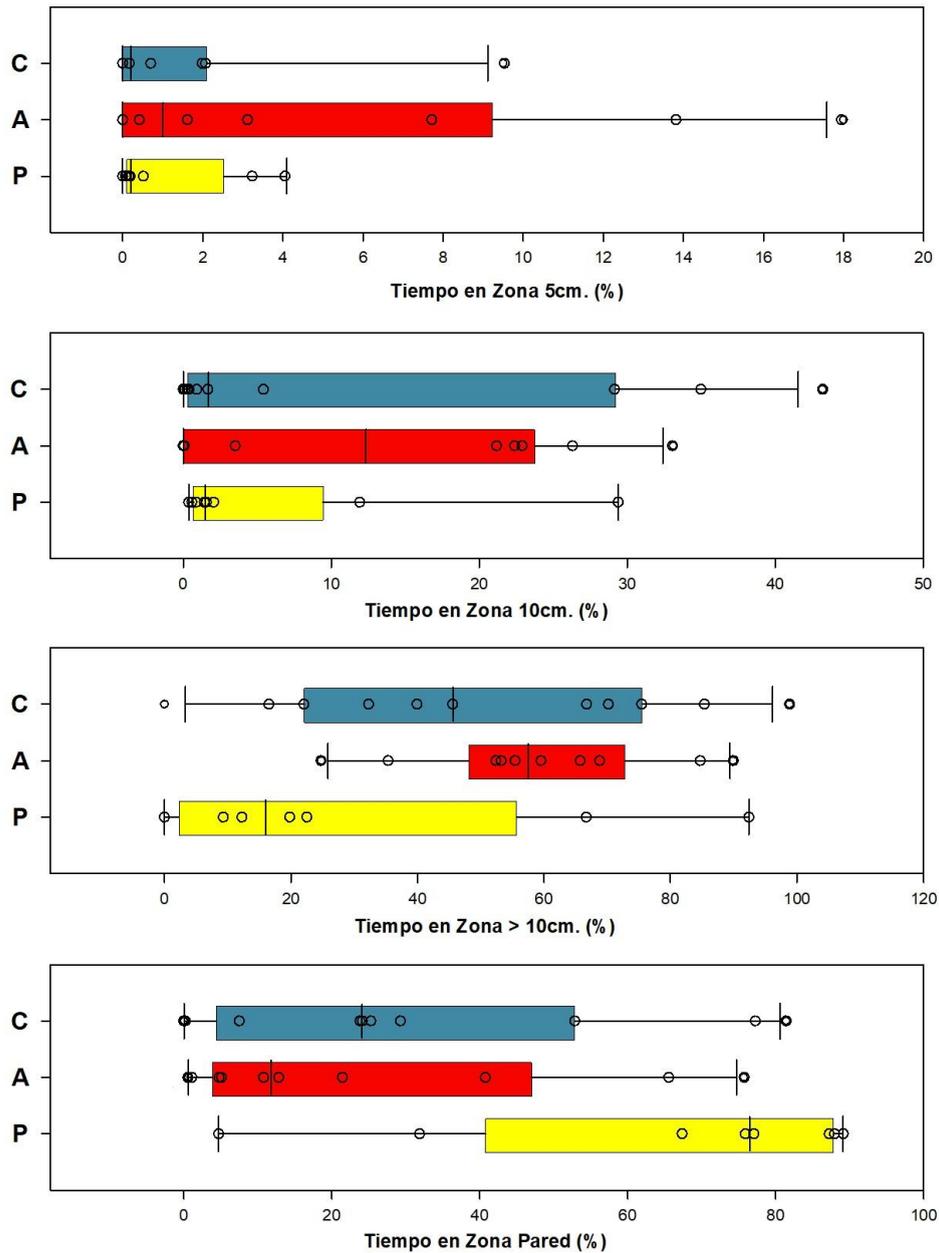


Figura 18: Diagrama de Cajas (“box plot”) del **Tiempo en cada zona (%)** luego de la colocación de la colocación de la pelota. Se utilizaron animales con el método de sujeción de tipo Arnés (A) y Parche (P). Se utilizaron como Controles (C) individuos sin acelerómetro, que recibieron similar manipulación inicial. Cada barra representa el 1° y 3° cuartilo, con la mediana marcada con una línea. Los bigotes representan los percentil 10 y 90. Los valores de cada individuo se representan con círculos. Los comportamientos en los

que los grupos difieren entre sí significativamente $P < 0,05$ poseen un * el grupo que no comparte la letra se diferencia.

El registro de congelamiento arrojó un congelamiento de 0 segundos para todos los animales en la prueba.

6. Conclusiones y Discusión

En este trabajo se logró valorar las condiciones en que los métodos de sujeción Arnés y Parche podrían ser adecuados para el estudio con acelerómetros en codornices japonesas (*Coturnix japonica*). Primeramente pudimos observar que, el comportamiento inmediato a la colocación del dispositivo, se ve afectado por ambos métodos pero de manera divergente. En general, el método Arnés favoreció a una reacción inmediata activa mientras que el Parche llevó a una mayor inactividad. Específicamente, en el tratamiento Arnés se observa, por un lado, que dedicaron más tiempo a correr y tendieron a explorar más que los individuos Control y con Parche. Esto es interesante, ya que en estudios anteriores (Pellegrini et al., 2015) se observó que los animales con un dispositivo tipo Arnés, pero con una vara metálica de 12 cm colocado sobre ella en vez de un acelerómetro, deambulaban y exploraban menos inmediatamente después de la colocación del dispositivo; en una prueba de campo abierto. Si bien ambos estudios utilizaron como base el Arnés la diferencia en las respuestas comportamentales al método podría estar asociado a que en el trabajo de Pellegrini et al. (2015) la presencia de una vara metálica podría generar mayor novedad que un pequeño acelerómetro sobre el arnés. Además en ese trabajo las codornices eran llevadas a un ambiente desconocido para el animal (campo abierto), por lo tanto el efecto del ambiente novedoso podría contribuir a la respuesta de inmovilidad observado en ese estadio. Por otro lado, en las observaciones de las videgrabaciones también se pudo advertir que los animales del tratamiento Arnés pican el dispositivo más que los con Parche e invierten mayor tiempo a la actividad de Sacudida Parado. Por lo tanto, la respuesta activa inmediata observada podría estar asociada a una

incomodidad inicial en las aves y a que el dispositivo es relativamente más grande y conspicuo que el Parche.

Con respecto a la respuesta inicial del método de sujeción de tipo Parche se observó que, las hembras, dedicaron más tiempo al reposo y menos a la caminata, y tendieron a dormir más en comparación con los tratamientos Control y Arnés. Esto también se evidencia con la distribución de individuos de este grupo en el análisis de componentes principales, donde se observa predominancia a la derecha del gráfico (Fig. 11). Estos resultados sugieren que, en una respuesta inmediata al tratamiento, las hembras con Parche tienen tendencia a la inmovilidad por lo que el dispositivo podría estar induciendo un estado mayor de ansiedad o miedo en estos individuos, similar a lo observado por Pellegrini et al. (2015) mencionado anteriormente. En este contexto cabe aclarar que, en aves de corral, está ampliamente documentado que ambientes u objetos noveles pueden generar una respuesta de inmovilidad asociada a su respuesta de temor. Por ejemplo, en codornices seleccionadas por un mayor respuesta adrenocortical ante una inmovilización mecánica parcial, se observó que tuvieron una menor tasa de ambulación en un ambiente novel; en comparación con aves con una menor respuesta (Satterlee y Marin, 2006). También en el trabajo de Pellegrini et al. (2016) se sugiere que los animales deambulan menos como resultado de la incomodidad inducida por la colocación reciente del dispositivo. Al igual que lo observado en el tratamiento Arnés, el tiempo destinado a la vigilancia disminuyó, en comparación con el control, probablemente reflejando un mayor tiempo destinado a los comportamientos asociados a la colocación de los arneses.

A partir de los resultados obtenidos de los registros de comportamiento, después de un día de haber sido colocado el acelerómetro, no se observan diferencias entre tratamientos en la mayoría de los comportamientos. Esto sugiere que podría existir cierto grado de habituación a los sistemas de sujeción después de este tiempo. Esta habituación podría estar asociada a que, las codornices, han dejado de sentir los dispositivos como un estímulo estresante o amenazante, tal como fue propuesto por Pellegrini et al., (2015), o porque los

individuos aprendieron a ignorar el estímulo por resultar inocuo (Thompson y Spencer, 1966 y Romero, 2009). Sin embargo, como se mencionara, se observó una diferencia en el comportamiento de Caminata, donde los animales con los métodos Arnés y Parche dedican más tiempo a estas actividades que los animales control. Además, a la mayoría de los animales se los observó picando su acelerómetro durante toda la prueba (Fig. 16), lo que podría indicar que seguían percibiendo los acelerómetros luego de 24h de haber sido colocados y esto advierte que, en cierto punto, los animales aún no se habitúan completamente. El estudio de Pellegrini et al., (2015), con el dispositivo similar al Arnés, mostró una habituación al mismo después de 7 días de colocación en una prueba de campo abierto donde se midieron diferentes variables de ambulación. Además, los autores pudieron observar que el dispositivo, luego de una semana, no influía en la motivación social ni en la discriminación entre aves como congéneres (Pellegrini et al., 2015). Por lo tanto, estudios más largos son necesarios para detectar la habituación completa a los sistemas de sujeción estudiados. Cabe aclarar que estos análisis a largo plazo, dentro de la caja hogar, no fueron posibles debido a videograbaciones insuficientes.

En el registro semanal sobre la capacidad de quitarse el acelerómetro, pudimos detectar que los animales del tratamiento Parche se quitaban el dispositivo con regularidad. En un estudio de tipo piloto anterior, realizado con 4 machos alojados individualmente (comunicación personal de J. M. Kembro), se advirtió que los mismos no poseían capacidad de quitarse el dispositivo a lo largo de una semana. Esto indica que la capacidad de quitárselo podría surgir sólo cuando las codornices están alojadas con uno o más congéneres. Podemos relacionar esto con la observación directa, de un conoespecífico quitando el acelerómetro de su compañero que utilizaba un método de sujeción de tipo Parche. Es importante notar que, el diseño experimental utilizado, requería que se volviese a colocar el dispositivo a los animales que se lo habían quitado. Dado que solamente las hembras con Parche se quitaban el acelerómetro, los individuos con este método sufrieron más manipulación por parte de los investigadores que los que los otros. Esta manipulación podría inducir un mayor estado de ansiedad o miedo en individuos con el método parche

(Jones & Waddington, 1991). La capacidad de quitar el acelerómetro del compañero, y el consecuente incremento de manipulación que esta conlleva, implican que el método de parche no sería adecuado para estudios comportamentales con acelerómetros, ya que una de las razones principales por las que se desarrolla esta tecnología es para poder estudiar a los animales en grupos sociales y sin manipulaciones directas por parte de los experimentadores.

La evaluación del efecto de la introducción de un objeto novel en la caja hogar no arrojó diferencias significativas entre grupos. Se observa que todos los animales permanecieron alejados de la pelota, lo que es esperable ya que no han estado expuestos a objetos similares en su vida (Richard et al., 2008). En primera instancia, los animales de los tratamientos Arnés y Parche no presentaron una respuesta exacerbada al objeto novel, por lo que no parece haber una sensibilización generada por el uso de un sistema de sujeción. Tampoco en la prueba de objeto novel, se observó “congelamiento” en ninguno de los animales estudiados. El congelamiento en esta prueba se asocia a una respuesta de miedo. Por ejemplo, se ve mayor tiempo de congelamiento en pruebas donde se manipula al animal para trasladarlo a otro habitáculo (Jones, 1996). Por lo tanto, la ausencia de la respuesta de congelamiento podría estar relacionada a que las codornices utilizadas en este estudio son animales criados y acostumbrados a la presencia de los investigadores.

Es importante notar que cuantitativamente las hembras con parche permanecieron más tiempo cerca de la pared que las de los restantes grupos. A pesar de que la mediana del tratamiento Parche fue más de 6 veces mayor que los otros dos grupos la diferencia no es significativa, probablemente por la gran variabilidad de los datos y el bajo número de muestras. Sin embargo, se observó que en el tratamiento Parche que el 75% de los animales dedicaron más del 70% (400s) del tiempo que duró la prueba a estar cerca de la pared (Fig. 18), lo cual es una proporción de animales significativamente mayor a los que se observaron dedicando esta cantidad de tiempo en los Controles ($P= 0,002$) y Arnés ($P=0,007$). Lo que es consistente con que las aves de este grupo estarían sufriendo una mayor respuesta de estrés, posiblemente asociado a la mayor manipulación sufrida, en

comparación con los otros tratamientos (ver discusión arriba). Un estudio previo realizado por Jones & Waddington en 1992 mostró en pichones de pollo doméstico que una manipulación dos veces al día durante un periodo de 20 días no afectaba significativamente el acercamiento de estos animales al objeto novel en comparación con controles no manipulados. Sin embargo, a diferencia de ese estudio, nuestra manipulación no fue realizada de manera sistemática sino en respuesta a haberse quitado el acelerómetro a lo largo de un periodo más breve de 9 días y además nuestro diseño de observación permite un mayor detalle del posicionamiento de las aves. Por lo tanto, se puede suponer que podrían no haberse habituado a esta manipulación durante el periodo experimental. Otro estudio desarrollado por los mismos autores en 1991, propone que pollos con un aumento de la complejidad de su entorno con objetos desconocidos como una lámpara, o exponerlos a la manipulación suave y a la presencia del investigador, reduce el miedo. Por lo tanto, sería interesante que en estudios futuros se pongan a prueba este dispositivo con un enriquecimiento del entorno periódico y paulatino.

Si bien en la prueba de objeto novel sólo se detectaron a 2 de las 12 hembras con Arnés picando a sus acelerómetros, este comportamiento fue mucho más frecuente en los primeros días de estudio. A partir de las observaciones de las videgrabaciones pudimos advertir que en las codornices con el Arnés más que picar el acelerómetro, picoteaban los extremos de las bandas elásticas que sobresalen. Esto es consistente con la atracción que genera en las aves los objetos que puedan asimilarse a un gusano (tiras de papel trenzadas, hilos, etc) ya que se ha observado que su aparición en el ambiente induce inmediatamente un comportamiento de picaje y captura del objeto que es incluso disputado entre diferentes aves mediante persecuciones y desplazamientos prolongados (prueba de mealworm) (Hogan 1965). Esta observación nos impulsa a perfeccionar el método de sujeción para estudios futuros el dispositivo de Arnés, para que la colocación de los acelerómetros influya aún menos el comportamiento de las aves.

Las pruebas de respuesta inmediata, habituación, capacidad de sacarse el dispositivo y reacción a un objeto novel arrojan diferentes resultados que apuntan a que el método de

sujeción de acelerómetros que más se adecua en codornices japonesas es el Arnés. Si bien, el Arnés genera una respuesta inmediata activa, luego de 24 se observa que interfiere en el repertorio conductual en menor medida que el Parche de tela autoadhesiva y, además los animales son incapaces de quitarse el acelerómetro propio o de sus congéneres. El presente trabajo contribuye con una parte importante en el desarrollo de la tecnología de los acelerómetros. Creemos necesaria la continuación de investigaciones relacionadas con el perfeccionamiento de los métodos de sujeción de acelerómetros en aves pequeñas como las codornices japonesas. El desarrollo de estas tecnologías, además de crear una facilitación para los investigadores en la observación de comportamientos animales en cautiverio; podría proveer información importante de las aves de cría, contribuyendo así al bienestar a lo largo de su vida.

7. Bibliografía

- Aguiar, L. M. & Moro-Rios, R. F. (2009). The Direct Observational Method and Possibilities for Neotropical Carnivores: An Invitation for the Rescue of a Classical Method Spread over the Primatology. *Zoologia*, 26(4), 587–93.
- Asher, L., Collins, L.M., Ortiz-Pelaez, A., Drewe, J.A., Nicol, C.J. & Pfeiffer, D.U., (2009). Recent advances in the analysis of behavioural organization and interpretation as indicators of animal welfare. *Journal of the Royal Society, Interface*, 6 (41): 1103–19.
- Ball G.F., Balthazart J., (2010). Japanese Quail as a Model System for Studying the Neuroendocrine Control of Reproductive and Social Behaviors, *ILAR Journal*, 51(4), 310–325.
- Banerjee, D., Biswas, S., Daigle C., y Siegford, J. M., (2012). Clasificación de actividad remota de gallinas que utilizan sensores inalámbricos montados en el cuerpo. *Novena Conferencia internacional sobre redes de sensores corporales portátiles e implantables*, 107-112.

- Calvo, B. & Furness, R.W. (1992) A review of the use and the effects of marks and devices on birds. *Ringing Migration* 13(3) 129–151.
- Castañeda R. D., Peñuela L. M., & Viana C. E. (2015). Estudio etológico del *Sylvilagus brasiliensis*, del bosque seco tropical del departamento del Tolima (Colombia). *Boletín Científico. Centro de Museos*, 19(1), 147-154.
- Cyr, N. E., & L. M. Romero. (2009). Identifying hormonal habituation in field studies of stress. *General and Comparative Endocrinology*, 161(3): 165-303.
- Daigle, C.L.; Banerjee, D.; Biswas, S.; Siegford, J.M. (2012) Noncaged laying hens remain unflappable while wearing body-mounted sensors: Levels of agonistic behaviors remain unchanged and resource use is not reduced after habituation. *Poultry Science*, 91(10), 2415–2423.
- Fowler S.C., Birkestrand B.R., Chen R., Moss S.J., Vorontsova E., Wang G., Zarcone T.J. (2001) A force-plate actometer for quantitating rodent behaviors: illustrative data on locomotion, rotation, spatial patterning, stereotypies, and tremor. *Journal of Neuroscience Methods* 107(1-2), 107–124.
- Gebhardt-Henrich, S.G., Fröhlich, E.K.F., Burose, F., Fleurent, J., Gantner, M. y Zähler, M. (2014). Individual tracking of laying hens with an RFID-System (Registrierung des Auslaufverhaltens einzelner Legehennen mit einem RFID-System). *Landtechnik* 69, 301–307.
- Gonyou, H. W. (1994). Why the Study of Animal Behavior Is Associated with the Animal Welfare Issue. *Journal of animal science* 72(8), 2171–77.
- Grissom, N. y Bhatnagar, S. (2009). Habituation to repeated stress: get used to it. *Neurobiol Learn Mem* 92, 215-224.
- Hansen, B.D., Lascelles, B.D.X., Keene, B.W., Adams, A.K. y Thomson, A.E. (2007). Evaluation of an accelerometer for at-home monitoring of spontaneous activity in dogs. *American Journal Veterinary Research* 68(5), 468–475.
- Hartcher, K.M., Hickey, K.A., Hemsworth, P.H., Cronin, G.M., Wilkinson, S.J. y Singh, M. (2015). Relationships between range access as monitored by radio frequency identification technology, fearfulness, and plumage damage in free-range laying hens. *Animal* 10(5), 847-853.

- Healy, K., and McNally L. (2013). Metabolic Rate and Body Size Are Linked with Perception of Temporal Information. *Animal Behaviour* 86(4), 685–96.
- Jones, R. & Waddington, D. (1991). Modification of fear in domestic chicks, *Gallus gallus domesticus*, via regular handling and early environmental enrichment. *Animal Behavior*, 43(6): 1021-1033.
- Jones, R. (1996). Fear and adaptability in poultry: Insights, implications and imperatives. *World's Poultry Science Journal*, 52(2): 131-174.
- Jones, R. B. (1987). The assessment of fear in the domestic fowl. In: *Cognitive Aspects of Social Behaviour in the Domestic Fowl* (Ed. by R. Zayan & I. J. H. Duncan), 40-81.
- Jones, R. B., Mills, A. D. & Faure, J. M. (1991). Genetic and experiential manipulation of fear-related behavior in Japanese quail chicks (*Coturnix coturnix japonica*). *Journal of Comparative Psychology*, 105(1): 15–24.
- Keegan, K.G., Kramer, J., Yonezawa, Y., Maki, H., Pai, P.F., Dent, E.V., Kellerman, T.E., Wilson, D.A., Reed, S.K. (2011). Assessment of repeatability of a wireless, inertial sensor-based lameness evaluation system for horses. *American Journal of Veterinary Research* 72 (9), 1156–1163.
- Kembro J.M., Perillo M.A., Pury P.A., Satterlee D.G., Marín R.H.(2009) Fractal analysis of the ambulation pattern of Japanese quail. *British Poultry Science* 50(2), 161-70.
- Kembro, J.M. (2013) Assessment of Long-Range Correlation in Animal Behavior Time Series: The Temporal Pattern of Locomotor Activity of Japanese Quail (*Coturnix coturnix*) and Mosquito Larva (*Culex quinquefasciatus*). *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications* 392(24): 6400–6413.
- Kembro, J.M. (2019). Bumblebees Learn Foraging Routes through Exploitation – *Exploration Cycles* . *Interface* 16(156), 20190103.
- Kembro, J.M., Guzman D.A., Perillo M.A., Marin R.H. (2012) Temporal Pattern of Locomotor Activity Recuperation after Administration of Propofol in Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*) . *Research in Veterinary Science* 93(1), 156–62.
- Ladewig, J. (2000). Chronic Intermittent Stress: A Model for the Study of Long-term Stressors. En *The Biology of Animal Stress Basic Principles and Implications for*

- Animal Welfare*, G.P. Moberg, y J.A. Mench, eds. (New York, CABI Publishing), páginas 159-170.
- Lopez, L., Lopez, I., Mora, J. y Osbahr, K. (2000) Estudio preliminar del comportamiento de *Dinomys Branick* (Peters, 1873) en cautiverio (2000). *CAA. Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica* (905).
- Martiskainen, P., Järvinen, M., Skön, J.-P., Tiirikainen, J., Kolehmainen, M. y Mononen, J. (2009). Cow behaviour pattern recognition using a three-dimensional accelerometer and support vector machines. *Applied Animal Behaviour Science* 119 (1-2), 32–38.
- Mills, Andrew D., Lawrence L. Crawford, Michael Domjan, and Jean Michel Faure. 1997. The Behavior of the Japanese or Domestic Quail *Coturnix Japonica*. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 21(3), 261–81.
- Pellegrini, S., Condat, L., Caliva, J. M., Marin, R. H. y Guzman D. A. (2019). Can Japanese Quail Male Aggressions toward a Female Cagemate Predict Aggressiveness toward Unknown Conspecifics?. *Livestock Science* 222, 65–70.
- Pellegrini, S., Marin, R. H. & Guzman D. A. An individually fitted physical barrier device as a tool to restrict the birds' spatial access: can their use alter behavioral responses?. *Poultry Science*, 94(10): 2315-2321.
- Quwaider, M.Q., Daigle, C.L., Biswas, S.K., Siegford, J.M. y Swanson, J.C. (2010). Development of a Wireless Body-Mounted Sensor to Monitor Location and Activity of Laying Hens in a Non-Cage Housing System. *American Society of Agricultural and Biological Engineers* 53, 1705–1713.
- Richard, S., Wacrenier-Céré, N., Hazard, D., Saint-Dizier, H., Arnould, C. & Faure, J. M. (2008). Behavioural and endocrine fear responses in Japanese quail upon presentation of a novel object in the home cage. *Behavioural Processes*, 77(3): 313-319.
- Robert, B., White, B.J., Renter, D.G. y Larson, R.L. (2009). Evaluation of three-dimensional accelerometers to monitor and classify behavior patterns in cattle. *Computers and Electronics in Agriculture* 67 (1-2), 80–84.
- Rothwell, E.S., Bercovitch, F.B., Andrews, J.R.M., Anderson, M.J. (2011). Estimating daily walking distance of captive African elephants using an accelerometer. *Zoo Biology* 30, 579–591.

- Satterlee, D. G. & Marin, R. H. (2006). Stressor-Induced Changes in Open-Field Behavior of Japanese Quail Selected for Contrasting Adrenocortical Responsiveness to Immobilization¹. *Poultry Science*, 85(6):404–409.
- Schmid, Imelda, and Beat Wechsler. (1997). Behaviour of Japanese Quail (*Coturnix Japonica*) Kept in Semi-Natural Aviaries. *Applied Animal Behaviour Science* 55(1–2), 103–12.
- Seigford J. M., Berezowski J., Biswas S.K., Daigle C.L., Gebhardt-Henrich S.G., Hernandez C., Thurner E. and Toscano M.J. (2016). Assessing Activity and Location of Individual Laying Hens in Large Groups Using Modern Technology. *Animals* 6 (2).
- Shanaway M.M Quail production systems: a review (1994) Food and Agriculture Organization of United States.
- Sumpter D.J.T. (2006). The principles of collective animal behaviour. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 361 (5), 22.
- Thompson, R. F., & W. A. Spencer. (1966). Habituation: A model phenomenon for the study of neuronal substrates of behavior. *Psychological Review*, 73(1): 16-43.
- Tietjen, W.J. (1981) An inexpensive microcomputer-based image digitizer. *Behavior Research Methods & Instrumentation*, 13: 347–350.
- Troscianko T., Holmes A., Stillman J., Mirmehdi M., Wright D., Wilson A. (2004) What happens next? The predictability of natural behaviour viewed through CCTV cameras . *Sage Journals* 33(1), 87-101.
- Xue, X. & Henderson, T. C. (2006). Video-based Animal Behavior Analysis From Multiple Cameras. *IEEE International Conference on Multisensor Fusion and Integration for Intelligent Systems*, 335-340.

8. Anexos

8.1. Anexo 1

Tabla S1: Número de animales que realizaron cada uno de los comportamientos dentro de cada tratamiento (Control, Arnes y Parche) neto y porcentaje.

NÚMERO DE ANIMALES QUE REALIZAN EL COMPORTAMIENTO Y PORCENTAJE EN CADA GRUPO						
Tratamiento	CONTROL (n=8)		ARNÉS (n=12)		PARCHE (n=10)	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Acicalamiento	8	100,00	12	100,00	10	100,00
Acicalamiento Erguido	4	50,00	5	41,67	6	60,00
Sacudida Sentado	5	62,50	6	50,00	8	80,00
Sacudida Parado	6	75,00	10	83,33	9	90,00
Estabilización con Alas	3	37,50	4	33,33	0	0,00
Baños de Viruta	4	50,00	6	50,00	4	40,00
Rascar con Pata	3	37,50	7	58,33	3	30,00
Picar Piso	8	100,00	9	75,00	9	90,00
Alimentación	7	87,50	9	75,00	5	50,00
Vigilancia Sentado	3	37,50	4	33,33	7	70,00
Vigilancia Parado	8	100,00	12	100,00	10	100,00
Inmovil Parado	8	100,00	12	100,00	10	100,00
Reposo Sentado	8	100,00	12	100,00	10	100,00
Dormir	4	50,00	5	41,67	7	70,00
Caminata	8	100,00	12	100,00	8	80,00
Caminata Agachado	8	100,00	6	50,00	9	90,00
Exploración	8	100,00	8	66,67	9	90,00
Correr	4	50,00	10	83,33	2	20,00
Interacción Social Agresiva	3	37,50	8	66,67	0	0,00
Interacción Social no Agresiva	3	37,50	5	41,67	3	30,00
Picar Acelerómetro del Otro	0	0,00	7	58,33	3	30,00

Picar Acelerómetro Propio	0	0,00	9	75,00	6	60,00
----------------------------------	---	------	---	-------	---	-------

8.2. Anexo 2

Tabla S2: Número de animales que realizaron cada uno de los comportamientos dentro de cada tratamiento (Control, Arnes y Parche) neto y porcentaje.

NÚMERO DE ANIMALES QUE REALIZAN EL COMPORTAMIENTO Y PORCENTAJE EN CADA GRUPO						
Tratamiento	CONTROL (n=8)		ARNÉS (n=12)		PARCHE (n=10)	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Acicalamiento	7	87,50	8	66,67	7	70,00
Sacudida	8	100,00	11	91,67	8	80,00
Picar Piso	7	87,50	11	91,67	9	90,00
Alimentación	7	87,50	8	66,67	7	70,00
Vigilancia	6	75,00	7	58,33	6	60,00
Inmovil Parado	7	87,50	9	75,00	9	90,00
Reposo Sentado	7	87,50	8	66,67	8	80,00
Dormir	5	62,50	7	58,33	4	40,00
Caminata	7	87,50	9	75,00	8	80,00
Exploración	1	12,50	4	33,33	2	20,00
Correr	2	25,00	3	25,00	2	20,00
Picar Acelerómetro del Otro	0	0,00	8	66,67	6	60,00
Picar Acelerómetro Propio	0	0,00	3	25,00	2	20,00

8.3. Anexo 3

Tabla S3: Medidas de resumen del tiempo en segundos que los animales estuvieron en las zonas de la caja o realizando algún comportamiento. Las columnas corresponden a cada grupo con la mediana (Me) de tiempo y los cuartiles 1 (Q₁) y 3 (Q₃) Color rojo y * Indica diferencias significativas (P<0.05).

MEDIANAS Y CUARTILES EN CADA GRUPO			
Tratamiento	CONTROL (n=10)	ARNÉS (n=10)	PARCHE (n=8)

	Me	Q ₁	Q ₃	Me	Q ₁	Q ₃	Me	Q ₁	Q ₃
Zona 5 cm (s)	0,5	0	11,9	6,1	0	46,3	1	0,4	3,1
Zona 10 cm (s)	7,75	1,6	174,9	74,1	0	137,4	8,95	3,5	12,4
Zona > 10 cm (s)	336,9 5	193,7	452,7	344,95	314,4	412,8	96,25	0	135,1
Zona Pared (s)	148,1 5	45	317	70,85	28,6	244,6	458,85	191,2	523,4
Picar pelota (s)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Picar al compañero (s)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Saltar para escapar (s)	1,8	0	4,4	3,95	0	7,1	1,2	0	4,2
Picar Ac. Propio (s)	.	.	.	0	0	0	0	0	0
Picar Ac. del otro (s)	.	.	.	0	0	0	0	0	0
Sacudida (s)	1,45	1,2	2,5	0,8	0	1,1	0,75	0,1	1,3

8.4. Anexo 4

Tabla S4: Número de animales que realizaron cada uno de los comportamientos dentro de cada tratamiento (Control, Arnés y Parche) neto y porcentaje.

NÚMERO DE ANIMALES QUE REALIZAN EL COMPORTAMIENTO Y PORCENTAJE EN CADA GRUPO						
Tratamiento	CONTROL (n=10)		ARNÉS (n=10)		PARCHE (n=8)	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Zona 5 cm	5	50,00	6	60,00	7	87,50
Zona 10 cm	9	90,00	7	70,00	8	100,00
Zona > 10 cm	10	100,00	10	100,00	6	75,00
Zona Pared	0	00,00	10	100,00	8	100,00
Picar pelota	0	00,00	1	10,00	1	12,50
Picar al compañero	6	60,00	2	20,00	2	25,00

Saltar para escapar	0	00,00	7	70,00	6	75,00
Picar Ac. Propio	0	00,00	2	20,00	0	0,00
Picar Ac. del otro	0	00,00	0	00,00	0	0,00
Sacudida	6	60,00	7	70,00	7	87,50