

01674



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA
PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL**

**MEDICIÓN DEL COMPORTAMIENTO Y CORTISOL
SALIVAL DE DELFINES DE ACUERDO A LAS
ACTIVIDADES QUE REALIZAN EN
CAUTIVERIO**

TESIS

**PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO
EN CIENCIAS**

PRESENTA

CLEMENTINA MIGUEL MEJÍA

TUTOR:

Dr. FRANCISCO GALINDO MALDONADO

COMITÉ TUTORAL:

Dra. MARTA ROMANO PARDO

Dr. LUIS MEDRANO GONZÁLEZ

MÉXICO D. F.

2004.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

A mis padres Gloria y Sotero, con mi admiración y respeto.

*A mis hermanos Isabel, Guadalupe, Martha, Gloria y Jesús
por apoyarme en todo momento.*

*A mis adorados sobrinos Mili, Juanqui, Sebas, MaryFer,
Migue, Mary Jo y Marianita deseando que día a día
crezca su interés por los mamíferos marinos.*

A Emilio, Enrique, Raúl y Mayra por compartir grandes momentos.

*A mis amigos Xenia, Celia, Mayté, Angélica Gloria, Isabel, Fina, Jaime,
Rogelio, Alejandro, Sergio, Herman y Salvador por su amistad y apoyo.*

*A Holbox, Byrón, Baxal e Isis por permitirme
conocer un poco de su comportamiento.*

AGRADECIMIENTOS

A mis tutores, Dr. Francisco Galindo, Dra. Marta Romano y Dr. Luis Medrano, por haberme dedicado su valioso tiempo haciéndome sentir su apoyo en todo momento, como profesionales y como amigos.

Al Dr. José Luis Solórzano y la Biol. Nora Maldonado por todas las facilidades otorgadas durante la realización del presente estudio.

A la empresa Convimar por permitirme utilizar las instalaciones de los acuarios Atlantis y Aragón para la realización del presente estudio.

A los entrenadores Roman Soto, Omar Deloso, Juan Carlos Martínez, Gustavo Jiménez, Benjamín Dobshner y Oded Gallan por su valiosa colaboración durante la obtención de muestras de saliva de los delfines.

A todo el personal de los acuarios Atlantis y Aragón por su apoyo y amistad durante el tiempo de observación.

Al IFAW (International Fund for Animal Welfare) por el apoyo económico otorgado para el presente estudio.

A la Dra. Marta Romano Pardo y al Biólogo Ricardo A. Valdés por su asesoría y supervisión durante la determinación de cortisol, la cual se llevó a cabo en el laboratorio de la Dra. Romano en el departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias del CINVESTAV.

A Emilio y Sebastián Cruz, Mayra Zafra, y Ma. Fernanda Sandoval por su apoyo en la captura de datos.

Al Dr. Rogelio Macias por la asesoría estadística y por la amistad que siempre me ha brindado.

A la Dra. Dulce Brousset y al Dr. Carlos González por haber dedicado parte de su valioso tiempo a la revisión del manuscrito, por sus valiosos comentarios y sugerencias para mejorar el presente trabajo.

A Miguel Ángel González por su apoyo con el material de laboratorio.

A todos los compañeros y amigos del laboratorio de Fisiología del CINVESTAV, por su apoyo y amistad.

A María, Alba, Christian, Víctor, Pedro y Araceli por compartir sus conocimientos y momentos agradables durante la realización de este estudio.

Al personal de Posgrado de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.N.A.M. por el apoyo, tanto administrativo como académico que me brindaron durante mis estudios de maestría.

Al Dr. Javier Flores por todo su apoyo y comprensión.

RESUMEN

Los delfines en cautiverio presentan cambios físicos y sociales en su ambiente, lo cual puede repercutir en el desarrollo de problemas de comportamiento. Aunque existen algunos estudios relacionados con delfines en cautiverio, no ha sido posible identificar problemas específicos de comportamiento y su relación con la actividad adrenal que ayuden a determinar niveles de bienestar de esta especie. El presente estudio tuvo como objetivo medir patrones de comportamiento individual y cortisol salival a través de una técnica no-invasiva, de delfines de acuerdo a las actividades a las que son sometidos en cautiverio. Cuatro delfines de la especie *Tursiops truncatus* fueron observados durante octubre del 2002 a enero del 2003 en dos acuarios de la ciudad de México. En ambos acuarios, los delfines participan en programas de nado, delfinoterapia y exhibición de espectáculos. Estas actividades varían a lo largo de la semana de acuerdo a la demanda del público, de tal manera que los días de actividades realizadas por los delfines se pudieron clasificar en: 1) días sin actividad, 2) días de mediana actividad y 3) días de alta actividad. A través de muestreos focales se registró el tiempo que los delfines dedican a diferentes comportamientos. Simultáneamente se colectaron muestras de saliva de dos delfines que respondieron a un entrenamiento previo para determinar perfiles de cortisol (4 muestras por día para cada delfín).

Los resultados obtenidos indican que a medida que aumenta el número de actividades en el día se producen cambios en el comportamiento. Estos cambios varían para cada delfín. Holbox y Byrón dedican menos tiempo en el comportamiento de nado los días de alta actividad en comparación de los días sin actividad, en donde el porcentaje de tiempo dedicado a este comportamiento aumenta significativamente ($p < 0.05$). En los días de alta actividad, al término de cada actividad se observa que ambos delfines incrementan el porcentaje de tiempo dedicado al reposo. Baxal e Isis, por el contrario no se ven afectados en sus patrones de comportamiento al aumentar el número de actividades en el día.

Al analizar el efecto de las actividades en los patrones de comportamiento se encontró que en Holbox el porcentaje de tiempo dedicado al comportamiento de inmersión es menor en ausencia de la delfinoterapia, mientras que en los días en los que se lleva a cabo esta actividad el porcentaje de tiempo aumenta significativamente. Se compararon los niveles de cortisol entre los diferentes días de actividad y se encontró que en los días de alta actividad los niveles de cortisol aumentan significativamente a medida que incrementa la actividad, mientras que en los días sin actividad los niveles de cortisol se mantienen relativamente estables. En relación al efecto que producen las actividades sobre los niveles de cortisol se encontró que al finalizar la delfinoterapia se incrementan las concentraciones de cortisol, mientras que en los días de ausencia de esta actividad las concentraciones se mantienen relativamente estables, lo que sugiere que esta actividad es más demandante para los delfines que el nado con personas o el espectáculo tradicional de saltos, posiblemente porque se ven obligados a permanecer en una posición tocando a una persona por varios minutos en repetidas ocasiones. En lo que se refiere a los espectáculos se observó que a mayor número de espectáculos, se detectaron también mayores niveles de concentración de cortisol, lo cual podría ser el resultado de la actividad física y no de una respuesta de estrés. Es necesario profundizar en estudios que permitan conocer la forma en que los delfines enfrentan los cambios del entorno. La información generada en este estudio podrá ser utilizada para mejorar el manejo y cuidado de los delfines en cautiverio. Se sugiere realizar investigaciones con muestras más grandes para entender las relaciones entre conducta y actividad adrenal.

Palabras clave: delfín, comportamiento, cortisol salival, estrés, técnica no-invasiva.

ABSTRACT

Dolphins in captivity have to cope with changes in their physical and social environment, which can result in behavioral problems. Although there are some studies of behavior of dolphins in captivity, it has not been possible to identify specific welfare problems of this species in captivity. The study had the aim of measuring like behavioral patterns and salivary cortisol of dolphins according to the activities that they carry out in captivity. Four dolphins of the specie *Tursiops truncatus* were observed during October 2002 to January 2003 in two aquaria of Mexico city. In both aquaria, the dolphins have been trained to participate in swimming programmers, assisted therapy sessions, and shows, which vary throughout the week according to the public's demand, in such a way that it was possible to classify days into: 1) days without activity, and days of 2) medium and 3) high activity. Focal sampling was used to record the proportion of time dolphins spent in different behaviors. Simultaneously, saliva samples were collected from two dolphins that responded to previous training to determine cortisol profiles, through a non-invasive technique, (4 samples per day for each dolphin).

The results indicate that there are changes in behavior as the number of activities increase during the day. These changes vary between dolphins. Holbox and Byrón dedicate less time swimming those days of high activity in comparison to days without activity, where the percentage of time dedicated to this behavior increases significantly ($p < 0.05$). On days of high activity, it was observed that dolphins increase the percentage of time dedicated to rest. Baxal and Isis, on the contrary, are not affected in their patterns of behavior when the numbers of activities increase during the day.

Holbox showed less immersion behavior on days without dolphintherapy, whereas in the days in which this activity is carried out the percentage of time on this behavior increases significantly. When cortisol levels were compared between days of activity it was found that in days of high activity cortisol levels increase significantly with respect to days of less activity or no activity performed. In relation to the effect of

the activities performed during the day on cortisol levels at the end of the day it was found that after dolphintherapy cortisol concentrations increase, whereas in those, days of absence of this activity cortisol levels are kept stable. This suggests that the therapy is perhaps perceived as a negative stimulus, since they are forced to remain in a position touching to a person several minutes in repeated occasions. In relation to the effect of shows carried out it was observed that as more shows are performed higher cortisol levels were measured, perhaps as an increase of the physical activity. It is necessary to carry out more studies in order to know more about coping strategies of dolphins in captivity. The information generated from this study is useful to improve handling procedures and care standards of the dolphins in captivity. It is suggested to make such measurements with bigger samples to understand better those relationships between behavior and adrenal activity.

Key words: dolphins, behavior, cortisol, stress, non-invasive technique.

ÍNDICE

| | | |
|-------|---|----|
| I. | INTRODUCCIÓN | 1 |
| II. | ANTECEDENTES | 2 |
| 2.1. | <i>Tursiops truncatus</i> : especie de delfín adaptada al cautiverio. | 2 |
| 2.2. | Estudios relacionados con mamíferos marinos en cautiverio, particularmente delfines. | 2 |
| 2.3. | Biología de los delfines en vida libre. | 5 |
| 2.4. | Interacción Humano-Animal. | 6 |
| 2.5. | Bienestar animal. | 6 |
| 2.6. | Conductas anormales. | 7 |
| 2.7. | Fisiología del estrés. | 8 |
| 2.8. | Estimulación del eje Hipotálamo-Hipófisis-Adrenal (HHA) Principal regulador del Sistema Endocrino. | 9 |
| 2.9. | Síntesis de Glucocorticoides (cortisol). | 9 |
| 2.10. | Medición de glucocorticoides. | 10 |
| III. | JUSTIFICACIÓN | 12 |
| IV. | HIPÓTESIS | 13 |
| V. | OBJETIVOS | 13 |
| VI. | METODOLOGÍA | 14 |
| 6.1. | Localización de los sitios de estudio. | 14 |
| 6.2. | Medición de los patrones de comportamiento. | 16 |
| 6.3. | Medición del cortisol salival. | 18 |
| 6.4. | Análisis de laboratorio. | 19 |
| 6.5. | Análisis estadístico. | 20 |
| VI. | RESULTADOS | 22 |
| 7.1. | Efecto de la intensidad de actividad en los patrones de comportamiento de Holbox. | 22 |
| 7.2. | Efecto de las actividades en los patrones de comportamiento. | 23 |

| | | |
|-------|---|----|
| 7.3. | Efecto de la intensidad de actividad en los patrones de comportamiento de Byrón. | 24 |
| 7.4. | Efecto de las actividades en los patrones de comportamiento. | 25 |
| 7.5. | Efecto de la intensidad de actividad en los patrones de comportamiento de Baxal e Isis. | 26 |
| 7.6. | Efecto de las actividades en los patrones de comportamiento de Baxal. | 26 |
| 7.7. | Efecto de las actividades en los patrones de comportamiento de Isis. | 26 |
| 7.8. | Análisis estadístico de los eventos registrados durante el período de observación para los cuatro delfines. | 27 |
| 7.9. | Actividad Adrenocortical en Holbox y Byrón ambos pertenecientes al acuario Aragón. | 28 |
| VIII. | DISCUSIÓN | 34 |
| 8.1. | Comportamiento. | 34 |
| 8.2. | Efecto de la interacción delfín – humano. | 35 |
| 8.3. | Efecto de las actividades que realizan los delfines sobre el comportamiento. | 36 |
| 8.4. | Respuesta de la actividad adrenocortical. | 38 |
| 8.5. | Comentarios finales. | 40 |
| IX. | REFERENCIAS | 42 |
| X. | APÉNDICES | 50 |
| | APÉNDICE I | 50 |
| | APÉNDICE II | |

I. INTRODUCCIÓN.

Los delfines en cautiverio enfrentan cambios físicos y sociales en su ambiente, lo cual puede repercutir en su comportamiento y en su salud. En los últimos años ha incrementado considerablemente el número de empresas dedicadas a la exhibición de especies marinas, en particular de delfines y pinípedos (Samuels y Spradlin, 1995). Estas empresas además han implementado actividades como la delfinoterapia y los programas de nado con delfines (Kyngdon, *et al.*, 2003), a través de los cuales se promueve la interacción entre humanos y cetáceos. Sin embargo y a pesar de la publicidad que se le ha dado a estas actividades, es poca la información que se ha generado sobre el bienestar de los delfines, la mayoría de estos estudios se enfoca a los beneficios que el humano obtiene al interactuar con estos mamíferos (Marino y Lilienfeld, 1998).

La creciente preocupación por recuperar, proteger y conservar la diversidad biológica ha hecho que en México, a través de la Norma Oficial Mexicana de Emergencia NOM-EM-135-SEMARNAT1-2001 se hayan establecido criterios legales que enmarcan la actividad de captura, transporte, exhibición, manejo y manutención en cautiverio, con el fin de evitar el maltrato y fomentar la conservación y protección de los delfines, sin embargo, estos criterios no están respaldados por investigaciones científicas, por ello, es necesario generar información que nos permita conocer la forma en que los delfines enfrentan los cambios del entorno, así como identificar problemas específicos de comportamiento y su relación con la actividad adrenal. Con el presente estudio se pretende aportar información acerca del efecto que producen las actividades que realizan los delfines sobre los patrones de comportamiento. Además, los resultados obtenidos en la determinación de cortisol a través de una técnica no-invasiva podrán ser utilizados para evaluar los niveles de estrés de estos animales bajo estas condiciones. Asimismo, esta información podrá ser utilizada para mejorar el manejo y cuidado de los delfines en cautiverio.

II. ANTECEDENTES

2.1. *Tursiops truncatus*: especie de delfín adaptada al cautiverio.

La transición de vida libre a un estado de cautiverio es frecuentemente acompañada por cambios en el ambiente físico y social (e.g. disponibilidad y acceso a espacio, carencia de sustratos naturales, alimento, agua, alteraciones de la estructura social, etc.) (Price, 1999). Estos cambios envuelven un proceso de adaptación en donde se pueden sobrepasar los sistemas adaptativos de los animales y reflejar problemas de conducta de tipo individual y social, los cuales se relacionan con estrés e inmunodepresión (Galindo, 1995).

La habilidad que tienen las diferentes especies para adaptarse o enfrentar condiciones de cautiverio con el repertorio conductual normal, depende de factores genéticos, experiencia y el grado de semejanza del albergue a su hábitat natural (Carlstead, 1996; Mendl, 1999; Duncan y Petherick, 1991). En el caso de los delfines en cautiverio, su comportamiento se ve afectado por las restricciones de su ambiente físico y social. Por ejemplo, en cautiverio los delfines están inhabilitados para realizar algunos comportamientos naturales, tales como el buceo y la captura de su alimento. Esto hace pensar que algunos comportamientos no son expresados, así como también, pueden desarrollarse algunos comportamientos inusuales en esta especie (Kyngdon, *et al.*, 2003).

2.2. Estudios relacionados con mamíferos marinos en cautiverio, particularmente delfines.

En los sistemas marinos, los mamíferos, especialmente cetáceos han sido una de las áreas de mayor crecimiento en investigación y conservación. Diversos estudios se han enfocado a la distribución, migración, y descripción de los delfines (Heimlich-Boran, 1994; Reeves y Leatherwood, 1987; Thompson and Wilson, 1994; Fernández, 1991). Sin embargo, son pocos los estudios relacionados con su bienestar en cautiverio. En los últimos años el interés por estos cetáceos ha

aumentado considerablemente, países como Estados Unidos, Argentina, Nueva Zelanda e inclusive México ofrecen a la gente la oportunidad de tener interacción con delfines en lugares cerrados. Estos encuentros se dan a través de los programas de nado con delfines o de las delfinoterapias. Por su parte los acuarios exhiben a los delfines mediante espectáculos que forman parte de un programa educativo para conocer más acerca de su biología. (Kyngdon, *et al.*, 2003; Sekiguchi y Kohshima, 2003).

El nado con delfines es una actividad popular que ha ido incrementando considerablemente, investigaciones realizadas en Estados Unidos han señalado que las reglas establecidas en esta actividad no son suficientes para reducir estrés en los delfines y además podrían aumentar el riesgo en el comportamiento que éstos puedan exhibir hacia los nadadores (Kyngdon, *et al.*, 2003). Por otro lado, la terapia asistida por delfines ha sido empleada por más de 20 años para ayudar a personas con problemas físicos y mentales. Debido a la alta publicidad que se le ha dado a esta actividad, mucha gente paga mucho más por terapias con delfines que en terapias con otros animales, además mucho se ha hablado de que el éxito de esta actividad recae en que los humanos son atraídos por el carisma de estos cetáceos. Quizás esta explicación no sea suficiente ya que un alto porcentaje de pacientes que reciben este tipo de terapias son niños y es casi imposible que estos pacientes pudieran haber desarrollado su afición por estos mamíferos (Brensing, *et al.*, 2003). Generalmente hay muchas razones por las que se dan las terapias asistidas por animales, muchas de las cuales están basadas en los efectos de socialización, lo cual resulta válido para los delfines (Brensing, *et al.*, 2003). Pese a la popularidad que tienen estas actividades con delfines el número de publicaciones relacionadas con su bienestar en cautiverio es mínimo, ya que los resultados se han enfocado a los humanos y no a los delfines.

Los mamíferos marinos son capturados rutinariamente para monitorear su salud, sin embargo, la técnica de captura podría provocar excesivo movimiento de los animales y potencialmente inducir una respuesta a estrés (Ortiz y Worthy, 2000).

Los estudios sobre comportamiento de mamíferos marinos en cautiverio son escasos, sin embargo, se tienen antecedentes relacionados con el estrés de

animales en vida libre. Los primeros estudios del sistema endocrino en los cetáceos consistieron en la descripción de las glándulas endocrinas (Kirby, 1990). Medway y Geraci (1964), encontraron que delfines expuestos a tensión exhiben eosinopenia y neutrofilia leve, atribuyéndolo a una respuesta adrenocortical. Por su parte Thomsom y Geraci (1986) reportaron que la actividad asociada con la captura y retención de delfines *Tursiops truncatus* estimula una respuesta de estrés como reflejo de la circulación de cortisol, aldosterona y eosinófilos, asimismo encontraron que al sacar a los delfines del agua, el número de eosinófilos disminuía durante las primeras 7 hrs. En algunas especies de pinípedos en vida libre se han reportado niveles de cortisol (e.g. foca gris (*Halichoerus grypus*), foca manchada (*Pagophilus groenlandicus*) y foca weddell (*Leptonychotes weddelli*)). En cautiverio los niveles de cortisol han sido reportados en la foca manchada (*P. groenlandicus*), en el delfín nariz de botella (*T. truncatus*) y en la beluga (*Delphinapterus leucas*) (Kirby, 1990). En el delfín nariz de botella se ha reportado que los valores de cortisol están comprendidos entre los 11 y 47 ng/ml. Estos valores se obtuvieron de muestras de sangre de delfines recién capturados y de delfines con bastante tiempo en cautiverio (Kirby, 1990). Por su parte, Hernández (1998) reporta valores de cortisol salival a diferentes horas del día en 2 delfines mantenidos en cautiverio por más de 8 años, estos valores van desde un promedio de $2.5 \pm .48$ ng/ml en muestras tomadas a las 9:30 hrs. hasta un valor de $1.0 \pm .82$ ng/ml en muestras tomadas a las 17:30 hrs. Asimismo reporta valores de cortisol en suero de delfines expuestos a un proceso de transporte de 3 y 18 hrs. En un transporte de 3 hrs reporta 30 ng/ml al inicio y 60 ng/ml al finalizar este proceso, mientras que en un transporte de 18 hrs. los valores obtenidos son 40 y 35 ng/ml respectivamente.

Suzuki y colaboradores (2003) reportan que en tursiones del Indo-Pacífico los niveles de cortisol en suero exhiben fluctuaciones diurnas. Generalmente se observan altos niveles a las primeras horas del día y van disminuyendo conforme transcurre el día. En intervalos de muestreo de 3 hrs. obtuvieron valores de 7.8 ng/ml a las 03:00 hrs y 2.7 ng/ml a las 18:00 hrs.

Finalmente Pedernera y colaboradores (2001) a través de una técnica no-invasiva determinaron niveles de cortisol salival de delfines alojados en dos acuarios

de la ciudad de México, los resultados que obtuvieron varían dependiendo del sexo y de las condiciones del acuario; las hembras mostraron un rango entre 14 a 1375 pg / g. de saliva y 18 a 2257 pg / g, mientras que los machos mostraron rangos entre 61 a 1760 pg y 43 a 216 pg/ g.

2.3. Biología de los delfines en vida libre.

En vida libre es común observar a los delfines saltando, persiguiendo a otros individuos, exhibiendo comportamientos de cortejo, forrageo, reposo y nado entre otros (Constantine, *et al.*, 2002). Recorren grandes distancias nadando a velocidades de entre 5 y 11 km / h (Donoghue y Wheeler, 1990). Viven en grupos que van de 2 a 15 individuos, generalmente con diferentes estructuras sociales (Donoghue y Wheeler, 1990):

- Macho adulto y varias hembras
- Hembras adultas con sus crías acompañadas de hembras jóvenes
- Machos jóvenes y adultos

Existe una marcada jerarquía social dentro de cada grupo, la cual se establece generalmente entre los individuos del grupo a través de conductas agonistas como golpeteo de la aleta caudal contra el agua, cabezazos, diferentes posturas del cuerpo y mordidas (Corkeron, *et al.*, 1990). El comportamiento sexual envuelve aspectos de juego y cortejo con otros delfines

Los delfines son predadores activos y se alimentan de una gran variedad de peces y crustáceos. Los adultos comen aproximadamente de 4 a 6% de su peso corporal (Shane, 1990). Frecuentemente se observa la colaboración de los individuos de cada grupo para cazar su alimento. En aguas abiertas el grupo nada alrededor del banco de peces para facilitar la captura del alimento (Constantine, *et al.*, 2002). También se ha observado una asociación de los delfines con las operaciones pesqueras (Santurtun, 2002).

Estas características de la biología de la especie hacen que los patrones de conducta social e individual sean muy complejas.

2.4. Interacción Humano-Animal.

Los humanos interactúan con animales en muchos momentos de su vida y en situaciones frecuentes y estrechas, la calidad de estas interacciones podría tener consecuencias tanto para el humano como para el animal. (Hemsworth y Barnett, 2000). Consecuencias negativas podrían originar miedo de los animales hacia el humano, influyendo en su productividad, crecimiento y reproducción. En animales de producción, sobretodo en aves y cerdos, se ha relacionado la interacción humano-animal con estados de estrés y afectación de la productividad. Aunque este tipo de especies son consideradas domésticas, se ha observado una correlación negativa entre el miedo expresado hacia los humanos y la producción de los animales (Hemsworth y Barnett, 2000). Las interacciones de humanos y delfines se dan principalmente durante el proceso de entrenamiento y la ejecución de actividades. En este tiempo los delfines aprenden a comprender señales auditivas y visuales que les permiten ejecutar diversos ejercicios, los cuales serán recompensados con alimento (Tschudin, *et al.*, 2001).

2.5. Bienestar animal.

Broom en 1986 define bienestar como ***“el estado de un individuo en relación a sus intentos por enfrentarse al medio”***.

El bienestar animal se puede medir cuantitativamente a través de un gran número de indicadores (Broom, 1991), dentro de los cuales destacan la actividad adrenal, el grado de inmunodepresión, la incidencia de enfermedades y las anormalidades que se presentan en el comportamiento.

Por su parte Galindo (1995) argumenta que muchos de los problemas del bienestar de las especies en cautiverio son el resultado de la negligencia por parte de las personas responsables, así como, de los sistemas de alojamiento, los cuales provocan cambios en el comportamiento que se relacionan con un grado pobre de bienestar. En el caso de los delfines por ejemplo por más que se intente diseñar un

tanque lo suficientemente grande nunca podremos reproducir la complejidad del ambiente que ocupan en condiciones naturales. En animales de zoológico y de laboratorio los principales problemas de bienestar relacionados con los encierros, son también la presentación de estereotipias (Sisto y Troeglen, 1995). Estas alteraciones de comportamiento están relacionadas a las respuestas fisiológicas de estrés (Galindo, 1995) y a la liberación de β endorfinas (Zanella, *et al*, 1991).

El bienestar de un animal no solamente significa el mantener su salud física y el que el animal se reproduzca adecuadamente, sino es el proporcionarle los sustratos naturales necesarios para que pueda expresar sus patrones de comportamiento normal (Sisto y Troeglen, 1995).

2.6. Conductas anormales.

El comportamiento de un animal es modificado constantemente en respuesta a la estimulación del entorno. Algunas de estas respuestas son reflejos sencillos y predecibles. Sin embargo otros tipos de comportamiento dependen fuertemente de la información almacenada a partir de experiencias pasadas y son, por lo tanto, menos predecibles (Randall, *et al.*, 1998). Los cambios del ambiente pueden estar asociados a patrones de comportamiento estereotipado y otras conductas anormales. Mason (1991) define estereotipia como un patrón de comportamiento que es repetitivo, constante y sin un objetivo obvio. Muchos de los problemas o anormalidades de conducta se relacionan con estados de estrés crónico o niveles reducidos de bienestar. Algunos de los indicadores de bienestar a largo plazo incluyen conducta, respuestas fisiológicas de estrés, liberación de opioides, determinación de hormonas reproductivas, inmunodepresión y salud entre otras (Broom y Johnson, 1993). A pesar del gran número de estudios sobre bienestar en mamíferos terrestres, a la fecha no existen suficientes estudios sobre la relación entre conducta y actividad adrenal de delfines en cautiverio. Gyax (1993) propone ampliar los estudios en cautiverio ya que se desconocen el tipo de anomalías de

conducta además de los problemas de definición en los patrones de comportamiento estereotipado en mamíferos marinos.

2.7. Fisiología del estrés.

La respuesta endocrina al estrés ha sido sujeta de muchos estudios desde que fue descrita por Selye (1946). Desde una perspectiva fisiológica estresores físicos estimulan el eje hipotalámico-hipófisis-adrenal (HHA) dando como resultado un incremento en la secreción de esteroides adrenales tales como: cortisol, corticosterona y aldosterona (Jansen, et al., 1999).

Se ha definido estrés como la respuesta no específica del organismo a cualquier demanda que se hace sobre él (Dierauf, 1990). Cuando hay una perturbación de la homeostasis debido a la percepción de un estímulo adverso se activa una respuesta de estrés. Ésta, es un conjunto de respuestas fisiológicas que desencadenan la liberación de hormonas y de respuestas conductuales que ayudan a restablecer la homeostasis (Nelson, 2000).

En una situación de estrés el organismo sufre un proceso de adaptación (Síndrome de Adaptación General). Primero se activa una fase de alarma, caracterizada por una respuesta fisiológica rápida en la cual se estimula el eje Hipotálamo-Hipófisis-Adrenal (HHA). Si esta situación continúa se pasa a un estado de compensación o habituación, donde después de una exposición más o menos prolongada al agente estresante el organismo se adapta y compensa las condiciones alteradas que causan el estrés. Finalmente, si el estrés es de gran intensidad y duración, la compensación no es posible y el organismo entra a una fase de agotamiento del eje HHA (Dierauf, 1990), donde aparecen estados patológicos debido a la activación prolongada de la respuesta de estrés (Salpolsky, 1992; Salpolsky, *et al.*, 2000).

En estados de estrés crónico, donde existe un aumento sostenido de cortisol en sangre, hay una disminución de la habilidad inclusiva individual por inmunodepresión y atrofia de los tejidos (Munck, *et al.*, 1984; Toates, 2000). Se habla de estrés crónico como un estado constante e invariable, pero se pueden considerar estados

de estrés a largo plazo bajo sucesivas situaciones repetidas de estrés agudo (Ladewing, 2000).

2.8. Estimulación del eje Hipotálamo-Hipófisis-Adrenal (HHA) principal regulador del sistema endocrino.

La estimulación del eje Hipotálamo-Hipófisis-Adrenal (HHA) se inicia en el cerebro en donde una situación de estrés se detecta en el Sistema Nervioso Central (SNC) el cual envía una señal al hipotálamo, éste responde a través de la secreción de la hormona liberadora de Corticotropina (HCL), posteriormente esta hormona se une a un receptor membranal y promueve la liberación de la hormona adrenocorticotrófica (ACTH). La ACTH aumenta la velocidad de secreción y la síntesis de esteroides que se producen por la corteza adrenal (Tresguerres, *et al.*, 1999). Dentro de la glándulas endocrinas relacionadas con el estrés se encuentran las adrenales, las cuales poseen una parte central llamada médula y una porción externa denominada corteza, ambas porciones secretan hormonas que regulan el metabolismo y apoyan al organismo en el manejo del estrés. Las hormonas de la corteza adrenal son esteroides sintetizados a partir del colesterol, dentro de éstos encontramos andrógenos, mineralocorticoides y glucocorticoides. Alrededor del 95 % de los glucocorticoides esta representado por el cortisol conocido también como hidrocortisona (4- pregnen-11 β , 17 α , 21-triol- 3,20- diona), el cual ayuda a asegurar el suministro adecuado de combustible para las células cuando el organismo esta en estrés (Guyton y Hali, 1996).

2.9. Síntesis de Glucocorticoides (cortisol).

El primer paso en la síntesis de todas las hormonas esteroides a partir del colesterol involucra la escisión de la cadena lateral del colesterol para formar pregnenolona, este evento ocurre dentro de la mitocondria. Las subsecuentes modificaciones de la molécula esteroide pueden suceder dentro de la mitocondria o

pueden involucrar el movimiento hacia otro compartimiento de la célula. En el retículo endoplasmico liso la pregnenolona por acción de la 3β -hidroxiesteroide-deshidrogenasa Δ^5 - Δ^4 isomerasa se transforma en progesterona. La progesterona se hidrolisa en la posición 11 formando corticosterona.

La hidroxilación de la progesterona en el retículo endoplásmico liso da lugar a la formación de cortisol. La tiroides y las hormonas suprarrenales son mediadores importantes del metabolismo, manteniendo homeostasis en respuesta a demandas ambientales (St. Aubin, 1996). La liberación de cortisol es regulada por la liberación de la hormona corticotropina (CRH) desde el hipotálamo y por la hormona adrenocorticotrofica (ACTH) de la glándula pituitaria en un mecanismo de retroalimentación negativa. Esta liberación también puede ser influenciada por situaciones de estrés o ejercicio físico. Los niveles que circulan de estas hormonas son índices de diagnóstico útiles en medicina humana y veterinaria, pero la interpretación apropiada de análisis hormonales se debe basar en una comprensión de cómo los componentes son influenciados por los factores tales como edad, sexo, y la estación (Jansen *et al.*, 1999).

2.10. Medición de glucocorticoides.

Los estados de estrés crónico incluyen la medición de niveles hormonales de ACTH y glucocorticoides (Garnier *et al.*, 1990; Palme *et al.*, 2000). La medición de estas hormonas en un gran número de vertebrados tales como el venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) han resultado difíciles, debido a los procedimientos invasivos utilizados (e.g captura del animal y colección de sangre) (Millsbaugh, *et al.*, 2002; Astheimer *et al.*, 1994; Wingfield *et al.*, 1994; Schatz y Palme, 2001). El estrés en la mayoría de los mamíferos tanto terrestres como marinos se ha medido a través de plasma sanguíneo. Sin embargo, los métodos utilizados para la obtención de muestras podrían alterar los resultados debido a la tensión a la cual se enfrenta el individuo. (Hopster *et al.*, 1999; Möstl y Palme, 2002). Las técnicas no-invasivas (e.g. saliva o materia fecal) ofrecen una mejor oportunidad para la medición de glucocorticoides, ya que no se produce tensión al obtener la muestra. En diversos

estudios se ha demostrado que el cortisol salival representa una medida simple, no invasora, que facilita el estudio de la actividad del eje HHA. El uso de esta técnica representa ventajas tales como: la fácil obtención de muestras, el método de colecta no induce estrés en el animal, los valores de cortisol reflejan la fracción biológica activa y la facilidad de colecta facilita las investigaciones que requieren de muestreo frecuente (Bolufer, *et al.*, 1989; Walker, 1984; Tiefenbacher, *et al.*, 2003). El cortisol salival ha proporcionado resultados satisfactorios en la determinación de glucocorticoides. Debido a las ventajas de utilización que presentan las técnicas no invasivas de mediciones hormonales es muy importante poder estandarizarlas para que puedan ser utilizadas de forma rutinaria, ya que son de gran ayuda para determinar características biológicas de especies silvestres (Pifarré, 2004; Tiefenbacher, *et al.*, 2003). También se debe tener en cuenta que las concentraciones de cortisol pueden estar influenciadas por muchos factores, por ello es necesario combinarlas con otros indicadores de bienestar (Clark *et al.*, 1997b).

Los mejores indicadores de problemas de bienestar han sido en muchos casos las mediciones conductuales (Broom y Johson, 1993). En situaciones de restricción de movimientos, delante de cierto grado de frustración, ante la incapacidad de escaparse de estímulos adversos, en una falta de estimulación o en una sobre estimulación, los animales se ven incapacitados de responder de una manera adecuada. En estos casos es frecuente la aparición de conductas anormales relacionadas con estados de estrés crónico y asociadas en muchos casos a situaciones de frustración y impredecibilidad (Mason, 1991). Los comportamientos estereotipados, las conductas redirigidas y la pasividad, son uno de los indicadores más importantes de problemas de bienestar a largo plazo (Broom y Johson, 1993). La aparición de conductas normales con frecuencias o intensidades aumentadas o disminuidas, así como alteraciones en los ciclos de actividad, también pueden ser indicadores de un nivel de bienestar pobre (Crocket, 1998).

III. JUSTIFICACIÓN

En los últimos años, los programas de nado y las terapias asistidas por delfines han incrementado notablemente, como resultado de las especulaciones que se tienen acerca de los beneficios que brinda la interacción con estos mamíferos. Con el fin de identificar estos beneficios se han realizado algunos estudios, sin embargo estos se han enfocado a los humanos. Aunque existen algunos trabajos relacionados con el comportamiento de delfines en cautiverio, no ha sido posible identificar problemas específicos de conducta que ayuden a determinar los niveles de bienestar de esta especie, Asimismo, no se tiene información relacionada con la actividad adrenal de estos animales bajo estas circunstancias.

Conocer el efecto que puedan tener las diferentes actividades que realizan los delfines en su comportamiento es una consideración importante que se debe de tomar en cuenta para mejorar el cuidado y manejo de estos animales. Asimismo, es importante aportar información que nos permita conocer la forma en que los delfines perciben el ambiente y como lo enfrentan, esto nos ayudará a establecer criterios y normas que protejan a los delfines durante la ejecución de las actividades y evitar poner en riesgo tanto a los delfines como a los humanos.

Con el presente estudio se intenta identificar como distribuyen el tiempo los delfines en los diferentes patrones de comportamiento que exhiben en cautiverio, así como también determinar la fluctuación de concentración de cortisol a lo largo del día. Ambos indicadores servirán como antecedentes para estudios posteriores.

IV. HIPÓTESIS

Los patrones de comportamiento de delfines en cautiverio (*Tursiops truncatus*) se ven afectados a medida que incrementa el número de actividades que realizan durante el día. Asimismo, los niveles de cortisol salival aumentan en respuesta de un estímulo negativo o a medida que incrementa la actividad.

V. OBJETIVOS

General:

- Evaluar pautas de comportamiento y niveles de actividad adrenal como indicadores de bienestar a delfines en cautiverio, de acuerdo a las actividades que realizan durante el día.

Particulares:

- Evaluar la proporción del tiempo que emplean los delfines en diferentes estados conductuales, así como la frecuencia de eventos tanto de manera individual como social.
- Determinar niveles de cortisol salival en delfines cautivos de acuerdo a las actividades que realizan durante el día.

VI. METODOLOGÍA

6.1. Localización de los sitios de estudio.

La presente investigación se realizó en 2 acuarios de la Ciudad de México, los cuales pertenecen a la empresa Convimar. El acuario de Atlantis se ubica en la 3^a sección del Bosque de Chapultepec, mientras que el de Aragón se localiza en el interior del Bosque del mismo nombre (Figuras 1 y 2).



Figura 1. Vista del estanque principal del acuario Atlantis, empresa Convimar, México D., F.

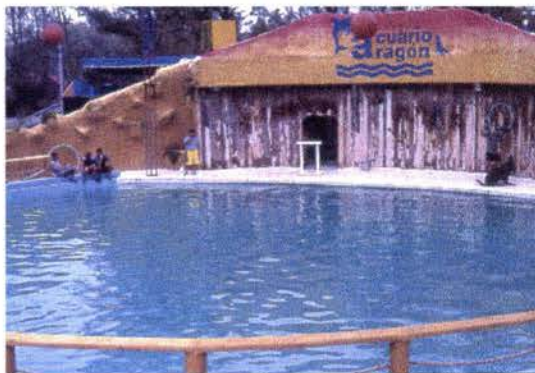


Figura 2. Vista del estanque principal del acuario Aragón, empresa Convimar, México D., F.

Los delfines utilizados en este estudio pertenecen a la especie *Tursiops truncatus* mejor conocidos como delfín nariz de botella (Cuadro1), desde su captura fueron sometidos a rutinas de entrenamiento para realizar diferentes actividades como: delfinoterapia, nado con delfines y espectáculos. Es importante señalar que en ambos acuarios se llevan a cabo las mismas actividades, sin embargo el número de éstas fue diferente debido a la demanda que hubo por parte del público. La ejecución de estas actividades estuvo regulada por los entrenadores de cada acuario (Cuadro 2).

Cuadro 1. Datos generales de los cuatro delfines de la especie *Tursiops truncatus* observados durante el período de octubre del 2002 a enero de 2003 en el estudio: “Medición del comportamiento y cortisol salival” realizado en dos acuarios de la ciudad de México, ambos pertenecientes a la empresa Convimar.

| Delfín | Sexo | Edad aproximada | Acuario | Tiempo en cautiverio |
|------------|------|-----------------|----------|----------------------|
| Holbox (*) | ♂ | 18 años | Aragón | 8 años |
| Byrón (*) | ♂ | 8 años | Aragón | 4 años |
| Baxal | ♂ | 18 años | Atlántis | 10 años |
| Isis | ♀ | 21 años | Atlántis | 10 años |

(*) Individuos de los cuales se obtuvo muestra de saliva

Las sesiones de terapia tuvieron una duración aproximada de 50 minutos, el nado o buceo de 20 y los espectáculos de 40 minutos. En ambos acuarios se alimenta a los delfines durante la ejecución de actividades, excepto los lunes que son los días de descanso para los delfines, en estos días son alimentados en dos horarios a las 10:00 y a las 16:00 hrs.

Cuadro 2. Actividades que se llevan a cabo en dos acuarios de la ciudad de México, ambos pertenecientes a la Empresa Convimar. Las actividades pueden variar dependiendo de la demanda por parte del público.

| Acuario | ACTIVIDADES | | |
|----------|------------------------------------|---|-------------------------------------|
| | Delfinoterapia | Espectáculos | Nado o buceo |
| Atlántis | 2 veces al día de martes a viernes | 1 espectáculo por día de martes a viernes y 2 ó 3 los fines de semana | 1 vez al día en sábados y domingos |
| Aragón | 1 vez por día de martes a jueves | 1 ó 2 espectáculos por día entre semana y 2 ó 3 los fines de semana | 1 vez por día en sábados y domingos |

**El número de actividades por día dependió de la demanda que hubo para esa actividad en cada uno de los acuarios.

6.2. Medición de los patrones de comportamiento.

Previo al período de observación se realizó un muestreo *ad-libitum* con la finalidad de conocer el repertorio de conductas. Esto permitió la elaboración de un catálogo, en el cual se definieron las pautas conductuales que exhiben los delfines en cautiverio (Apéndice I). Para la elaboración de dicho catálogo nos basamos en estudios previos realizados en el departamento de Etología y Fauna Silvestre de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia bajo la dirección del Dr. Francisco Galindo Maldonado (Cuadro 3).

Una vez estandarizado el catálogo de conductas se llevaron a cabo las observaciones alternando ambos acuarios. Un total de 400 horas de observación fueron distribuidas durante el período comprendido de octubre del 2002 a enero del 2003. De este total 152 hrs. se observaron en el acuario de Atlantis y el resto en el acuario de Aragón. El comportamiento de los delfines se observó desde un punto ubicado en la parte superior del acuario, desde el cual se tenía visibilidad a todo el estanque y desde donde se evitó que nuestra presencia influenciara su comportamiento. Las observaciones fueron realizadas con luz natural iniciando a las 9:00 y finalizando a las 17:00 hrs. (8 hrs. diarias).

Para conocer la proporción del tiempo que emplean los delfines en diferentes estados conductuales y la frecuencia de eventos tanto de manera individual como al socializar con otro individuo se realizaron muestreos focales de una hora de duración alternando los animales de tal manera que se tuvieron cuatro horas de observación por día para cada delfín (Cuadro 4).

Cuadro 3. Listado de pautas de comportamiento que fueron registradas durante las observaciones realizadas a cuatro delfines cautivos en dos acuarios de la ciudad de México.

| Comportamiento | Descripción |
|------------------------|--|
| ESTADOS: | |
| Nado | Desplazamiento hacia delante en donde la cabeza se traslada antes que el resto del cuerpo. (dirección a favor de las manecillas del reloj). |
| Reposo | Estado inmóvil en donde generalmente el delfín permanece en la superficie. |
| Inmersión | Ninguna parte del cuerpo esta fuera del agua, la posición puede ser horizontal, vertical ó diagonal. |
| Espía | El delfín se encuentra en posición vertical con la cabeza fuera del agua y eleva su cuerpo ayudándose con la aleta caudal, seguido por un movimiento de regreso al agua en la misma posición (puede ser un movimiento repetitivo). |
| Juego con objetos | El delfín interactúa con objetos tales como: boyas, cuerdas, pelotas, gusanos de hule espuma etc., (puede sumergirlos, morderlos, aventarlos). |
| Nado contra reloj | Desplazamiento en contra de las manecillas del reloj. |
| Rascar | Frotación de cualquier parte del cuerpo con las paredes o los bordes de la alberca. |
| Interacción agonística | Encuentros ofensivos o defensivos |
| EVENTOS: | |
| Salto | Movimiento ascendente hacia el aire, elevándose por encima de la superficie del agua, seguido por una reentrada que puede ser limpia o ruidosa. La ejecución puede ser sincrónica o asincrónica. |

Cuadro 4. Cronograma de observaciones para evaluar los patrones de comportamiento de cuatro delfines cautivos en dos acuarios de la ciudad de México.

| Hora | Lunes | Martes | Miércoles | Jueves | Viernes | Sábado | Domingo |
|---------------|----------------|------------------|----------------|------------------|---------|--------|---------|
| | Acuario Aragón | Acuario Atlántis | Acuario Aragón | Acuario Atlántis | | | |
| 09:00 – 10:00 | Holbox | Baxal | Byrón | Isis | | | |
| 10:00 – 11:00 | Byrón | Isis | Holbox | Baxal | | | |
| 11:00 – 12:00 | Holbox | Baxal | Byrón | Isis | | | |
| 12:00 – 13:00 | Byrón | Isis | Holbox | Baxal | | | |
| 13:00 – 14:00 | Holbox | Baxal | Byrón | Isis | | | |
| 14:00 - 15:00 | Byrón | Isis | Holbox | Baxal | | | |
| 15:00 – 16:00 | Holbox | Baxal | Byrón | Isis | | | |
| 16:00 – 17:00 | Byrón | Isis | Holbox | Baxal | | | |

** De igual manera se alternaron ambos acuarios

Como se había mencionado, el número de actividades por día varió constantemente en base de la demanda del público, por ello y para determinar si la intensidad de las actividades influye en los patrones de comportamiento y en los niveles de cortisol se clasificaron los días en tres grupos: **1) Días sin actividad**, **2) Días con mediana actividad** (de una a dos actividades por día, principalmente delfinoterapia y espectáculo) y **3) Días con alta actividad** (tres ó más actividades que podrían ser nado y espectáculos).

6.3. Medición del cortisol salival.

Para determinar los niveles de estrés en los delfines se empleó un método no invasivo, el cual consistió en la obtención de muestras de saliva; cuatro muestras por día de observación para cada delfín (Cuadro 5). Se entrenó a los delfines para que salieran a plataforma y escurrieran el exceso de agua contenido en la boca. Posteriormente se introdujo a la boca del delfín un hisopo de algodón 100 % natural de 15 cm de largo, el cual fue tratado previamente con éter para eliminar impurezas (Figura 3). Una vez obtenida la muestra se procedió a congelarla para su posterior análisis en el laboratorio.

Tabla 5. A los dos delfines del acuario Aragón se les tomaron muestras de saliva para analizar niveles de cortisol. Las muestras fueron obtenidas en cuatro horarios a lo largo del día.

| Horario de muestreo | Días sin actividad | Días de mediana actividad | Días de alta actividad |
|---------------------|--------------------------------|--|---|
| 09:30 a.m. | En ayuno | En ayuno | En ayuno |
| 11:30 a.m. | Sin actividad | Normalmente después de la terapia. | Normalmente después de la terapia o el nado. |
| 15:00 p.m. | Sin actividad | Normalmente después de la terapia + 1 espectáculo. | Normalmente después de la terapia o el nado + 2 espectáculos. |
| 17:00 p.m. | Al final del día sin actividad | Al final del día después de la terapia y el espectáculo. | Al final del día después de la terapia o nado + 3 espectáculos. |



Figura 3. Los dos delfines del acuario Aragón respondieron a un entrenamiento previo para la obtención de muestras de saliva, el cual consistió en hacerlos salir a plataforma para que escurrieran el exceso de agua contenido en la boca y posteriormente introducir un hisopo de algodón para obtener la muestra.

6.4. Análisis de laboratorio.

En el laboratorio se centrifugaron las muestras durante 15 min a 3000 rpm., la cantidad de saliva obtenida fue colocada en tubos eppendorf de 1.5 ml. Se etiquetaron y congelaron a -20°C hasta el momento de su análisis el cual se llevó a cabo en el laboratorio de Fisiología del departamento de Biofísica y Neurociencias del CINVESTAV bajo la supervisión de la Dra. Marta Romano y del Biólogo Ricardo Váldez.

La concentración de cortisol se determinó por medio de la técnica de radioinmunoanálisis (RIA), en la cual se utilizó Tritio. Se utilizó como anticuerpo el anticortisol de conejo (3/CMO) de Chemicon con máxima especificidad para cortisol. El trazador utilizado fue la hidrocortisona $[1,2,6,7\text{-}^3\text{H(N)}]$ 70-100 Ci/mmol, 1 mCi ml de etanol de NEN Life Science Products, Inc. La curva estándar se

realizó de 6 puntos: 100, 50, 25, 12.5, 6.25 y 3.125 pg/ml de hormona fría (hidrocortisona).

La determinación de cortisol por radioinmunoanálisis (RIA), se realizó según una modificación del método descrito por Pérez *et al.*, (1999).

A partir de una muestra repetida en todos los ensayos se obtuvo el coeficiente de variación Inter-ensayo $CV= 6.23$ ($N=5$) (Bedolla *et al.*, 1984; Zambrano y Díaz, 1996). El coeficiente de variación intra-ensayo fue calculado a partir de las cuatro repeticiones de la concentración 12.5 pg/ml de la curva estándar en dos puntos del RIA $CV= 2.6138$ (promedio).

6.5. Análisis estadístico.

El análisis estadístico se realizó con el software Statistica[®]. En todas las pruebas se tomó un intervalo de confianza del 95% ($p < 0.05$) (Siegel y Castellan 2003). Para conocer el porcentaje de tiempo que emplean los delfines en los diferentes estados conductuales se compararon los tres días de actividad mediante un análisis de varianza paramétrico ANOVA (de una vía). Esta comparación se realizó por hora de observación, es decir la primera hora de observación de los días sin actividad se comparó contra la primera hora de los días de mediana y alta actividad. A los resultados de este análisis que indicaron diferencias significativas se les aplicó una prueba de comparaciones pareadas (Prueba de Tukey) para determinar el origen de la diferencia. De igual manera se analizaron los datos de cortisol, sólo que la comparación se hizo de acuerdo al horario de muestreo (Cuadro 5).

A través de un análisis de varianza ANOVA (de una vía) se determinó si las actividades que realizan los delfines tienen un efecto sobre su comportamiento. El análisis involucra la presencia o ausencia de la actividad (e.g. delfinoterapia), en donde el porcentaje de tiempo que emplean los delfines para un comportamiento determinado en la hora posterior a la ejecución de la actividad fue comparado con el porcentaje de tiempo de la misma hora de observación de los días sin actividad.

Para conocer la proporción del tiempo que emplean los delfines nadando de manera individual o en pareja se empleó un análisis no paramétrico, (Prueba de Friedman). Cabe señalar que para analizar los patrones de comportamiento se eliminó el tiempo en el cual los delfines estuvieron dirigidos por un entrenador y sólo se tomó el tiempo en que los delfines actuaron de manera libre.

VII. RESULTADOS

Debido a que el número de delfines fue muy reducido ($n= 4$) no se pudieron realizar comparaciones entre ellos y menos aún entre acuarios, por tal motivo se presentan los resultados de manera individual.

Holbox distribuye 64% de su tiempo en el comportamiento de nado, mientras que en el comportamiento de reposo ocupa sólo el 31% y el 4% es dedicado al comportamiento de inmersión. Con respecto a esta distribución del tiempo que emplea en los diferentes patrones de comportamiento se analizó el efecto producido por las actividades que realiza durante el día.

7.1. Efecto de la intensidad de actividad en los patrones de comportamiento de Holbox.

Nado: Al comparar cada hora de observación entre los diferentes días de actividad (i.e. días sin actividad, días de mediana actividad y días de alta actividad) se encontraron diferencias significativas en la tercera y cuarta hora de observación. En ambas, la proporción del tiempo disminuye significativamente conforme aumenta la actividad (3^{ra} hora ANOVA, $n= 31$, g.l.= 2, $F=4.09$, $p<0.01$; 4^{ta} hora ANOVA, $n= 31$, g.l.= 2, $F=4.93$, $p<0.01$), como consecuencia de la disminución de nado en la cuarta hora de observación se registra un aumento en el comportamiento de **reposo** (4^{ta} hora ANOVA, $n= 31$, g.l.= 2, $F= 5.67$, $p< 0.001$) (Cuadro 6).

Cuadro 6. Durante el análisis de los patrones de comportamiento se compararon los diferentes días de actividad. En aquellos comportamientos en donde se encontraron diferencias significativas se aplicó la prueba de comparaciones pareadas (Prueba de Tukey) para determinar el origen de la diferencia estadística.

| Comportamiento | Hora comparada | Proporción de tiempo empleado en diferentes patrones de comportamiento | | |
|----------------------------------|----------------|--|--------------------|-------------------------|
| | | Días sin actividad | Días con actividad | Días con alta actividad |
| Nado | Tercera | 81.8 % | 71.0 % | 60.4 % |
| Nado | Cuarta | 85.8 % | 70.9 % | 62.0 % |
| Reposo | Cuarta | 5.1 % | 11.5 % | 25.2 % |
| Espía | Cuarta | 3.4 % | 13.5 % | 7.0 % |
| Nado contra manecillas del reloj | Segunda | 0.6 % | 0.08 % | 0.5 % |

** En rojo se presentan los resultados que indican el origen de la diferencia.

En el comportamiento de **espía** se registraron diferencias significativas en la cuarta hora de observación (ANOVA, $n=31$, $g.l.=2$, $F=4.26$, $p<0.01$).

De igual manera al comparar los diferentes días de actividad se encontraron diferencias significativas en el comportamiento de **nado en contra de las manecillas del reloj**. Esta diferencia se registró en la segunda hora de observación (ANOVA, $n=31$, $g.l.=2$, $F=23301.36$, $p<0.001$).

No se encontraron diferencias significativas ($p>0.05$) en los comportamientos de rascar, interacción agonista y juego con objetos.

7.2. Efecto de las actividades en los patrones de comportamiento.

El porcentaje de tiempo que emplea Holbox en el comportamiento de inmersión aumenta significativamente al finalizar la **terapia**, mientras que en los días en los que **no** se realiza esta actividad, el porcentaje de inmersión es menor (ANOVA, $n=31$, $g.l.=1$, $F=12.5$, $p<0.001$).

- Días con terapia = 10.42%
- Días sin terapia = 4.92%.

Al comparar los días en los que se llevan a cabo los **espectáculos** contra los días en los que no se realiza esta actividad se encontró que al finalizar el espectáculo hay una disminución en el comportamiento de nado y en consecuencia un aumento en el tiempo de reposo (Nado / ANOVA, $n=31$, $g.l.=1$, $F=4.5$, $p<0.01$; Reposo / ANOVA, $n=31$, $g.l.=1$, $F=9.7$, $p<0.001$).

- Días con espectáculo: Nado = 63.77%, Reposo = 22.36%
- Días sin espectáculo: Nado = 77.19%, Reposo = 6.28%

No se registro efecto de la actividad de **nado dirigido** en los patrones de comportamiento.

7.3. Efecto de la intensidad de actividad en los patrones de comportamiento de Byrón.

En promedio Byrón dedica el 67% de su tiempo en el comportamiento de nado, 16% en el de reposo, 6% en el de inmersión y 8% al comportamiento de espía.

La diferencia en la proporción del tiempo que emplea Byrón en el comportamiento de **nado** se da al comparar los días sin actividad contra los días de alta actividad en la segunda hora de observación (ANOVA $n=31$, $g.l.=2$, $F=5.74$, $p<0.001$). Asimismo se encontraron diferencias significativas en el comportamiento de **inmersión**, al comparar la tercera hora de observación de los diferentes días de actividad (ANOVA $n=31$, $g.l.=2$, $F=4.5$, $p<0.01$) (Ver Tabla 7).

El comportamiento de **espía** también se ve afectado por el incremento de las actividades que realiza este delfín. Esta diferencia se da en la cuarta hora de observación (ANOVA $n=31$, $g.l.=2$, $F=3.6$, $p<0.01$) (Cuadro 7).

Cuadro 7. En aquellos comportamientos que se encontraron diferencias significativas se aplicó la prueba de comparaciones pareadas (Prueba de Tukey) para determinar el origen de la diferencia estadística.

| Delfín: Byrón | | Proporción de tiempo empleado en diferentes patrones de comportamiento | | |
|----------------|----------------|--|----------------------------|-------------------------|
| Comportamiento | Hora comparada | Días sin actividad | Días con mediana actividad | Días con alta actividad |
| Nado | Segunda | 80.5 % | 69.3 % | 55.0 % |
| Inmersión | Tercera | 4.0 % | 4.9 % | 10.5 % |
| Espía | Cuarta | 7.3 % | 9.3 % | 19.8 % |

** En rojo se presentan los resultados que indican el origen de la diferencia, es decir entre que días se da la diferencia estadística.

7.4. Efecto de las actividades en los patrones de comportamiento.

Contrario a los resultados obtenidos para Holbox, en Byrón la actividad de **nado con delfines** tiene efecto sobre los comportamientos de nado y de reposo (ANOVA, $n=31$, $g.l.=1$, $F= 8.0$, $p< 0.001$, ANOVA $n=31$, $g.l.=2$, $F= 6.29$, $p< 0.01$, respectivamente).

- Días de nado con delfines: Nado = 32.0 %, Reposo = 30.0 %
- Días **sin** nado con delfines: Nado = 68.6 %, Reposo = 12.6 %

A medida que aumenta el número de **espectáculos**, también aumenta el porcentaje de tiempo que Byrón dedica a espíar, este aumento se registra en la cuarta hora de observación de los días en los que se lleva a cabo esta actividad (ANOVA, $n=31$, $g.l.=1$, $F=8.26$, $p<0.001$).

- Días con 2 o 3 espectáculos: Espía = 19.4 %
- Días **sin** espectáculos: Espía = 7.8 %

Por lo que se refiere a los comportamientos agonistas, juego con objetos, nado contra reloj y rascar no se encontraron diferencias significativas $p>0.05$.

7.5. Efecto de la intensidad de actividad en los patrones de comportamiento de Baxal e Isis.

El tiempo promedio que Baxal dedica al comportamiento de nado es de 64%, mientras que en el comportamiento de reposo dedica el 15%, el resto (21%) lo dedica a los comportamientos de inmersión, espiar y rascar. Isis, por su parte distribuye el 81% de su tiempo al comportamiento de nado, 13% al de reposo y sólo el 2% al comportamiento de inmersión.

Para los delfines de Atlántis, Baxal e Isis el incremento de la actividad no tiene efecto en los patrones de comportamiento. En ambos delfines se realizó la comparación de las cuatro horas de observación de los diferentes días de actividad y se obtuvo un valor de $p > 0.05$.

7.6. Efecto de las actividades en los patrones de comportamiento de Baxal.

Para este delfín se encontró un efecto significativo (ANOVA, $n= 19$, g.l.= 1, $F= 7.3$, $p < 0.01$) en los días en que se presentan 2 **espectáculos**, la proporción del tiempo en el comportamiento de reposo aumenta considerablemente al finalizar el segundo espectáculo. Además se observó que en los días que se da la **terapia** el delfín aumenta su comportamiento de inmersión (ANOVA, $n= 19$, g.l.= 1, $F= 6.2$, $p < 0.01$).

7.7. Efecto de las actividades en los patrones de comportamiento de Isis.

Al analizar el efecto que produce un segundo **espectáculo** se encontró un aumento significativo (ANOVA, $n=15$, gl.= 1, $F= 5.7$, $p < 0.01$) en la proporción del tiempo que emplea esta hembra en el comportamiento de reposo. Asimismo se observa el efecto que produce una segunda **terapia** en el comportamiento de espiar, el cual aumenta significativamente al finalizar la terapia (Anova $n=15$, gl.= 1, $F= 5.52$, $p < 0.04$).

7.8. Análisis estadístico de los eventos registrados durante el período de observación para los cuatro delfines.

En la frecuencia de saltos, no se observaron diferencias estadísticas al comparar los tres días de actividad, tampoco se encontró efecto de las actividades que realizan los delfines sobre estos eventos. Estos resultados fueron similares en los cuatro delfines $p > 0.05$.

Finalmente, la proporción de tiempo que emplean los delfines en el comportamiento de nado de manera individual y en pareja se analizó con una prueba no paramétrica (Friedman, ANOVA), obteniendo diferencias significativas en ambas situaciones para cada delfín (Cuadro 8). De igual manera se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) al analizar este comportamiento a lo largo del día. (Apéndice III).

Cuadro 8. Proporción de tiempo que emplean los delfines en el comportamiento de nado en pareja o de forma individual. Los resultados indican que en los 4 delfines el comportamiento social ha disminuido significativamente ya que la mayor parte del tiempo la pasan nadando de manera individual.

| Delfín | (N) | % tiempo \pm SD (nado en pareja) | % tiempo \pm SD (nado sólo) | Valor de p |
|--------|-----|---------------------------------------|----------------------------------|-------------|
| Holbox | 12 | 19.54 \pm 9.84 | 79.81 \pm 10.09 | $p < .0005$ |
| Byrón | 12 | 24.15 \pm 11.8 | 74.84 \pm 11.8 | $p < .0005$ |
| Baxal | 12 | 36.61 \pm 7.59 | 63.38 \pm 7.59 | $p < .0005$ |
| Isis | 12 | 37.96 \pm 12.38 | 62.03 \pm 12.38 | $p < .0039$ |

** Los valores se presentan en promedio \pm SD

7.9. Actividad Adrenocortical en Holbox y Byrón ambos pertenecientes al acuario Aragón.

Sólo se obtuvieron muestras de cortisol salival de dos delfines, ambos pertenecientes al acuario de Aragón. Un total de 248 muestras de saliva fueron analizadas mediante el sistema de RIA, 124 de ellas pertenecientes a Holbox y el resto a Byrón. El rango de cortisol salival para estos delfines fue de 24.10 ± 7.17 a 45.6 ± 24.09 pg/ml.

Al comparar los días sin actividad y los días de alta actividad no se encontraron diferencias estadísticas en los niveles de cortisol tanto en Holbox como en Byrón (Holbox-ANOVA $n=21$, $gl.= 1$, $F=3.4$, $p > 0.08$; Byrón-ANOVA $n=21$, $gl.=1$, $F= 2.2$, $p > 0.1$). Sin embargo, en los días de alta actividad se observa una tendencia a aumentar los niveles de cortisol conforme transcurren las horas del día en ambos delfines, mientras que en los días sin actividad los niveles de cortisol permanecen más o menos constantes a lo largo del día (Gráficas 1 y 2 respectivamente).

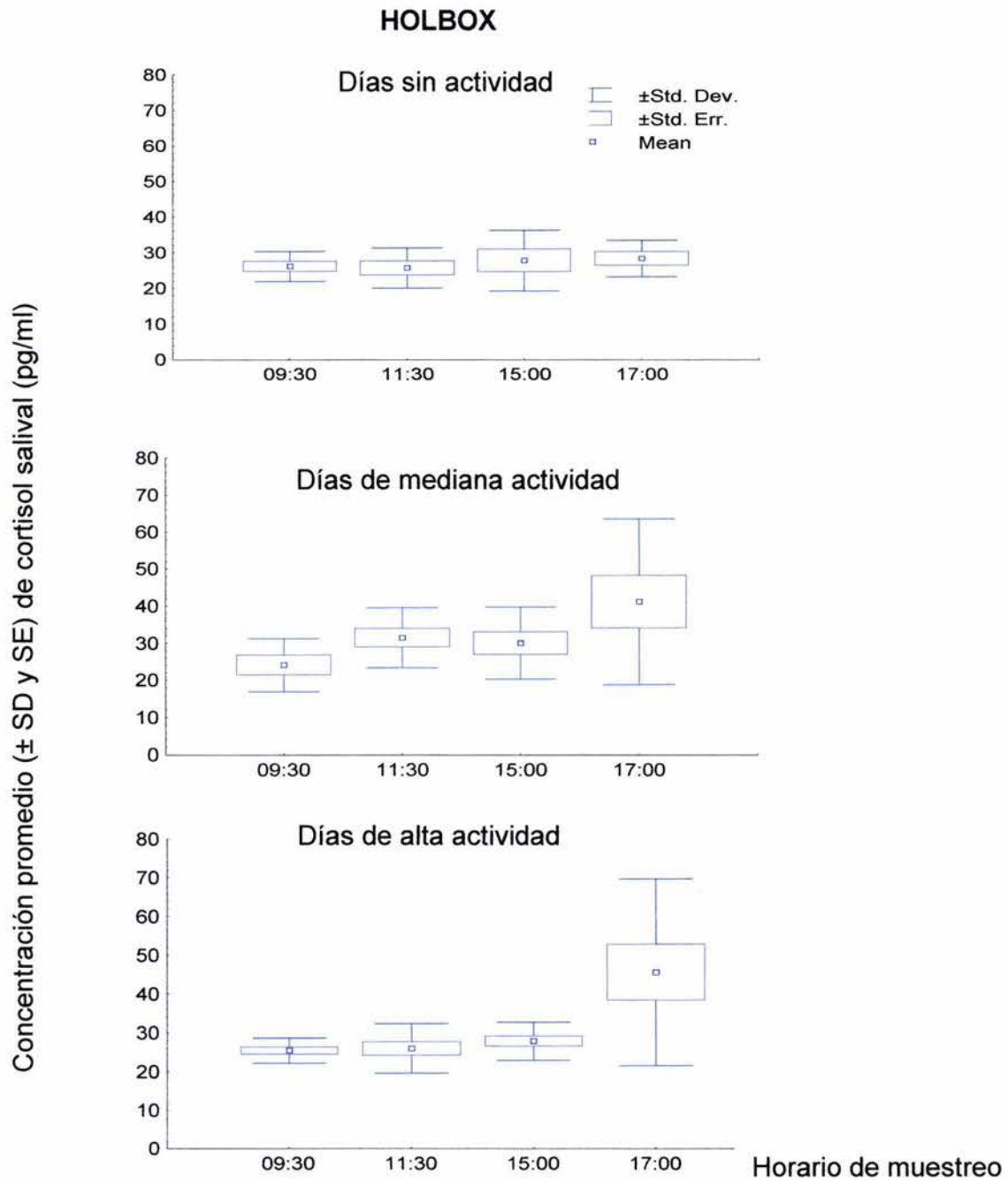
En la cuarta hora de observación de los días de alta actividad se registra una concentración promedio de 45.61 ± 24.09 pg/ml para Holbox y 40.33 ± 18.36 pg/ml para Byrón. Para los días sin actividad la concentración promedio fue de 28.29 ± 5.11 y 26.48 ± 13.65 pg/ml respectivamente. (Cuadro.9).

Cuadro 9. Niveles de cortisol salival obtenidos en dos delfines *Tursiops truncatus* pertenecientes al acuario Aragón.

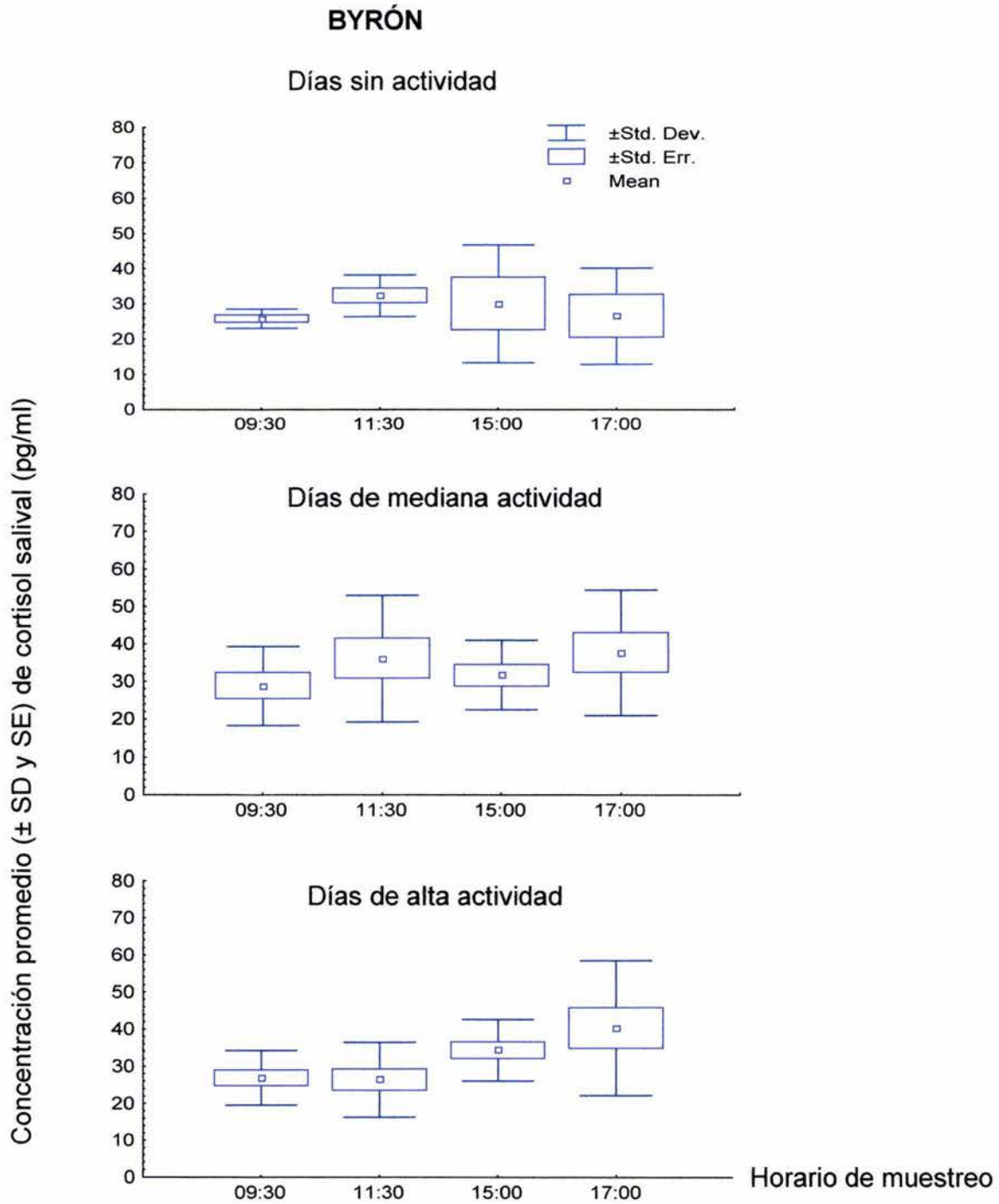
| Delfín | Día | Número de muestra de saliva: | | | | Comparación de muestras entre los diferentes días de actividad (Anova de 1 vía). | | | | | | | |
|--------|-----------------------|------------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|--|---------------|-----------|---------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | | 1 9:30 a.m. (n) | 2 11:30 a.m. (n) | 3 15:00 p.m. (n) | 4 17:00 p.m. (n) | Muestra 1 | Muestra 2 | Muestra 3 | Muestra 4 | | | | |
| Holbox | Sin actividad (A) | 8 | 26.15 ± 4.23 | 8 | 25.69 ± 5.62 | 7 | 27.74 ± 8.47 | 7 | 28.29 ± 5.11 | A vs C p > 0.69 | A vs C p > 0.91 | A vs C p > 0.96 | A vs C p > 0.08 |
| | Mediana actividad (B) | 7 | 24.10 ± 7.17 | 10 | 31.51 ± 8.11 | 10 | 30.04 ± 9.74 | 10 | 41.14 ± 22.40 | A vs B p > 0.50 | A vs B p > 0.10 | A vs B p > 0.62 | A vs B p > 0.16 |
| | Alta actividad (C) | 11 | 25.47 ± 3.27 | 13 | 25.98 ± 6.39 | 13 | 27.89 ± 4.11 | 11 | 45.61 ± 24.09 | B vs C p > 0.58 | B vs C p > 0.08 | B vs C p > 0.49 | B vs C p > 0.66 |
| Byrón | Sin actividad (A) | 7 | 25.77 ± 2.69 | 8 | 32.27 ± 5.93 | 5 | 29.98 ± 16.72 | 5 | 26.48 ± 13.65 | A vs C p > 0.69 | A vs C p > 0.15 | A vs C p > 0.46 | A vs C p > 0.15 |
| | Mediana actividad (B) | 9 | 28.79 ± 10.50 | 10 | 36.11 ± 16.88 | 10 | 31.76 ± 9.24 | 10 | 37.68 ± 16.71 | A vs B p > 0.47 | A vs B p > 0.55 | A vs B p > 0.79 | A vs B p > 0.21 |
| | Alta actividad (C) | 13 | 26.92 ± 7.33 | 12 | 26.45 ± 10.07 | 13 | 34.36 ± 8.27 | 11 | 40.33 ± 18.16 | B vs C p > 0.62 | B vs C p > 0.11 | B vs C p > 0.47 | B vs C p > 0.73 |

La tabla presenta Promedio ± SD de la concentración de Cortisol en pg/ml. La (n) para cada hora de muestreo varía ya que en ocasiones la cantidad de saliva obtenida no fue suficiente para ser analizada. Los días fueron catalogados de acuerdo al número de actividades que realizan los delfines: **A)** Días sin actividad, **B)** Días con mediana actividad (1 ó 2 actividades) y **C)** Días con alta actividad (3 o más actividades/día). No se encontraron diferencias significativas, sin embargo hay una tendencia a incrementar los valores de cortisol. Este valor se indica en rojo.

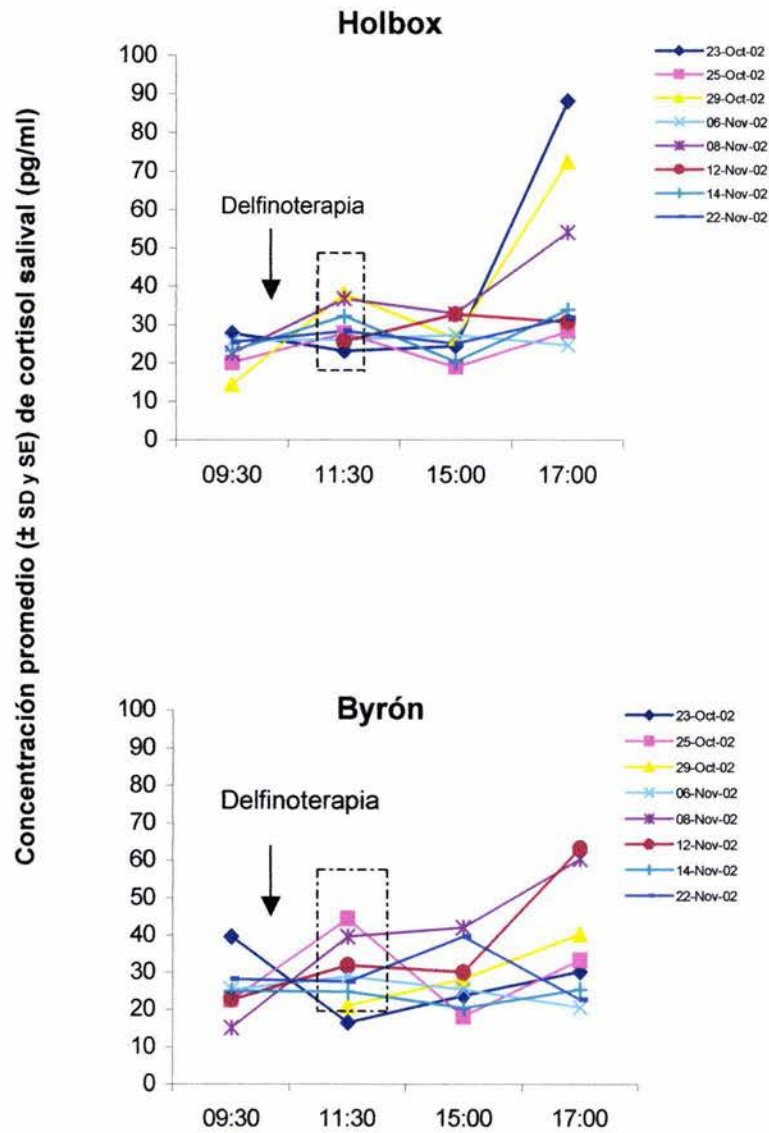
Al comparar los días de mediana actividad contra los días de alta actividad no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$). No obstante, en los días de mediana actividad se observa un incremento en la concentración de cortisol de la segunda muestra del día. Cabe señalar que la segunda muestra se tomó a las 11:30 a.m., posterior a la delfinoterapia, lo cual nos indica que en ambos delfines incrementaron los niveles de cortisol después de esta actividad.(Gráfica 3).



Gráfica 1. Fluctuación de cortisol salival en **Holbox** a lo largo del día de acuerdo a los diferentes días de actividad. En este delfin se observa incremento en la concentración de cortisol los días de mediana y alta actividad conforme transcurre el día.



Gráfica 2. Fluctuación de cortisol salival en **Byrón**, a lo largo del día de acuerdo a los diferentes días de actividad. En este delfín se observa incremento en la concentración de cortisol en la última hora de los días de alta actividad.



Gráfica 3. Niveles de cortisol salival obtenidos para **Holbox y Byrón** en los días en que se llevo a cabo la delfinoterapia. En el recuadro se observa un incremento en la concentración de cortisol una vez finalizada la esta actividad.

VIII. DISCUSIÓN

8.1. Comportamiento.

Muchas especies de animales silvestres han sido capturadas para mantenerlas en cautiverio, entre ellas se encuentran los delfines, los cuales han tenido que enfrentar diversos cambios físicos y sociales. En vida libre los delfines exhiben comportamientos que nunca van a poder desarrollar en cautiverio (e.g buceo, captura de alimento, socialización, entre muchos más) (Kyngdon, *et al.*, 2003). Además de este cambio enfrentan un proceso de aprendizaje en donde son sometidos a rutinas de entrenamiento para posteriormente ser exhibidos en espectáculos o como en el caso de los acuarios Atlantis y Aragón utilizarlos en terapias y nado con ellos. Durante este proceso la mayoría de animales se enfrentan a diversos factores que modulan las habilidades cognitivas de cada especie (Mendl, 1999; Duncan y Petherick, 1991).

Estas habilidades que les permitirán adaptarse a condiciones de cautiverio dependen de factores genéticos, experiencia y grado de semejanza de su albergue a su hábitat natural (Carlstead, 1996). En el caso de los delfines por muy grande que sea el albergue nunca va a ser suficiente para que ellos puedan exhibir comportamientos propios de la especie, por el contrario estos animales podrían desarrollar conductas anormales. Kyngdon y colaboradores (2003) reportan como una estereotipia el que delfines del acuario Marineland en Nueva Zelanda presenten una conducta redirigida al hacer sonar una campana sin que esto tenga una función obvia.

Si el estrés del alojamiento y el manejo de los animales afectan habilidades como el aprendizaje y la memoria esto podría conducir a problemas de bienestar (Mendl, 1999). En cautiverio los delfines como la mayoría de las especies enfrentan un proceso de aprendizaje y memoria, el cual les va a permitir realizar diversas actividades. Durante este proceso los delfines deben interactuar con los humanos, lo cual puede afectar su comportamiento. Como sabemos una de las causas del

estrés crónico en la mayoría de las especies en cautiverio es la incapacidad de responder a situaciones de miedo con respuestas de evasión o de escape (Carlstead y Shepherson, 2000).

En animales cautivos se han reportado conductas de agresividad a congéneres en situaciones de pérdida de control, las cuales podrían ser resultado de una respuesta a factores de estrés (Carlstead, 1996). Durante el presente estudio no se registro agresividad entre la pareja de encierro ni agresividad hacia la gente que interactúa con ellos. Asimismo, no se registraron conductas estereotipadas en ninguno de los delfines. Cabe mencionar que durante el tiempo que duró este estudio se observó constantemente a los delfines del acuario de Atlantis frotar su cuerpo con los bordes de la piscina, lo cual seguramente es una consecuencia del uso de productos químicos en estos acuarios. Este comportamiento sólo se observó en dos ocasiones en los delfines del acuario de Aragón.

8.2. Efecto de la interacción delfín – humano.

Son pocos los estudios realizados en relación al comportamiento de delfines en cautiverio. Kyngdon y colaboradores (2003) estudiaron las respuestas de comportamiento de la especie *Delphinus delphis* al programa de nado con delfines. En este estudio, los resultados indican que no hay señales de una afección en el comportamiento de los delfines o que éstos no quieran nadadores dentro de su estanque, por el contrario parece ser que estos animales se encuentran habituados a la presencia de humanos y han adaptado el uso de su área de refugio a enfrentar su presencia. Asimismo concluyen que no hay evidencia de un pobre bienestar en la respuesta de los delfines hacia los nadadores. Por su parte Samuels y Spradlin (1995) cuantificaron respuestas negativas en el comportamiento de los delfines durante un estudio piloto de un programa de nado con delfines realizado en Estados Unidos, en este estudio observaron que los delfines están en riesgo cuando son incapaces de evitar o rechazar las interacciones con humanos.

Además la designación de un área como límite a nadadores (o área prohibida) podría no ser adecuada si los delfines perciben que es aversiva o de difícil acceso. En un estudio reciente Samuels y Bejder (2004) manifiestan su desacuerdo con la práctica de esta actividad, ya que debido a la popularidad que ha registrado en los últimos años se ha convertido en una empresa que ha sobre-explotado el uso de los delfines. Además reportan que durante la práctica de esta actividad los delfines se ven condicionados a realizar algunos comportamientos para obtener su alimento.

La interacción de los humanos con los animales da como resultado una respuesta de miedo que a su vez desencadena una respuesta biológica, tanto conductual como fisiológica, para intentar enfrentar ese factor de estrés (Hemsworth y Barnett, 2000). Esto hace pensar que para los delfines la interacción con los humanos es un factor que afecta sus patrones de comportamiento.

Durante la realización de este estudio se observó que los delfines enfrentan frecuentemente la privación de su alimento ya que para obtenerlo deben participar en programas de nado, delfinoterapias y exhibición de espectáculos. Además de esto enfrentan otros estímulos negativos como el ruido, la calidad de agua, y el espacio entre otros. La privación del alimento incrementa la circulación de los niveles de cortisol, tal que los animales en vida libre muestran claramente correlaciones negativas entre las medidas de cortisol y la disponibilidad de alimento (Muller and Wrangham, 2004). Situaciones de pérdida de control del medio pueden originar respuestas de agresión dirigida a congéneres aún cuando se trate de animales anteriormente familiares (Mendl, 1999).

8.3. Efecto de las actividades que realizan los delfines sobre el comportamiento.

Estudios relacionados con el comportamiento de reposo de los delfines en cautiverio indican plasticidad de este comportamiento de acuerdo a la situación que los delfines enfrentan durante el día (Sekiguchi y Kohshima, 2003). Nuestros

resultados indican una modulación del comportamiento de acuerdo a la intensidad de trabajo realizado. En los días de alta actividad se registró un incremento en el comportamiento de reposo principalmente al finalizar cada una de las actividades, mientras que en los días en que los delfines no tienen actividades dirigidas se observa un aumento significativo del comportamiento de nado.

Otro de los comportamientos que se ve afectado por las actividades que realizan los delfines es el de espía. En días de alta actividad, la presencia del público es mayor y esto trae como consecuencia que los delfines empleen mayor proporción del tiempo en realizar este comportamiento. En otras especies de animales en cautiverio como por ejemplo, el lobo mexicano, la presencia del público afecta de manera negativa, es decir en situaciones de mayor afluencia del público los lobos tienden a esconderse y aumentan el tiempo de reposo en zonas no visibles (Pifarré, 2004; Frézard y Le Pape, 2003).

Uno de los problemas del cautiverio es que los animales tienen una capacidad muy limitada de alterar la estimulación externa a la que están sometidos ya que muchos de estos estímulos son impuestos y por lo tanto no pueden ser modulados por ellos (Carlstead, 1996). Para los delfines la imposición de actividades como la delfinoterapia y la realización de espectáculos provocan cambios de comportamiento. Recordemos que los delfines son animales muy activos que recorren grandes distancias a gran velocidad (Donoghue y Wheeler, 1990), y durante la terapia son obligados a permanecer quietos durante un tiempo aproximado de 15 minutos y además deben dejarse acariciar por el paciente. Esto podría provocar frustración y dar como resultado un comportamiento de agresión hacia otro individuo ó hacia los humanos.

En relación al comportamiento de sociabilidad se encontraron diferencias significativas. El tiempo que emplean en la actividad de nado individual es significativamente mayor que en pareja. Dado que se trata de animales que en vida libre se encuentran en grupos los datos de este estudio sugieren que este comportamiento se afecta por las condiciones de cautiverio.

En los cuatro delfines observados se encontraron diferencias significativas en los comportamientos de nado y reposo principalmente, los cuales podrían estar relacionados al número de actividades que realizan por día, así como al esfuerzo que realizan durante la ejecución de estas actividades.

8.4. Respuesta de la actividad adrenocortical.

Se determinaron valores de cortisol salival en situaciones de alta, mediana y nula actividad dando como resultado un incremento en la concentración de cortisol a medida que aumenta el número de actividades realizadas por cada delfín. En este estudio observamos que en los días de alta actividad después de que los delfines habían participado en una terapia o en un programa de nado participaban en la ejecución de tres espectáculos (casi continuos) lo cual, incrementaba significativamente la concentración de cortisol salival. Este incremento pudo haber sido el resultado de una demanda del organismo para contrarrestar la energía gastada durante la actividad física. Estudios realizados en corredores de alto nivel indican que las concentraciones de cortisol salival se incrementan durante la prueba de maratón (Cook, et al., 1987). Asimismo estudios realizados en caballos indican que el ejercicio estimula el eje HHA incrementando las concentraciones de cortisol. (Alexander, *et al.*, 1996). Ejercicio agudo incrementa la secreción de glucocorticoides en proporción directa de su intensidad (Muller and Wrangham, 2004).

Se sabe que el cortisol es liberado en la sangre cuando el organismo necesita energía para superar algún reto (Nelson, 2000) como por ejemplo, una actividad física intensa (Wielebnowski, 2003); por lo tanto, los datos obtenidos podrían explicarse como resultado de la intensa actividad física a la que son sometidos los animales y no como una respuesta de estrés. En lo que se refiere a los días sin actividad la concentración de cortisol se mantuvo en un nivel relativamente estable a lo largo del día.

En numerosos estudios realizados a mamíferos terrestres se ha reportado la existencia de un ritmo circadiano en la secreción de cortisol con una fluctuación diurna que va disminuyendo gradualmente con el transcurso del día. Suzuki y colaboradores (2003) reportaron una fluctuación similar del cortisol en suero de dos delfines de la especie *T. truncatus*. Estos autores colectaron muestras de sangre a diferentes intervalos de tiempo. Los resultados obtenidos al colectar muestras en intervalos de 8 hrs indican altos niveles de cortisol a las 9:00 de la mañana, mientras que en intervalos de 3 hrs, se registra una concentración aun mayor durante la madrugada (3:00 hrs). Es importante destacar que la concentración más alta de cortisol reportada por Suzuki y colaboradores se encontró durante las primeras horas del día y en el presente estudio la primera muestra se tomó ya avanzada la mañana (9:30 hrs.) mientras que el resto de las muestras se obtuvo a diferentes intervalos de tiempo. Por lo tanto, es difícil comparar nuestros resultados con los obtenidos por Suzuki y colaboradores (2003). Además, el método de obtención de muestras de cortisol en plasma utilizado por estos autores pudo haber alterado sus resultados debido a la tensión que enfrenta el animal. Por otro lado, si tomamos en cuenta que los delfines son animales diurnos, es probable que a la hora en que Suzuki y colaboradores reportan mayor concentración de cortisol el animal se encontrara en un estado de reposo y haya tenido una respuesta negativa durante la obtención de la muestra.

Por su parte Hernández (1998) también reporta alta concentración de cortisol salival a las 9:00 de la mañana en delfines con 8 años de cautiverio, esto nos llevaría a pensar que en nuestros resultados la mayor concentración de cortisol se registró minutos u horas antes de las 9:30 de la mañana y conforme transcurre el día va disminuyendo.

Al analizar el efecto de la actividad misma en la concentración de cortisol se encontró que una vez finalizada la delfinoterapia, los delfines presentan un aumento en la concentración de cortisol, probablemente esta actividad resulta adversa para los delfines debido a que deben permanecer quietos durante varios minutos en cada sesión y además deben repetir este comportamiento en varias

sesiones (Brensing, *et al.*, 2003). En relación a los espectáculos, también se registró aumento en la concentración de cortisol, sin embargo, no se podría asegurar que esta actividad sea una respuesta de estrés ya que podría ser el resultado de la actividad física realizada por los animales.

Con respecto al uso de cortisol salival este resulta un método no-invasivo de fácil obtención que disminuye el efecto traumático que pudiera enfrentar el delfín. En el presente estudio sólo dos de los cuatro delfines respondieron al entrenamiento para la obtención de muestras, los otros dos, evadieron constantemente las señales de entrenamiento, probablemente debido al cambio constante de entrenadores en este acuario. Es importante enfatizar que para que el método sea realmente no-invasivo es necesario la comprensión de señales por parte del delfín (Tschudin *et al.*, 2001), mismas que le permitan ejecutar la acción y posteriormente repetirla sin que esto le cause una respuesta de estrés. Ésta acción deberá ser recompensada.

8.5. Comentarios finales.

La actividad de nado con delfines se ha incrementado notablemente en los últimos años, es por ello que se deben realizar estudios relacionados con el bienestar de esta especie. A la fecha se tiene poca información en relación al comportamiento en cautiverio de estos mamíferos, y más aún se desconoce si estos animales presentan conductas anormales provocadas por estrés.

Mientras Kyngdon (2003) argumenta que los delfines del acuario de Marineland en Nueva Zelanda se han habituado a la presencia de los humanos, esto podría no ser así, sino más bien los delfines han aprendido a interactuar con el humano por un interés propio, ya que de esta interacción van a obtener su alimento. Profundizar en estudios relacionados con la interacción humano-delfín podrían determinar si existe o no un efecto negativo en el comportamiento de estos mamíferos. Asimismo sería de gran utilidad ampliar el conocimiento de la actividad

adrenal en delfines en cautiverio empleando técnicas no-invasivas de tal manera que no se influenciaron los resultados.

En los programas de conservación el principal reto es lograr la reproducción en cautiverio por ello es necesario ampliar la información del comportamiento. Si, en los acuarios además se pretende ampliar el conocimiento de la biología de estos cetáceos, entonces todos los esfuerzos deben estar dirigidos al bienestar y manejo adecuado de estos animales manteniéndolos en óptimas condiciones.

IX. REFERENCIAS

- Alexander, S. L., Irvine, C. H. G. and Donald, R. A.** 1996. Dynamics of the Regulation of the Hypothalamo-Pituitary-Adrenal (HPA) Axis Determined Using a Nonsurgical Method for Collecting Pituitary Venous Blood from Horses. *Frontiers in Neuroendocrinology*. 17: 1 - 50.
- Astheimer, L. B., Buttermer, W. A., and Wingfield, J. C.** 1994. Gender and seasonal differences in the adrenocortical response to ACTH challenge in an arctic passerine, *Zonotrichia leucophrys gambelli*. *General and Comparative Endocrinology*. 94: 33 - 43.
- Bedolla, N., Ulloa-Aguirre, A., Landeros, J., Pérez-Palacios, G.** 1984. Análisis de datos y control de calidad en el radioinmunoanálisis. I. Guía para la evaluación de resultados. *Revista de Investigación Clínica (Méx)*. 36: 179 - 192.
- Bolufer, P., Gandia, A., Rodríguez, A., and Antonio, P.** 1989. Salivary corticosteroids in the study of adrenal function. *Clinica Chimica Acta*. 183: 217 - 226.
- Breusing, K., Linke, K. and Todt, D.** 2003. Can dolphins be healed by ultrasound? *Journal of Theoretical Biology*. 225: 99 - 105.
- Broom, D., M.** 1986. Indicators of poor welfare. *Br. Vet. J.* 142: 524 - 526.
- Broom, D., M.** 1991. Animal welfare: concepts and measurement. *J. Anim. Sci.* 69: 4167 - 4175.
- Broom, D., M. and Johnson, G. K.** 1993. *Stress and Animal Welfare*. Chapman and Hill. London. 211.
- Carlstead, K., Shepherdson, D.** 2000. Alleviating stress in zoo animals with environmental enrichment. In: *The biology of animal stress*. (Moberg, G. p. and Mench, J. A., eds.). CAB International. 337 - 354.
- Carlstead, K.** 1996. Effects of captivity on the Behaviour of wild mammals. In: *Mammals in captivity. Principles and techniques*. (Kleiman, D. G., Allen, M.E., Thompson, K.V., Lumpkin, S., eds.). The University of Chicago Press. 317 - 333.

- Clark, J. D., Rager, D. R., and Calpin, J. P.** 1997. Animal well-being III: Specific assesment criteria. *Laboratory animal Science*. 47: 586 - 596.
- Constantine, R., Brunton, D. H., Dennis, T.** 2004. Dolphin-watching tour boats change bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) behaviour. *Biological conservation* 117: 299 - 307.
- Cook, N. J., Ng, A., Read, G. F., Harris, B. and Riad-Fahmy, D.** 1987. Salivary cortisol for Monitoring Adrenal Activity during Marathon Runs. *Hormone Res.* 25: 18 - 23.
- Corkeron, J. P., Bryden, M. M. and Hedstrom, E. K.** 1990. Feeding of bottlenose dolphins in association with trawling operations in Moreton Bay, Australia. In: *The Bottlenose Dolphin* (S. Leatherwood and R. Reeves, eds.). Academic Press, Inc., U. S. A. 329 - 336.
- Crocket, C.M.** 1998. Psychological well-being of captive nonhuman primates. In: *Second Nature*. (Shepherdson, D. J., Mellen, J. D, and Hutchins, M. eds.) Smithsonian Institution Press. 131 - 132.
- Dierauf, L. A.** 1990. Stress in marine mammals. In: *CRC Handbook of marine mammals medicine: health, disease and rehabilitation*.(Dierauf, L. A., ed.). American Veterinary Medical Association Congressional Science, Capitol Hill, Washington, D.C., 295 - 301.
- Donoghue, M. and Wheeler, A.** 1990. *Save The Dolphins*. Sheridan House Inc., Hong Kong. 119.
- Duncan, I. J. H. And Petherick, J. C.** 1991. The implications of cognitive processes for animal welfare. *Journal Animal Science*. 69: 5017 - 5022.
- Fernández, Y.** 1991. Delfín nariz de botella, (*Tursiops truncatus*). Seminario de titulación. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia – UNAM. 60 p.
- Frézard, A., and Le Pape, G.** 2003. Contribution to the Welfare of Captive Wolves (*Canis lupus lupus*): A Behavioural Comparison of Six Wolf Packs. *Zoo Biology*. 22: 33 - 44.

- Galindo, M., F.** 1995. La importancia de la etología en la medicina veterinaria y zootecnia. En: Etología y bienestar animal Serie "Temas de actualidad". Federación de colegios y asociaciones de médicos veterinarios zootecnistas de México, A.C. 2: 15 - 26.
- Garnier, F., Benoit, E., Virat, M., Ochoa, R., and Delatour, P.** 1990. Adrenal cortical response in clinically normal dogs before and after adaptation to a housing environment. *Laboratory Animals*. 24: 40 - 43.
- Guyton, A.C., and Hali, J.E.** 1996. Tratado de Fisiología . Interamericana Mc Graw-Hill. México. 1250 p.
- Gygax, L.** 1993. Spatial movement patterns and behaviour of two captive bottlenose (*Tursiops truncatus*): absence of stereotyped behaviour or lack of definition? *Applied Animal Behaviour Science*. 38: 337 - 344.
- Heimlich-Boran, S. and Heimlich-Boran, J.** 1994. Killer Whales. Voyageur Press, Inc. U.S.A. 72 p.
- Hemsworth, P.H., and Barnett, J.L.** 2000. Human-Animal Interactions and Animal Stress. In: *The Biology of Animal Stress* (G.P. Moberg and J.A. Mench, eds.), pp 309 – 333. CAB. International.
- Hernández, B., L.** 1998. Determinación de la concentración de cortisol y otros parámetros bioquímicos en la sangre y saliva de delfines *Tursiops truncatus* en cautiverio y durante el proceso de transportación. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias – UNAM. 43 p.
- Hopster, H., van der, Werf, J.T.N., Erkens, J.H.F., and Blokuis, H.J.** 1999. Effects of repeated jugular puncture on plasma cortisol concentrations in loose -housed dairy cows. *Journal of Animal Science*. 77: 708 - 714.
- Jansen, L. M. C., Gispén-de Wied, C. C., Jansen, M. A., Gaag, R., Matthys, W., and Engeland, H.** 1999. Pituitary - adrenal reactivity in a child psychiatric population: salivary cortisol response to stressors. *European Neuropsychopharmacology* . 9: 67 - 75.

- Kirby, V., L.** 1990. Endocrinology of marine mammals. In: CRC Handbook of marine mammals medicine: health, disease and rehabilitation. (Dierauf, L. A., ed.). American Veterinary Medical Association Congressional Science, Capitol Hill, Washington, D.C. 303 - 342.
- Kyngdon, D. J., Minot, E. O., and Stafford, K.J.** 2003. Behavioural responses of captive common dolphins *Delphinus delphis* to a "Swim-with-Dolphin" programme. *Applied Animal Behaviour Science*. 81: 163 - 170.
- Ladewing, J.** 2000. Chronic Intermittent stress: A model for the study of stereotypic behaviour. In: Stereotypic animal behaviour: Fundamentals and applications to welfare. (Alistair, B. L. and Rushen, J., eds.) CAB International. 97 - 118.
- Marino, L. and Lilienfeld, S.** 1998. Dolphin-assisted therapy: flawed data, flawed conclusions. *Anthrozoös*. 11(4): 194 - 200.
- Mason, G. J.** 1991. Stereotypies: a critical review. *Animal Behaviour*. 41: 1015 - 1037.
- Medway, W. and Geraci, J., R.** 1964. Hematology of the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). *American Journal of Physiology*. 207(6): 1367-1370.
- Mendl, M.** 1999. Performing under pressure: stress and cognitive function. *Applied Animal Behaviour Science*. 65: 221 - 244.
- Millspaugh, J. J., Washburn, B. E., Milanick, M. A., Beringer, J., Hansen, L. P., and Meyer, T. M.** 2002. Non-invasive techniques for stress assessment in white-tailed deer. *Wildlife Society Bulletin*. 30:3 899 - 907.
- Möstl, E., and Palme, R.** 2002. Hormones as indicators of stress. *Domestic Animal Endocrinology*. 23: 67 - 74.
- Muller, M. N. and Wrangham, R. W.** 2004. Dominance, cortisol and stress in wild chimpanzees (*Pan troglodytes schweinfurthii*). *Behav. Ecol. Sociobiol.* 55: 332 - 340.
- Munck, A., Guyre, P. M., Holbrook, N. I.** 1984. Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relationship to pharmacological actions. *Endocrinology Review*. 5: 25 - 44.

- Nelson, R.J.** 2000. An Introduction to Behavioural Endocrinology. Sinauer Associates, Inc. 557 - 591.
- Ortiz, R. M., Worthy, G. A. J.** 2000. Effects of capture on adrenal steroid and vasopressin concentrations in free-ranging bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* 125: 317 - 324.
- Palme, R., Robia, C., Baumgartner, W., and Möstl, E.** 2000. Transport stress in cattle as reflected by increase in faecal cortisol metabolite concentrations. *The Veterinary Record*. 22: 108 -109.
- Pedernera, C., Galindo, F., Orduña, K., Romano, M., Valdés, R and Solórzano, J.L.** 2001. Behavior and salivary cortisol measurements in captive bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). Informe final de servicio social en el departamento de etología, fauna silvestre y animales de laboratorio. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia – UNAM. 23 p.
- Pérez, M. M., Mendoza, M. E., Romano M. C.** 1999. Exfoliative vaginal cytology and plasma levels of estrone and estradiol 17 β in young and old adult goats. *Small Ruminant Research*. 33: 153 - 158.
- Price, E. O.** 1999. Behavioral development in animals undergoing domestication. *Applied Animal Behaviour Science*. 65: 245 - 271.
- Pifarré M.** 2004. Efecto del público sobre comportamiento y cortisol fecal en lobo mexicano (*Canis lupus baileyi*) en cautiverio. Tesis de maestría Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. México 70 p.
- Randall, D. , Burggren, W., and French, K.** 1998. Fisiología Animal-Mecanismos y Adaptaciones. Mc Graw-Hill Interamericana
- Reeves, R. R., and Leatherwood, S.** 1987. The sea Word book of dolphin. Harcourt Brace Javanovich. Publ. New York. 111 pp.
- Samuels, A. and Bejder, L.** 2004. Chronic interaction between humans and free-ranging bottlenose dolphins near Panama City Beach, Florida, USA. *Journal of Cetacean Research and Management* 6(1): 69 - 77.

- Samuels, A. and Spradlin, T., R.** 1995. Quantitative behavioral study of bottlenose dolphins in swim-with-dolphin programs in the united states. *Marine Mammal Science*. 11(4): 520 - 544.
- Santurtun, E.** 2002. Conducta del delfín manchado (*Stenella attenuata*) durante la maniobra de pesca del atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) en el océano pacífico oriental. Tesis de Maestría Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. 39 p.
- Sapolsky, R. M.** 1992. *Stress, The Aging Brain and The Mechanisms of Neuron Death*. MIT Press, Cambridge.
- Sapolsky, R. M., Romero, L. M., and Munck, A. U.** 2000. How Do Glucocorticoids Influence Stress Responses? Integrating Permissive, Suppressive, Stimulatory, and Preparative Actions. *Endocrine Reviews* 21(1): 55 - 89.
- Schatz, S., and Palme, R.** 2001. Measurement of Faecal Cortisol Metabolites in Cats and Dogs: A Non-invasive Method for Evaluating Adrenocortical Function. *Veterinary Research Communications*. 25: 271-287 p.
- Sekiguchi, Y., and Kohshima, S.** 2003. Resting behaviors of captive bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *Physiology and Behavior*. 79: 643 – 653 p.
- Selye, H.** 1946. The general adaptation syndrome and the diseases of adaptation. *J. Clin. Endocrinol.*, 6:117 - 231.
- Shane, H. S.** 1990. Comparison of bottlenose dolphin behaviour in Texas and Florida, with a critique of methods for studying dolphin behaviour. In: *The Bottlenose Dolphin* (S. Leatherwood and R. Reeves, eds.). Academic Press, Inc., U.S.A. 329 - 336.
- Siegel, S. and Castellan, N. J.** 2003. *Estadística no paramétrica aplicada a las ciencias de la conducta*. Trillas. México. 437 p.
- Sisto, B., A. and Troeglen, E., C.** 1995 Problemas del bienestar en animales de Granja, de zoológico y de laboratorio. En: *Etología y bienestar animal Serie "Temas de actualidad"*. Federación de colegios y asociaciones de médicos veterinarios zootecnistas de México, A.C. 2:27 - 36.

- St. Aubin, D., J.** 1996. Dolphin thyroid and adrenal hormones; circulating levels in wild and semidomesticated *Tursiops truncatus* , and influence of sex, age, and season. *Marine Mammal Science*. 12(1): 1 - 13.
- Suzuki, M., Uchida, S., Ueda, K., Tobayama, T., Katsumata, E., Yoshioka, M., and Aida, K.** 2003. Diurnal and annual changes in serum cortisol concentrations in Indo – Pacific bottlenose dolphins *Tursiops aduncus* and killer whales *Orcinus orca*. *General and Comparative Endocrinology* 132: 427 - 433.
- Thompson, C.A. and Geraci, J.R.** 1986. Cortisol, aldosterona y leucocytes in the Stress response of bottlenose dolphins, *Tursiops truncatus*. *Can. J. Fish Aquat. Sci.* 43: 1010 - 1016.
- Thompson, P. and Wilson B.** 1994. Bottlenose dolphins. Voyageur Press, Inc. U.S.A. 72 p.
- Tiefenbacher, S., Lee, B., Meyer, J. S. and Spealman, R. D.** 2003. Noninvasive technique for the repeated sampling of salivary free cortisol in awake, unrestrained squirrel monkeys. *American Journal of Primatology*. 60:2. 69 - 75.
- Toates, F.** 2000. Multiple factors controlling behaviour: Implications for stress and welfare. In: *Biology of animal stress*. (Moberg, G. p. and Mench, J. A. , eds.). CAB International. 199 - 227.
- Tresguerres, J.A.F., Aguilar, B.E., Cachofeiro, M.V., Cardinali, D., Gil, L.P., Lahera J.V., Martínez, V.J.A., Mora, T.F., Rodríguez, R.R., Romano, P.M., Tamargo, M.J., Zarco, G.P.** 1999. *Fisiología humana*. McGraw-Hill Interamericana 2a Edición. 1181 p.
- Tschudin, A., Dunbar, R., Call, J., Harris, G., and Elst, Ch.** 2001. Brief communications Comprehension of sigs by dolphins (*Tursiops truncatus*). *Journal of Comparative Psychology*. 115(1): 100 - 105.
- Walker R., F.** 1984 Salivary Cortisol Determinations in the Assessment of Adrenal Activity. *Frontiers of Oral Physiology*, 5: 33 - 60.

- Wielebnowski, N.** 2003. Stress and distress: evaluating their impact for the well-being of zoo animals. JAVMA. 223: 973 - 977.
- Zambrano, A., and Díaz, S.** 1996. El radioinmunoanálisis y su control de calidad. Instituto de investigaciones nucleares. México. 85 p.
- Zanella, A.J., Broom, D., M. and Hunter, J.** 1991. Changes in opioid receptors of sows in relation to housing, inactivity and estereotipes. In: Proceedings of the International Society for Veterinary Ethology 140 -141.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

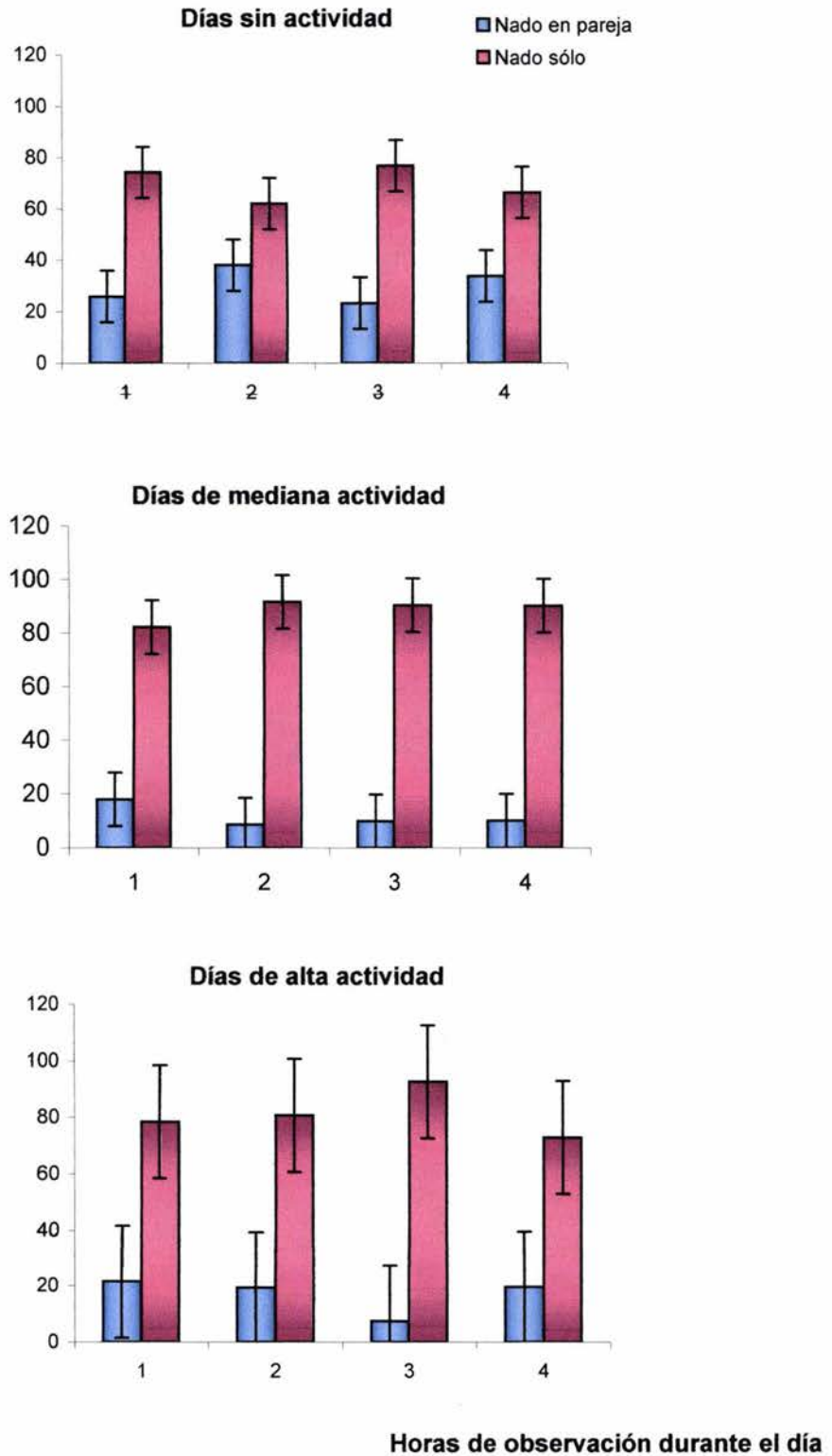
Apéndice I. Catálogo de conductas (etograma), utilizado en la observación de cuatro delfines de la especie *Tursiops truncatus*, cautivos en dos acuarios de la Empresa Convimar, en la ciudad de México.

ETOGRAMA

| Conducta | Descripción |
|-------------------|--|
| ESTADOS: | |
| Nado | Desplazamiento del delfín a través del agua, en donde la cabeza se traslada antes que el resto del cuerpo. Durante este comportamiento la posición del cuerpo puede ser: <ul style="list-style-type: none"> • <u>Dorsal.</u> Eje longitudinal del cuerpo paralelo a la superficie del agua con la aleta dorsal orientada hacia arriba. El ángulo con respecto a la superficie es de 0°. • <u>Ventral.</u> Eje longitudinal del cuerpo paralelo a la superficie del agua con el vientre orientado hacia arriba. El ángulo con respecto a la superficie es de 0°. • <u>Lateral.</u> El cuerpo está girado 90° y la aleta dorsal está paralela a la superficie del agua. |
| Reposo | El delfín permanece quieto, la posición de su cuerpo con respecto a la superficie del agua puede ser: <ul style="list-style-type: none"> • Horizontal. El eje longitudinal del cuerpo es paralelo a la superficie, exponiendo la aleta dorsal fuera del agua. • Vertical. El eje longitudinal del cuerpo está perpendicular a la superficie del agua, la cabeza puede estar dirigida hacia arriba o hacia abajo. • Diagonal. El pedúnculo caudal se encuentra inclinado formando un ángulo de 45° con respecto a la superficie del agua. |
| Espía | El delfín se encuentra en posición vertical con la cabeza fuera del agua y eleva su cuerpo ayudándose con la aleta caudal, seguido por un movimiento de regreso al agua en la misma posición (puede ser un movimiento repetitivo). |
| Inmersión | Ninguna parte del cuerpo está fuera del agua, la posición puede ser horizontal, vertical ó diagonal. |
| Rasca | El delfín frota cualquier parte de su cuerpo con las paredes o los bordes de la alberca. |
| Juego con objetos | El delfín interactúa con objetos tales como: boyas, cuerdas, pelotas, gusanos de hule espuma etc., (puede sumergirlos, morderlos, aventarlos). |
| Nado contra reloj | Desplazamiento en contra de las manecillas del reloj. |
| EVENTOS: | |
| Salto | Movimiento ascendente, elevándose por encima de la superficie del agua, seguido por una reentrada que puede ser limpia o ruidosa. La ejecución puede ser sincrónica o asincrónica. <p><u>Salto libre:</u> Salida del cuerpo del animal o movimiento ascendente hacia el aire, elevándose por encima de la superficie del agua, seguido por una reentrada que puede ser limpia o ruidosa.</p> <p><u>Salto en arco:</u> Ejecución del salto hacia delante en posición dorsal. Una porción del pedúnculo y la aleta caudal mantienen contacto con el agua.</p> <p><u>Salto lateral:</u> El cuerpo del delfín asciende en posición lateral, asumiendo un ligero o pronunciado arco cóncavo en el aire y desciende en la misma posición.</p> <p><u>Salto dorsal:</u> Salida del cuerpo del animal en posición invertida, elevándose por encima de la superficie del agua y descendiendo en posición dorsal.</p> |

Apéndice II

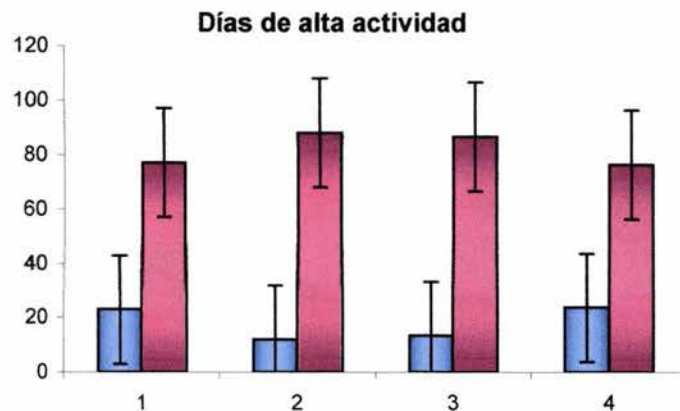
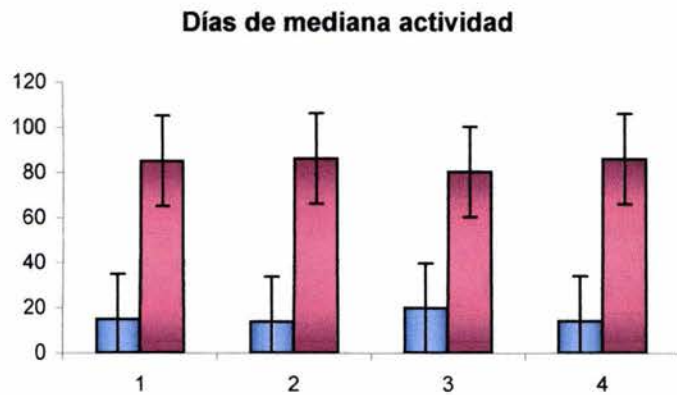
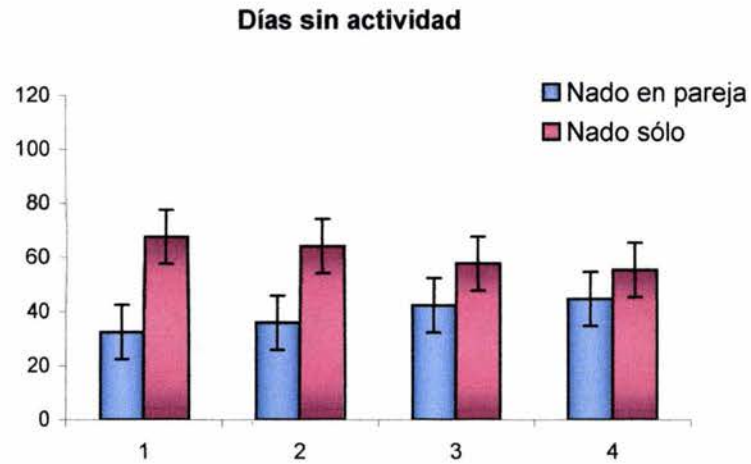
HOLBOX



Gráfica 4. Porcentaje de tiempo dedicado al comportamiento de nado individual y en pareja de acuerdo a la clasificación de días. Se observa que en los tres diferentes días de actividad Holbox dedica mayor tiempo a nadar de manera individual que en pareja.

Apéndice II

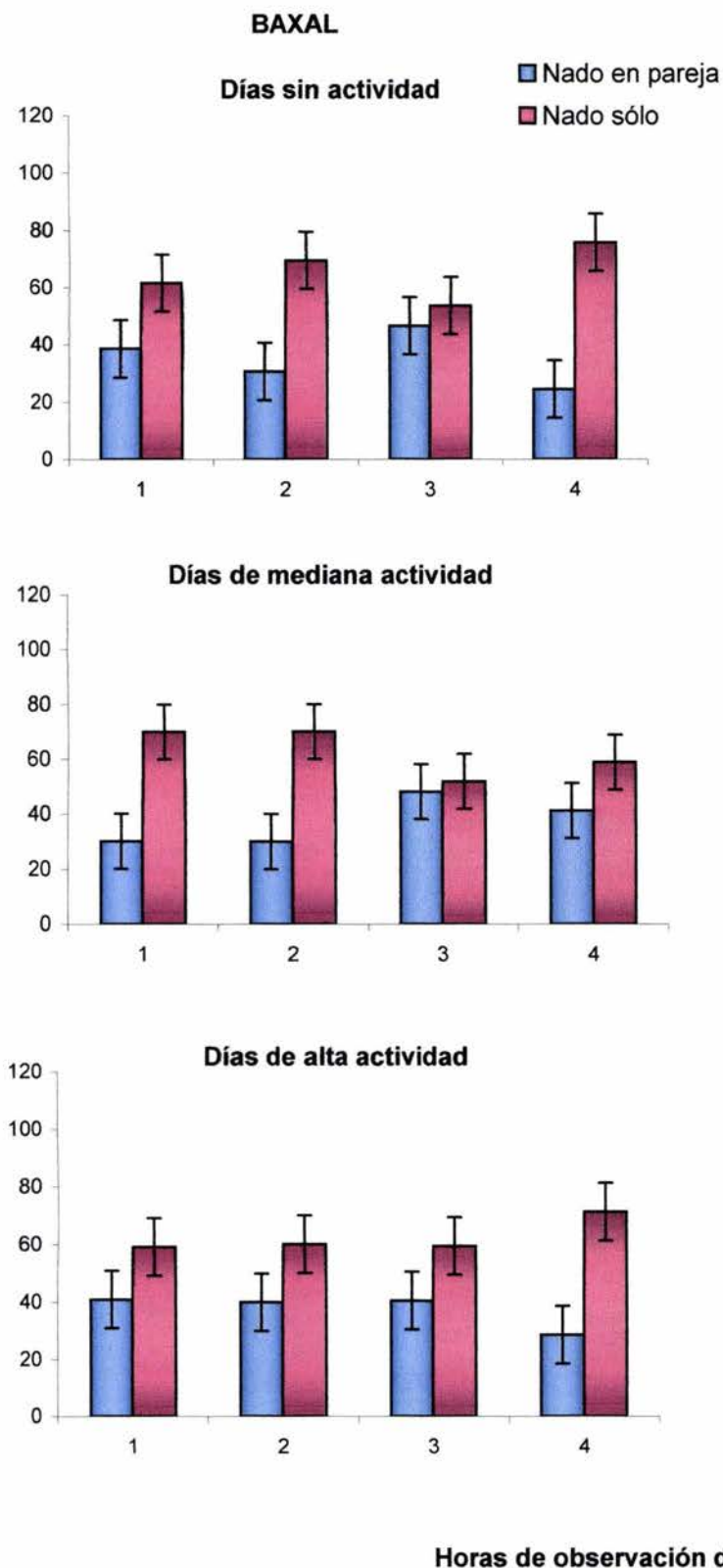
BYRÓN



Horas de observación durante el día

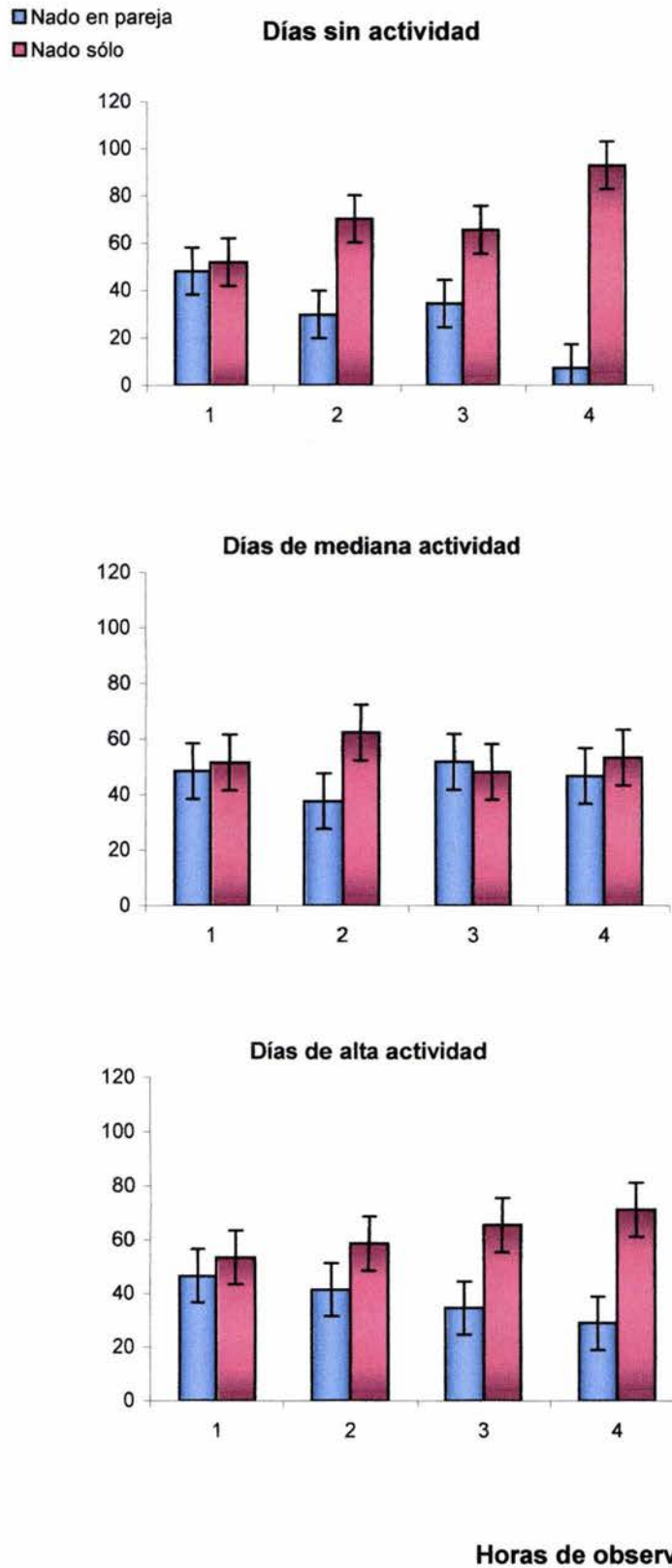
Gráfica 5. Porcentaje de tiempo dedicado al comportamiento de nado individual y en pareja de acuerdo a la clasificación de días. Se observa que en los tres diferentes días de actividad Byrón dedica mayor tiempo a nadar de manera individual que en pareja.

Apéndice II.



Gráfica 6. Porcentaje de tiempo dedicado al comportamiento de nado individual y en pareja de acuerdo a la clasificación de días. Se observa que en los tres diferentes días de actividad Baxal dedica mayor tiempo a nadar de manera individual que en pareja.

ISIS



Gráfica 7. Porcentaje de tiempo dedicado al comportamiento de nado individual y en pareja de acuerdo a la clasificación de los días. Se observa que en los días sin actividad y en los días de alta actividad Isis dedica mayor tiempo a nadar sola.