

00343



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

POSGRADO EN CIENCIAS  
BIOLOGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS

ESTUDIO DE BIENESTAR DEL DELFIN NARIZ DE  
BOTELLA (*Tursiops truncatus*) EN CAUTIVERIO.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS (BIOLOGIA ANIMAL)**

P R E S E N T A :

**SUNEETA SINGH CARBONE**

DIRECTOR DE TESIS: DR. FCO. XAVIER CHIAPPA CARRARA

MEXICO, D. F.

JULIO 2005

0346447



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.

ESTÁ TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Suneeta Singh  
Carbone

FECHA: 1/ agosto / 05

FIRMA: Suneeta Singh

## DEDICATORIA

Este trabajo lo dedico a los tres Singh, a Morzak y a Polent ellos saben porqué,  
y a los que no están y me gustaría que estuviesen.



## AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Chiappa, Dr. Galindo y Dra. Fanjul por ser mis tutores y por haberme guiado con su conocimiento a través de este largo viaje.

A la Dra. Brousset y al Dr. Medrano por ser parte de mi jurado y por sus valiosos comentarios y sugerencias para mejorar este trabajo.

A Xavi por haber confiado en mi y haberme tenido toda la paciencia y tolerancia del mundo.

A la Dra. Marta Romano Pardo y al Biólogo Ricardo A. Valdés por realizar la determinación los niveles de cortisol.

A la empresa Convimar por permitirme utilizar sus instalaciones y sus delfines.

Al Dr. José Luis Solórzano y al MVZ Alejandro Hernández por su paciencia, conocimiento y por invitarme a sus aventuras.

A todos los chicos que trabajan y cuidan a estos animales, y por hacerme sentir parte de su equipo.

A Dolphin Adventure, a Paola, Alejandro Gómez-Rubio y a Ricardo Farcas, por permitirme realizar parte de este estudio y por su apoyo.

A Pili por ser Pili y por siempre bajarme a tierra y contagiarme de lo divertido e increíble que es estudiar, aprender e intentar hacer ciencia.

A Maite y a Andrés por dedicarme tiempo y ayudarme en la confusa estadística.

Al Tejada y a Dul por estar, ser, ayudarme y porque los considero buenos amigos.

A doña Bartola por ayudarme mientras más lo necesité.

A la Reina, a la Buera y a Claus.

Al Dr. Murray, a Lydia y a Gaby.

Por supuesto a mis padres, hermano, esposo e hijo por haber estado ahí y haber sufrido tanto como yo este largísimo proceso y por haberme dado mis cachetaditas que igual no sirvieron de mucho.

## RESUMEN

Los delfines en cautiverio tienen que enfrentar cambios en el ambiente que son muy demandantes en cuanto a sus habilidades adaptativas, por lo que resulta indispensable disponer de indicadores de bienestar de estos animales con el fin de mejorar su estancia en los delfinarios. En el presente trabajo se ha evaluado el efecto que tienen el tamaño de la alberca (grande o chica) y el tiempo que llevan los animales en cautiverio (menos de 1 año o más de 5), en la conducta de 7 delfines nariz de botella (*Tursiops truncatus*), a través de muestreos de barrido cada 5 minutos y de tipo conductual durante un mínimo de 41.6 h por delfín. Se encontraron diferencias significativas en la direccionalidad del nado, en el nado social y en la conducta de persecución ( $p < 0.05$ ) dependiendo del tamaño de la alberca. La mayoría de las diferencias encontradas con respecto a la conducta, son interpretadas desde el punto de vista de las variaciones en las respuestas individuales, se identificaron conductas que pueden estar reflejando estados emocionales y se observó cómo el cautiverio homogeniza el comportamiento. Asimismo se validó una técnica no invasiva para conocer la concentración de cortisol, utilizando mediciones de esta hormona en saliva de 12 delfines, de los cuales 4 estaban entrenados para realizar procedimientos médicos y el resto no. La correlación entre la concentración de cortisol en sangre y en saliva fue significativa ( $r = 0.94$ ,  $p < 0.01$ ), con un intervalo de 2.39 a 31.97 ng/mL en sangre y 0.52 a 8.05 ng/mL en saliva. También se encontraron diferencias significativas entre delfines entrenados y no entrenados para la obtención de muestras ( $T = 2,22$ ,  $N = 10$  y  $p < 0.05$ ), con una media de  $10.92 \pm 3.94$  ng/mL en sangre para los no entrenados y  $4.85 \pm 2.31$  ng/mL para los entrenados y  $3.88 \pm 1.16$  ng/ml en saliva para los no entrenados y  $0.61 \pm 0.03$  ng/mL para los entrenados, lo que sugiere que la manera en que se toman las muestras influye en los resultados obtenidos. Este estudio demuestra que la obtención de cortisol a través de la saliva es una técnica útil, no invasiva y una vez que el delfín responde al condicionamiento, fácil de obtener.

**Palabras clave:** delfín, comportamiento, cortisol, bienestar animal, cautiverio.

## ÍNDICE

<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	1
1.1 Antecedentes	1
1.2 Concepto de bienestar animal	2
1.3 Comportamiento y conductas anormales	5
1.4 Comportamiento de <i>Tursiops truncatus</i> en cautiverio	7
1.5 Problemas de bienestar relacionados con el tiempo que lleva el animal en cautiverio y el tamaño del encierro	9
1.6 Medición de la actividad adrenal como respuesta en delfines	11
1.7 Técnicas no invasivas para evaluar la actividad adrenal	15
1.8 Relación entre conductas anormales y la concentración de cortisol	17
<b>II. JUSTIFICACIÓN</b>	19
<b>III. HIPÓTESIS Y PREDICCIONES</b>	20
<b>IV. OBJETIVOS</b>	21
<b>V. MATERIAL, MÉTODOS Y RESULTADOS</b>	
5.1 Estudio 1. Efecto del tamaño de la alberca y del tiempo en cautiverio sobre los estados y los eventos de conductas individuales y sociales	
5.1.1 Sujetos, localización y manejo	22
5.1.2 Procedimiento del estudio	23
5.1.3 Análisis de datos	27
5.1.4 Resultados	28
5.2 Estudio 2. Validación de una técnica no invasiva para evaluar la actividad adrenal en delfines	
5.2.1 Sujetos, localización y manejo	33
5.2.2 Procedimiento del estudio	33
A. Correlación entre los niveles de cortisol libre en sangre y saliva en delfines	
5.2.3 A. Análisis de datos	34
5.2.4 A. Resultados	35

B. Comparación entre los niveles de cortisol en delfines entrenados y no entrenados	
5.2.3 B. Análisis de datos	37
5.2.4. B. Resultados	38
<b>VI. DISCUSIÓN</b>	
6.1 Estudio 1. Efecto del tamaño de la alberca y del tiempo en cautiverio sobre los estados y los eventos de conducta individuales	39
6.2 Estudio 2. Validación de una técnica no invasiva para evaluar la actividad adrenal en delfines	
6.2.A. Correlación entre los niveles de cortisol libre en sangre y saliva en delfines	46
6.2.B. Correlación entre los niveles de cortisol en delfines entrenados y no entrenados	48
6.3 Consideraciones finales	50
<b>VII REFERENCIAS</b>	52
<b>VIII APÉNDICES</b>	
Apéndice I. Historia de vida de los sujetos del estudio 1	63
Apéndice II. Catálogo de las conductas utilizadas	64
Apéndice III. Ambiente anterior y actual (2001) de cada delfín del estudio 1	66
Apéndice IV ay b. Características de los delfinarios en el estudio 1 y 2	67
Apéndice V. Flujograma de las muestras de sangre con relación al periodo de observación	68
Apéndice VI. Gráficas de las frecuencias medias de la emisión de Eventos conductuales por delfín	70
Apéndice VII. Efecto del tamaño de alberca sobre las conductas en siete delfines	71
Apéndice VIII. Efecto del tiempo en cautiverio sobre las conductas en siete delfines	72
Apéndice IX. Historia de vida de los sujetos del estudio 2	74

## I. INTRODUCCIÓN

### 1.1 Antecedentes

Desde hace algunos años ha crecido el interés de los científicos y del público en general hacia los cetáceos, particularmente hacia los delfines. Consecuentemente se ha elevado en todo el mundo el número de delfines en cautiverio así como también el número de lugares para albergarlos, los delfinarios. El aumento de delfines en cautiverio ha dado lugar a dos posiciones antagónicas con relación a la vida de los mismos bajo estas condiciones. Por un lado están los que apuntan a la propuesta de utilizar los recursos naturales sin que se afecten las poblaciones, y por el otro los que juzgan la privación de la libertad de los animales como algo inadecuado.

El hecho es que mantener cetáceos en cautiverio, ya sea con propósitos de investigación o de entretenimiento, es un gran reto. Los niveles de bienestar deben ser adecuados. Deben considerarse las necesidades físicas, sociales y psicológicas de estos animales así como también los aspectos arquitectónicos del lugar. Para ello hay que tener presentes todas las características del encierro y su correspondiente mantenimiento, recurrir a técnicas de entrenamiento adecuadas, implementar aspectos veterinarios necesarios para mantener al animal en buenas condiciones, y considerar la seguridad de las personas que trabajan en las instalaciones (Douaze y Douaze, 1995). Todo esto aunado a la presión ética de mantener a estos animales confinados y la necesidad de evaluar el bienestar, convierte esta situación en una cuestión muy compleja.

Los delfines en cautiverio tienen que enfrentarse a cambios en el ambiente (Dierauf, 1990; Sweeney, 1990). A diferencia de las presiones de selección de los delfines en vida libre, los procesos por los que éstos pasan desde su captura hasta que llegan a su nuevo hábitat, los enfrentan a muchas presiones difíciles de sobrellevar, como son: el cambio de ambiente físico, que implica a su vez ajustarse al poco espacio y a las restricciones de movimiento - ya que son colocados en pequeñas albercas donde carecen de los estímulos sensoriales de su ambiente natural; la nueva forma de

alimentarse; la manera en cómo administran su tiempo; los cambios en la estructura social; y, realizar actividades dirigidas por humanos. La salud de estos animales depende en gran medida de cómo es la etapa de aclimatación ya que el estrés afecta directamente los procesos metabólicos incluyendo la función inmune, lo que trae como consecuencia alteraciones en el comportamiento tanto individual como grupal e interactivo (Dierauf, 1990). Es posible que en algún momento de la estancia en cautiverio sean cambiados de alberca o delfinario y/o de compañeros, lo que aumenta las probabilidades de que en algún período de su cautiverio sufran de cierto grado de estrés. Por lo tanto, es indispensable conocer de manera objetiva cómo se enfrentan los delfines a cambios en el hábitat o incluso a un nuevo hábitat, y así poder determinar el nivel de bienestar de los mismos y tomar decisiones sobre bases científicas; establecer cuáles son las prácticas más adecuadas y proporcionar un entorno adecuado para estos individuos, evitando al mismo tiempo cualquier tipo de presión en las habilidades de adaptación.

## **1.2 Concepto de bienestar animal**

La preocupación del público sobre el bienestar de los animales en cautiverio ha aumentado en los últimos años. La utilización de este concepto nos ayuda a realizar evaluaciones precisas, mejorar las condiciones de los animales, y al mismo tiempo nos proporciona herramientas para tomar decisiones en cuanto a la ética de mantener animales en cautiverio (Broom, 1999).

El bienestar individual se puede definir como "el estado de un individuo en relación con los mecanismos biológicos que utiliza para enfrentarse a cambios en el ambiente" (Broom, 1986), ya sea en vida libre o en cautiverio. Este estado se coloca en una escala en la que se define si el bienestar es mejor o peor con respecto a otra situación o circunstancia y/u otro individuo (Broom, 1999).

En el intento por determinar cuál es el ambiente apropiado para un animal, muchos investigadores coinciden en que éste tiene que permitir la satisfacción de las necesidades del individuo, cuidar y mantener la salud; es importante conocer el estado

de salud de los sujetos pero también es necesario conocer sus estados emocionales, como el sufrimiento y el dolor pues éstos repercuten en la salud (Dawkins, 1990; Broom, 1999). El sufrimiento es un sentimiento subjetivo-negativo que debe reconocerse para prevenirse lo más posible e incluye un intervalo grande de estados emocionales desagradables como el miedo, el aburrimiento, dolor y el hambre, entre otros. El problema es que no se han podido identificar cuáles son los estados de conciencia que acompañan los referidos estados emocionales como el caso del sufrimiento. Es posible que los signos físicos de un animal estén acompañados por estados de conciencia, pero es difícil poder conocerlos de manera directa. Griffin (1992) argumenta que la complejidad conductual implica que el animal está alerta o consciente de lo que hace.

Para determinar el nivel de bienestar de los individuos se pueden utilizar gran variedad de indicadores, como por ejemplo: la longevidad, el éxito reproductivo, el estado de salud, la conducta, y algunos parámetros fisiológicos asociados al estrés, como son la frecuencia cardiaca, niveles de catecolaminas y cortisol, entre otros (Broom y Johnson, 1993; Broom, 1999). Estos indicadores apuntan a conclusiones más directas en algunos casos y más relevantes en otros. Broom y Johnson (1993), Manteca y Deag (1993), Clark *et al.* (1997 a) y Dawkins (1997), sugieren la inclusión de indicadores tanto conductuales como fisiológicos para conocer los mecanismos que utilizan los animales para enfrentarse al ambiente, e identificar de esta manera las prácticas y procedimientos de manejo indispensables para garantizar el bienestar de los mismos; lo que implicaría combinar los métodos de investigación para arribar a conclusiones globales.

Rushen (1991), Mason y Mendl (1993) y Broom y Johnson (1993) han planteado la dificultad para obtener medidas fisiológicas confiables en relación con el estrés, porque muchos de los resultados a los que se llega son contradictorios. Lo cierto es que se han obtenido diferentes respuestas en distintos estudios, que podrían demostrar que las variables utilizadas no son confiables. Tal vez, haya un manejo erróneo de las variables para conocer algo tan complejo, y sería preferible abordar la pregunta de manera

holística, es decir, tratando de entender qué es lo que están haciendo las variables fisiológicas en la vida real de los individuos (Clark *et al.*, 1997 I).

Todos los criterios para determinar el bienestar de los animales se basan en la evidencia de cambios, pero ¿hasta qué punto los cambios ponen en riesgo ese bienestar? Los animales cambian su conducta y su fisiología continuamente para mantener el equilibrio, así es que debe considerarse qué nivel de cambio es importante al momento de determinar el estrés de un individuo (Barnett y Hemsworth, 1990).

Los individuos varían en su respuesta a factores estresantes (Hinkle, 1974), en parte porque hay variaciones individuales en la condición física, en la fisiología y además por la exposición previa (experiencia) al estresor. Sin embargo, la respuesta está influenciada también por parámetros fisiológicos, conductuales, sociales y ambientales (Lyons *et al.*, 1988 a,b; Hinkle, 1974 y Levine, 1993). El componente psicológico del estrés es importante porque las diferencias individuales reflejan diferencias en la percepción o miedo al estresor (Gary, 1982), al igual que la percepción del control o la predicción ante la situación (Friend, 1991). El temperamento representa el nivel de organización psico-biológica que modula el comportamiento (Lyons *et al.*, 1988a), el cual se ve reflejado en sus respuestas conductuales o emocionales. Esta diversidad en las respuestas puede ser entendida como el resultado de distintos mecanismos de adecuación (Dawkins 1998).

La variación individual con relación a las respuestas se puede estudiar desde dos puntos de vista: 1) desde la ecología de la conducta, donde la selección natural favorecerá la coexistencia de distintos patrones de comportamiento y 2) desde la teoría del estrés donde se pone énfasis en el reto que enfrentan los individuos ante los cambios ambientales. Aquí se plantea que los individuos varían sus respuestas fisiológicas y conductuales ante situaciones extremas (Jensen, 1994).



### **1.3 Comportamiento y conductas anormales**

En este estudio, me inclino por definir el comportamiento como cualquier movimiento o pauta realizada por un organismo, considerado como un sistema íntegro en su ambiente (Díaz, 1985). El movimiento corporal y la conducta, en general, reflejan estados mentales (Díaz, 1985) y de salud. Resumiendo, el comportamiento es lo que hace a un animal; y en cuanto al comportamiento de éste se pueden contestar un sinnúmero de preguntas no sólo acerca de qué es lo que hace, sino cuándo, por qué y cómo lo hace (Tinbergen, 1963).

El comportamiento en cautiverio se ve influenciado por la selección natural y artificial, por lo que es difícil especificar un modelo apropiado para medir su comportamiento natural (Newberry, 1995). Para conocer qué tan bien se alimentan y por lo tanto adaptan (a largo plazo) los individuos a distintos ambientes artificiales, las variables fisiológicas ayudan, pero es importante conocer la plasticidad conductual y las reglas que rigen las decisiones conductuales en cautiverio (Newberry, 1995). La relación entre el comportamiento anormal y el bienestar es incierta (Mason, 1991). Algunos comportamientos considerados anormales pueden ser el resultado de la adaptación o aclimatación al cautiverio, otorgando ventajas selectivas a los individuos que lo presentan (Newberry, 1995).

El comportamiento en cautiverio puede afectarse por los mismos factores que afectan al animal en la vida libre: la individualidad del animal, la historia de vida, las características del encierro, la estructura social, el manejo de los animales y quién se relaciona con ellos. La importancia de los grupos sociales y el estrés social es un tema bastante estudiado (Boussiou, 1988; Dantzer, 1990; Mormede, 1990 y Zayan, 1990).

En cautiverio, situación donde los animales no pueden llevar a cabo el comportamiento que acostumbraban realizar y, donde el ambiente está restringido, los individuos tienen limitada la capacidad de alterar la estimulación externa a la que se encuentran expuestos, circunstancia que puede desencadenar la ejecución de conductas anormales y emociones negativas (Mason, 1991; Dawkins, 1997).

La conducta anormal se puede definir como aquella que difiere en patrón, frecuencia y contexto de la exhibida por la mayoría de los miembros de una especie en condiciones que permiten la expresión de todas las conductas posibles (Fraser y Broom, 1990); es una conducta inapropiada que no promueve el éxito, la sobrevivencia, ni la descendencia del individuo (Clark *et al.*, 1997b). Las conductas anormales son de naturaleza diversa, la repetitividad y la inflexibilidad, así como el tipo y el tiempo dedicado a ellas dependen del estímulo y de la especie (Mason, 1991). Clark *et al.* (1997b), dividen las conductas anormales en dos: cualitativas que sólo ocurren en cautiverio (redirigidas, estereotipias) y cuantitativas que son parte del repertorio natural pero están fuera de contexto, y varían en frecuencia y duración. Algunos problemas conductuales relacionados con alteraciones en los sistemas motivacionales de conducta son: estereotipias, conductas redirigidas, pasividad, apatía, agresión, e hiperexcitabilidad.

Una conducta agresiva se puede definir como un acto físico o una acción de amenaza realizada por un individuo que causa dolor; mientras que las conductas agonistas son conductas asociadas a la amenaza, el ataque y la defensa, e incluye comportamientos como escape, pasividad y agresión. Una conducta redirigida, que también entra dentro de las conductas anormales es aquella referida a la dirección del comportamiento, como un acto de agresión, cambiando el blanco primario hacia un blanco distinto (Fraser y Broom, 1990).

Se cree que las estereotipias son el resultado del cautiverio, Ödberg (1978) las define como un patrón conductual que es repetitivo, invariable y sin una función aparente. Existen dos tendencias acerca de su función, una de ellas propone que estas conductas compensan la falta de estimulación del ambiente y la otra expresa que a través de estas conductas el animal descarga estrés y ansiedad (Dantzer, 1986). En animales confinados son consideradas un indicador de bienestar pobre, se dice que a veces son el resultado de un ambiente limitado, y por supuesto el tamaño y la forma del encierro juegan un papel importante en el patrón motor de los individuos (Carlstead, 1991), así como la falta de interacciones y el confinamiento en jaulas no-estructuradas y pequeñas

está asociado generalmente a patrones conductuales estereotipados (Mason, 1991). Sin embargo, Mason (1991) menciona que no todas las estereotipias pueden ser respuesta de un ambiente pobre. Sin quitarle el sufrimiento actual, las estereotipias reducen el estrés para mantener los límites óptimos fisiológicos y psicológicos.

Las mediciones conductuales generalmente son los mejores indicadores de problemas de bienestar (Broom y Johnson, 1993). El cautiverio provoca situaciones de restricción de movimientos, cierto grado de frustración, incapacidad para escaparse a estímulos adversos, falta de estimulación o sobre estimulación y como consecuencia los animales se ven incapacitados para responder de manera adecuada. En estos casos es frecuente la aparición de conductas anormales relacionadas con estrés crónico debido a altos niveles de frustración e impredecibilidad. Algunos comportamientos anormales como la hiperexcitabilidad, las conductas redirigidas y la pasividad son algunos de los indicadores más importantes de problemas de bienestar a largo plazo (Broom y Johnson, 1993) al igual que las alteraciones en la frecuencia de conductas normales (Crocket, 1998).

#### **1.4 Comportamiento de *Tursiops truncatus* en cautiverio**

Dado el número y la diversidad de especies de mamíferos marinos mantenidas en cautiverio, se esperaría encontrar un repertorio amplio de literatura que describiera el comportamiento típico de las especies y reflejara las consecuentes comparaciones conductuales entre especies de cetáceos cautivos, pero éste no es el caso.

Estudios anteriores sobre el comportamiento de delfines en cautiverio han sido útiles para conocer cómo los individuos distribuyen su tiempo, qué conductas despliegan, cómo interactúan socialmente, cómo se relacionan con el humano, cómo se reconocen individualmente, cómo se comunican, y cuál es su capacidad cognitiva (Herman, 1990; Sweeney, 1990; Östman, 1991; Gyax, 1993; Nathason y de Faria, 1993; Sobel *et al.*, 1994; Samuels, 1995; Samuels y Spradlin, 1995; Small y DeMaster, 1995; Galhardo *et al.*, 1996; Marino y Stowe, 1997; Gubins *et al.*, 1999; Sayigh *et al.*, 1999; Pace, 2000). Sin embargo, estos estudios han sido descriptivos y no contestan preguntas

específicas, como por ejemplo, cuáles son los comportamientos que pueden estar relacionados con problemas de confinamiento y de bienestar. Con excepción de un trabajo realizado por Waples y Gales (2002) donde expresan que tanto el factor social, como el cambio en la dinámica del grupo, la competencia, y la dominancia en los cetáceos, específicamente en el delfín nariz de botella, es un estímulo que causa estrés en estos animales en cautiverio y consecuentemente aparecen problemas de salud tan graves que pueden causar la muerte de los individuos. Éste es el único trabajo que demuestra de manera cuantitativa índices conductuales y medidas fisiológicas del estrés y la salud. Ellos coinciden con Sweeney (1990) quien considera la conducta como un indicador del estado de salud de los sujetos y es una herramienta para prevenir situaciones estresantes, enfermedades y muerte.

Se conoce muy poco acerca de la incidencia de conductas anormales como estereotipias, agresiones o conductas redirigidas en delfines. Se sabe que hay ciertas conductas, como el exceso de conductas agresivas, que indican un bienestar pobre (Sweeney, 1990). Ridgway (1990) reporta que en animales recién capturados el nado en círculos es normal, ya que es una reacción de pánico, pero con el tiempo en cautiverio esta conducta decrece.

Gygax (1993) plantea que es muy difícil definir estereotipias en delfines por el comportamiento y el hábitat tan extraño que tienen. Marino y Stowe (1997) sugieren que el nado a favor de las manecillas del reloj puede ser una estereotipia. Pryor y Kang Shallenberger (1991), observaron que golpes con la cabeza, golpes con la cola, saltos laterales y dorsales y el agrupamiento son conductas que pueden ser considerados como signos de agitación, estrés o miedo en *Stenella* spp., en cautiverio. Mientras que Coe y Stuntz (1980) sugieren que algunos comportamientos pasivos como dormir, hundirse y flotar reflejan estados de estrés en delfines moteados mientras están dentro de la red de la pesca del atún.

Kyngdon *et al.* (2003), reportan que aparentemente los programas de nado con delfines no tienen efectos negativos sobre los animales, desde el punto de vista conductual; sin

embargo, Miguel (2004) observó diferencias conductuales en los animales dependiendo del tipo y frecuencia de las actividades que realizaban a lo largo del día dirigidas por humanos.

En cautiverio los síntomas de enfermedad aparecen una vez que la misma está muy avanzada, tal vez porque el hábitat natural de los mamíferos marinos es relativamente hostil para los enfermos o débiles, ya que son presas fáciles de otras especies (Sweeney, 1990). Por esto es necesario detectar a tiempo comportamientos o actitudes sospechosas para prevenir enfermedades y divisar algún tipo de problema.

### **1.5 Problemas de bienestar relacionados con el tiempo que lleva el animal en cautiverio y el tamaño del encierro**

Muchos de los problemas del bienestar de las especies en cautiverio son el resultado de la negligencia por parte de las personas responsables hacia el alojamiento, que provoca cambios en el comportamiento que se pueden relacionar con un bienestar pobre (Galindo, 1995).

Existe una variedad de investigaciones donde se estudian los efectos que acarrea el tamaño del encierro en el patrón conductual. Glade (1984) sugiere que los comportamientos de descanso y sueño en caballos, se ven influenciados por el tamaño del encierro, entre otros factores. Las estereotipias locomotoras en jirafas, parecen estar fuertemente relacionadas con variables ambientales, en particular el tamaño del encierro (Veasey *et al.*, 1996; Bashaw *et al.*, 2001). Kreeger *et al.*, (1996) en cambio, optaron por medir y comprar la cantidad y frecuencia de actividades de los lobos alojados en encierros chicos y artificiales, y en encierros grandes y naturales, y obtuvieron como resultando que el tamaño de los encierros, al parecer, no tiene efecto en la actividad del lobo. Hay que considerar que la muestra fue pequeña y que hubo mucha variación en los datos, por lo que no considero que estos resultados sean definitivos. Crockett *et al.* (2000), concluyen en un estudio realizado con dos especies de macacos que si se aumentaba el tamaño de la jaula no se producen efectos positivos mensurables en cuanto al bienestar psicológico de estas dos especies y a su

vez, que el tamaño de las jaulas no está relacionado de manera significativa con el comportamiento anormal sino con el tiempo que llevan en cautiverio. En una investigación realizada por Korhonen *et al.*, (2000) en zorros, tampoco encontraron diferencias en la conducta en tres tamaños distintos del encierro.

En cuanto a los estudios realizados en delfines, se ha visto que las albercas oblongas y de mayor tamaño crean un ambiente más propicio para criar a la descendencia, aparentemente porque el espacio provee mejor maniobrabilidad (Asper *et al.*, 1988). Basos y Wells (1996) realizaron un estudio para conocer los efectos reflejados en el comportamiento de estas especies al albergarlos en albercas de dos características diferentes. Dos delfines fueron observados en este caso; y es el único estudio donde se reporta de manera cuantitativa el efecto del tamaño y la forma de la alberca en la conducta. En el mismo se concluyó, al igual que Calwell *et al.* (1968) que en algunos casos un confinamiento pequeño, puede conducir a un incremento en la agresión y que en un espacio mayor los delfines nadan más. Algunos delfines, si se les da la opción, prefieren una alberca más grande (Mayers y Overstorm, 1978). Calwell *et al.*, (1968) y Myers y Overstorm (1978) consideran que el tamaño de la alberca es la única variable importante que influye en las diferencias significativas que se observan en el comportamiento; de aquí sale la primera hipótesis de este trabajo. En cambio Shyan *et al.*, (2002) trataron de conocer cuál es el profundidad de la alberca que prefieren los delfines en cautiverio, y se encontraron con que los animales seleccionaron áreas similares al hábitat natural, es decir, aguas con una profundidad moderada (5.49 m) en primer lugar, luego las de baja profundidad (0.25 a 3.49 m) y por último las que tenían un volumen mayor de agua (8.23 m). Insinuando que las albercas más grandes no necesariamente son preferidas por los delfines en cautiverio.

No se han realizado, hasta la fecha, estudios conductuales donde se comparen delfines que lleven mucho tiempo en cautiverio con aquellos que han sido recién capturados. Un delfín que lleva mucho tiempo en cautiverio ha tenido una variedad de experiencias y puede estar sensibilizado o habituado a sus prácticas, mientras que un sujeto recién capturado no conoce las nuevas experiencias ante las que se enfrenta; es decir que la

diferencia entre los delfines que llevan mucho tiempo en cautiverio respecto de los nuevos, radica en la percepción del control y la predicción de lo que va a suceder, cosa que no poseen los recién llegados a la alberca. Aquí es donde surge la segunda pregunta del trabajo ¿el tiempo en cautiverio es un factor que influye en el patrón conductual de los delfines?

### **1.6 Medición de la actividad adrenal como respuesta en delfines**

Algunos de los indicadores fisiológicos que se han sugerido para evaluar el estado de estrés crónico incluyen la medición de niveles hormonales de ACTH y glucocorticoides (Palme *et al.*, 2000), niveles sanguíneos de glucosa y conteo de leucocitos (Knol, 1991), entre otros.

A Cannon se le atribuye el reconocimiento de la conexión entre la actividad adrenal con situaciones que alteran la homeostasis, pues fue quien identificó la conexión entre el sistema nervioso simpático y la corteza adrenal. Seyle (1973) desarrolló la teoría del Síndrome de Adaptación General, que se basa en el funcionamiento de la glándula adrenal en respuesta a estímulos. Este síndrome tiene 3 etapas: 1) Fase de alarma y reacción, que involucra la respuesta inmediata del sistema nervioso simpático ante una estimulación aguda (*fight or flight*); 2) Fase de resistencia o habituación, que se presenta cuando hay una estimulación de tipo crónico y existe la activación del sistema hipotálamo-hipófisis-corteza adrenal (H-H-A), cuyas implicaciones pueden llevar al organismo a un estado de adaptación y resistencia; y 3) Fase de agotamiento, que es la última fase del síndrome, en donde la respuesta del individuo ante un estímulo crónico, sobrepasa los niveles de resistencia y trae como consecuencia el agotamiento de la energía de adaptación y finalmente la muerte.

La función de las respuestas ante situaciones demandantes es regresar al cuerpo al equilibrio bajo condiciones de estrés corto y agudo. Cuando la duración del estrés es limitada, los efectos fisiológicos no tienen consecuencias adversas, mientras que el estrés crónico puede provocar respuestas que conlleven a patologías y al estado de agotamiento que sugiere Seyle (1973).



El cortisol, glucocorticoide principal en mamíferos, es producido y secretado por la glándula adrenal e interviene en la regulación del metabolismo de las proteínas, grasas y carbohidratos; en el equilibrio electrolítico; en la distribución del agua en el cuerpo; y en la regulación de la tensión sanguínea y de las acciones inmuno-supresora y antiinflamatoria. Como respuesta a distintos estímulos (estrés, ejercicio, reproducción ritmo diurno, baja glucosa en sangre), la corteza cerebral estimula al hipotálamo para que segregue el factor liberador de corticotropina (CRF), que produce a su vez, la liberación de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) desde el lóbulo anterior de la glándula pituitaria, provocando la síntesis de glucocorticoides. La determinación de cortisol se ha usado para valorar la función adrenocortical como respuesta a estímulos. En el individuo normal el cortisol participa en un ciclo de retroalimentación negativa, inhibiendo la liberación de ACTH por la pituitaria anterior y con un ritmo circadiano y anual.

Los cetáceos exhiben la respuesta básica de estrés al igual que el resto de los mamíferos. Se han realizado algunos estudios para conocer el efecto general del estrés en estos animales, la mayoría de ellos están basados en determinar los niveles de sustancias en sangre y hormonas relacionadas al estrés (Orlov *et al.*, 1988).

También se han hecho estudios para medir la respuesta del estrés en cetáceos, la mayoría basados en respuestas adrenocorticales y efectos de la tiroides en el balance hormonal. Con respecto a esto, se observó que hay una elevación de los niveles de cortisol en cetáceos sujetos a situaciones demandantes, como captura, manejo y cautiverio, pero estas elevaciones parecen ser modestas si se comparan con las de otros mamíferos bajo situaciones similares (St. Aubin y Geraci, 1990). St. Aubin y Geraci (1990) notaron que también hay un decremento en los niveles de eosinófilos y de hierro en plasma y un aumento en la glucosa circulante en situaciones que podrían provocar estrés. Otro punto importante es el aumento de aldosterona como resultado de situaciones demandantes, que no es típico de los mamíferos terrestres; la aldosterona ayuda a la reabsorción de agua y sodio.



Los cetáceos pueden alterarse debido al estrés de la captura o de una maniobra. Varios estudios han contribuido al conocimiento de las respuestas fisiológicas al estrés como resultado de la captura y estimulación de ACTH con estimulación exógena (Thompson y Geraci, 1986; St. Aubin y Geraci, 1989; St. Aubin *et al.*, 1996) aunque la metodología utilizada para esta estimulación debe aún estudiarse con cuidado ya que varios delfines murieron en un estudio realizado; no se conoce si fue la dosis, o si el estado de los individuos no soportó la estimulación. Otriz y Worthy (2000) sugieren que el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal está presente en estos mamíferos marinos y que el tiempo de captura corto y el tiempo de inmovilización, (> a 20 min) no induce la respuesta al estrés que dispare los niveles de cortisol.

Thompson y Geraci (1986) encontraron que los delfines manejados en cautiverio durante años tenían una respuesta diferente a los que llevaban menos tiempo en esta situación. Los primeros tenían una respuesta al estrés después de las capturas más tranquilas.

St Aubin *et al.* (1996) encontraron que existe una diferencia en la concentración de cortisol entre los delfines semi-domesticados entrenados para presentar la aleta caudal en una muestra, y aquellos de vida libre. Los primeros muestran una concentración menor. No se encontraron diferencias sexuales, ni por edad ni por estación del año. Aunque si vieron que la posición social de las hembras en vida libre aparentemente tiene un efecto en el cortisol.

Aunque ya se habían descrito cambios circadianos y estacionales en los niveles de cortisol en odontocetos, no se había realizado un estudio tan formal como el de Suzuki *et al.* (2003), quienes reportan que en el delfín nariz de botella *Tursiops aduncus*, el cortisol en plasma tiene fluctuaciones circadianas como en el resto de los mamíferos terrestres diurnos: los niveles fueron más bajos a las 18:00 h y mayores temprano en la mañana. También encontraron que existe un ciclo anual con fluctuaciones cada cuatro meses en machos de *Orcinus orca*, los niveles más altos se encontraron en invierno y

los más bajos en verano. En la estación de frío existe una mayor demanda de energía y esto explica los altos niveles de cortisol en esta época del año.

Existe un estudio realizado por St. Aubin y Geraci (1989) en cetáceos donde evalúan a seis belugas en el proceso de aclimatación durante 10 semanas. En ese estudio muestran cómo la manera de obtener las muestras puede causar por sí sola cambios en los valores. La captura elevó los niveles de cortisol y aldosterona con cambios subsecuentes en glucosa, hierro, linfocitos y eosinófilos. La actividad asociada a la captura liberó potasio intramuscular, creatinina, creatinin-kinasa, entre otros. Una vez en cautiverio, los valores se restablecieron rápidamente pero aparecieron otros cambios; se observaron así aumentos en los triglicéridos y en el colesterol, tal vez debido al cambio de dieta, hubo también un decremento en la masa de las células rojas y hierro como respuesta adaptativa, debido a una demanda menor de oxígeno y de actividad.

En el Cuadro 1 se muestran los valores de la concentración de cortisol encontrados para *Tursiops truncatus* en sangre.

Cuadro 1. Recopilación de niveles de cortisol (ng/mL) en sangre reportados en *Tursiops truncatus* de 1970 - 2003.

Autor	Nivel de cortisol ng/mL	Observaciones
Medway <i>et al.</i> (1970)	24	Maniobra, 6 delfines cautiverio
Thompson y Geraci (1986)	12.7	10 min después de la captura tranquila
	21.3	30 min fuera del agua
	36	1 h fuera del agua
Orlov <i>et al.</i> (1988)	32.70	
St. Aubin <i>et al.</i> (1996)	27	Vida libre
	18	Semidomesticados: entrenados
Suzuki <i>et al.</i> (1998)	3.8	Cautiverio
Hernández (1998)	2.1	Después de 3 h
	0.8	Después de 18 h
Ortiz y Worthy (2000)	28	Vida libre
Waples y Gales (2002)	29.77	Durante periodo de enfermedad
Suzuki <i>et al.</i> (2003)	7.8	3:00 h entrenados
	2.7	18:00 h entrenados

## 1.7 Técnicas no invasivas para evaluar la actividad adrenal

Uno de los problemas en la determinación del bienestar de los animales a través de valores fisiológicos es que la recolección de muestras puede ser por sí sola estresante, por lo que es necesario utilizar técnicas no invasivas para su obtención.

La medición de cortisol es un indicador de la actividad adrenal (Broom y Johnson, 1993). Esta hormona se puede cuantificar en sangre, orina, heces, leche y saliva (Möstl y Palme (2002). El cortisol, que es un esteroide, puede difundir a las células acinares de la parte secretoria de la glándula salival ya que es soluble en los lípidos de la membrana celular (Vining y McGinley, 1987). La fracción que difunde a través de la membrana se encuentra libre de la globulina transportadora. El cortisol en plasma puede encontrarse "libre" o unido a una proteína transportadora, esta globulina se puede saturar, dando como resultando un incremento en el cortisol libre en plasma, lo cual se ve reflejado en la saliva (Parrott *et al.*, 1989). En humanos, después de un minuto de haber inyectado cortisol vía intravenosa, este se registró en saliva (Vining y McGinley, 1987). Sin embargo, cuando se estimularon a perros no se encontró un efecto medido en cortisol salival de esta manipulación después de 4 minutos (Kobelt *et al.*, 2003). La relación de la concentración de cortisol en sangre y saliva en humanos que encontraron Vining y McGinley (1987) presentó un intervalo entre 0.1 – 1%.

La determinación de cortisol "libre" en saliva puede ser un método no invasivo y confiable en humanos y animales (Stahl y Dörner, 1982; Laudat *et al.*, 1988; Vining y McGinley, 1987). Este glucocorticoide se ha validado en saliva de humanos (Walker *et al.*, 1978; Riad-Fahmy *et al.*, 1982; Vining *et al.*, 1983a y 1983b), de borregos (Fell *et al.*, 1985; Fell y Shutt, 1986), de cerdos (Parrott *et al.*, 1989), de caballos (Pell y McGreevy, 1999), de primates (Tiefenbacher *et al.*, 2003) y de perros (Beerda *et al.*, 1996, Kobelt *et al.*, 2003), entre otros. En estos estudios se han encontrado niveles de cortisol menores, pero proporcionales a los que se encuentran en plasma.

Encontré publicaciones donde se cuantifica el nivel de cortisol en saliva en delfines (Hernández Ballesteros, 1998; Miguel, 2004) (Cuadro 2). Sin embargo, aún no existe

una validación de esta técnica, por lo que creo indispensable realizarla. De esta manera se puede recurrir a la técnica para obtener las muestras de manera no invasiva y establecer su relación con el nivel de cortisol en sangre, para poder utilizar este procedimiento y aplicarlo en la evaluación del nivel de bienestar de estos animales en cuativerio.

Tabla 2. Recopilación de niveles de cortisol (ng/mL) en saliva reportados en *Tursiops truncatus*.

Autor	Nivel de cortisol ng / mL	Observaciones
Hernández Ballesteros (1998)	2.5	9:30 h *
	1.0	17:30 h*
Miguel (2004)	2.41	Rango en delfines entrenados
	4.56	

\* = Tal vez entrenados

Cuando se quiere determinar la concentración de una hormona mediante una técnica que no ha sido utilizada con anterioridad, el primer paso es validar este nuevo método de determinación. La validación o control de calidad, es un conjunto de procedimientos que nos permite evaluar la calidad de cualquier análisis cuantitativo (Rodas, 2005). En este caso es necesario conocer la relación entre los niveles de concentración de cortisol en sangre y en saliva en delfines y si el comportamiento es parecido a otras especies donde los niveles de cortisol salivales son menores pero proporcionales a los que se encuentran en plasma.

### 1.8 Relación entre conductas anormales y la concentración de cortisol

La utilización de mediciones conductuales junto con mediciones fisiológicas, como el cortisol, para determinar el estado de los animales y conocer cómo se enfrentan los animales a cambios ambientales (Manser, 1992; Broom y Johnson, 1993), ha tenido resultados positivos en muchos casos (Cook *et al.*, 2000).

Cuando los animales se enfrentan a alteraciones en el ambiente, la adaptación a este cambio involucra una cascada de respuestas conductuales, bioquímicas y fisiológicas

(Barnett y Hemsworth, 1990; Clark *et al.*, 1997b). La aparición de conductas anormales en situaciones de estrés sugiere una relación entre el comportamiento y las respuestas fisiológicas al estrés.

A continuación presento una revisión de algunos estudios donde se relaciona el comportamiento exhibido por los animales con los niveles de cortisol. En felinos Carlstead *et al.* (1993) encontraron que la disminución de conductas de exploración es un indicador de una actividad elevada de respuestas adrenocorticales crónicas. En perros, bajo condiciones de estrés agudo, no se encontró una relación entre algunas variables fisiológicas, la frecuencia cardíaca y el cortisol salival con la conducta (Beerda *et al.* 1997). Tampoco se ha encontrado una relación entre estereotipias y los niveles de cortisol en plasma en caballos (Redbo, 1993; Pell y McGreevy 1999), ni en cerdos (Terlouw *et al.*, 1991). McLeod *et al.*, (1995) relacionaron los niveles de cortisol urinario con el comportamiento social en lobos y sus resultados sugieren que la variabilidad estacional de la agresión está asociada a los cambios estacionales del cortisol. Wielebnowski *et al.* (2002) encontraron en leopardos, que la exhibición de comportamientos automutilantes está relacionada con niveles de cortisol fecal altos. Redbo (1993) muestra que si se amarran los becerros después de un periodo de pastoreo aumentan las conductas estereotipadas y aumenta el nivel de cortisol en la orina. En hienas se ha visto un aumento de cortisol relacionado con el aumento de las conductas agonistas (Goymann *et al.*, 1999). Por el contrario, Tiefenbacher *et al.* (2000, 2004), demostraron en primates, que los individuos con una historia de automutilación presentaron niveles más bajos de cortisol en plasma. Como se puede observar, existen pocos trabajos donde se correlacionen las conductas anormales y los niveles de cortisol, y los resultados reportados son muy distintos entre sí. Aunque todos los trabajos coinciden que la manifestación de conductas anormales se asocian a procesos fisiológicos. Sin embargo, resulta necesario generar más información acerca de la relación que existe entre las respuestas conductuales y neuroendócrinas de un individuo cuando se enfrenta a cambios en el ambiente.

Varios autores han medido algunos valores fisiológicos relacionados con el estrés en *Tursiops truncatus*, sin embargo, no se han relacionado con el comportamiento (Medway y Geraci, 1964; Geraci y Medway, 1973; Thompson y Geraci, 1986; Orlov *et al.*, 1988; Asper *et al.*, 1989; St. Aubin y Geraci, 1989; St. Aubin *et al.*, 1996; Hernández-Ballesteros, 1998; Suzuki *et al.*, 1998 y 2003; Otriz y Worthy, 2000 y Waples y Gales, 2002).

## II. JUSTIFICACIÓN

Con el aumento en el número de delfinarios en el país y la presión del público por el mantenimiento de los animales en cautiverio con un alto nivel de bienestar, resulta necesario conocer de qué forma los delfines se enfrentan a este nuevo ambiente. En el presente estudio se pretende conocer cómo influye el tamaño del encierro y el tiempo que llevan los animales en cautiverio en el comportamiento de la especie *Tursiops truncatus*. Paralelamente se medirán las conductas anormales en delfines en situación de cautiverio, conociendo que no existen estudios acerca de este tema en particular. En esta especie, la individualización de este tipo de conductas no es fácil, ni en vida libre ni en cautiverio, por lo que es importante realizar estudios cuantitativos encaminados a la obtención de resultados a este respecto. De esta manera se podrán sugerir formas de manejo e intentar encontrar indicadores de bienestar de los delfines y proveer una base para trabajos futuros con estos animales en vida libre.

Resulta importante que los métodos utilizados para ayudar a determinar el bienestar de los individuos no causen por sí solos alteraciones en los datos obtenidos, resultando indispensable aplicar métodos no invasivos. En este estudio también intentaré validar la medición de la concentración de cortisol en saliva, en animales entrenados para este fin, es decir, conocer si existe una relación entre la concentración del cortisol salival y el obtenido a partir de sangre.

### III. HIPÓTESIS Y PREDICCIONES

#### Hipótesis y Predicción 1

El tamaño de la alberca influye en las pautas de comportamiento exhibidas por los delfines en cautiverio, por lo tanto, se espera encontrar diferencias significativas en los despliegues conductuales dependiendo del tamaño de la alberca.

#### Hipótesis y Predicción 2

El tiempo que un animal lleva en cautiverio es un factor que influye en la manera en que éste se enfrenta a los cambios en el ambiente, como por ejemplo, al cambio de compañeros del encierro o al cambio de alberca. Por lo tanto, se esperan diferencias en las pautas de comportamiento emitidas por los delfines en relación con el tiempo que llevan en cautiverio.

#### Hipótesis y Predicción 3

Los niveles de cortisol libre en plasma se relacionan con las concentraciones de esta hormona en saliva. Por lo tanto, las trazas de cortisol en saliva y el análisis de las muestras tomadas de manera casi simultánea de esta hormona en sangre tendrán una correspondencia en el delfín nariz de botella.

#### Hipótesis y Predicción 4

Los métodos utilizados para obtener las muestras se ven reflejados en los niveles de cortisol por lo que se puede predecir que los niveles de esta hormona obtenidos de los delfines entrenados, serán significativamente menores que los que fueron sometidos a maniobras para obtener las muestras.



#### **IV. OBJETIVOS**

1. Comparar el efecto del tamaño de las albercas sobre los estados de conducta y la frecuencia de los eventos conductuales, así como obtener valores de cortisol durante esta etapa del estudio.
2. Evaluar el efecto del tiempo en cautiverio sobre la proporción del tiempo en diversos estados de conducta y la frecuencia de los eventos conductuales individuales y sociales.
3. Validar la técnica para medir la concentración de cortisol en saliva, relacionado los valores de cortisol libre en sangre con los valores de esta hormona libre en saliva.
4. Comparar los niveles de cortisol en plasma y en saliva que presentan los delfines tanto entrenados como no entrenados.

## V. MATERIAL, MÉTODOS Y RESULTADOS

Para probar las hipótesis y cumplir con los objetivos del presente trabajo se realizaron dos estudios: 1) Efecto del tamaño de la alberca y del tiempo en cautiverio sobre los estados y los eventos de conductas individuales y sociales, y 2) Validación de una técnica no invasiva para evaluar la actividad adrenal en delfines.

### 5.1 ESTUDIO 1. EFECTO DEL TAMAÑO DE LA ALBERCA Y DEL TIEMPO EN CAUTIVERIO SOBRE LOS ESTADOS Y LOS EVENTOS DE CONDUCTAS INDIVIDUALES Y SOCIALES

#### 5.1.1 Sujetos, localización y manejo

Para la realización de este estudio se utilizaron siete delfines de la especie *Tursiops truncatus* en cautiverio, dos machos (Tritón y Baxal) y cinco hembras (Beta, Juna, Ximena, Coca e Isis). Estas toninas fueron capturadas en el sureste de la República Mexicana y cada una tiene una historia de vida distinta (Apéndice I). El trabajo se realizó en tres delfinarios en la Ciudad de México en el 2001. Dos de ellos se encuentran en Atlantis en la 3ª sección de Chapultepec, y otro en Aragón localizado en el interior del Bosque con el mismo nombre (Figuras 1, 2 y 3 respectivamente).

Los delfinarios son administrados por la misma compañía (CONVIMAR), por lo que el mantenimiento de los ambientes y el manejo de los animales es similar, es decir, la calidad del agua, la calidad del pescado que se utiliza como alimento, así como el tipo de entrenamiento al que son sometidos los animales, etc. Las diferencias entre los delfinarios radican principalmente en las características de las albercas, el número de actividades dirigidas por humanos, los entrenadores y la individualidad de los animales.



Figura 1. Imagen del Delfinario 1. Tamaño de alberca GRANDE, con una capacidad de 1600m<sup>3</sup>. Se observaron a Tritón, Beta, Baxal y Ximena.

Los delfines permanecen todo el tiempo en la misma alberca donde pueden nadar libremente; generalmente tienen objetos con los que pueden interactuar, como bastones de hule espuma, pelotas y aros de distintos colores y tamaños. Las actividades dirigidas por humanos comienzan a las 9:00 h y finalizan a las 19:00 h, excepto un día a la semana que los animales descansan y reciben comida sin ser recompensados por realizar alguna actividad específica. Las actividades dirigidas van desde entrenamientos, espectáculos al público, delfino-terapias, nados y buceos con humanos. Cada actividad dura aproximadamente una hora y el número de actividades que realizan diariamente varía entre 2 y 5, el resto del día los animales administran su tiempo. La alimentación, en todos los delfinarios, consta principalmente de cápelin, sierra, arenque y calamar. Consumen aproximadamente de 8 a 10 Kg, que se reparten a lo largo del día. Diariamente se les suministra vitamina A, B y C y una vez a la semana un complemento vitamínico: MAZAURI<sup>MR</sup>. En ocasiones se les da carbono activado y Melox<sup>MR</sup>. En caso de enfermedad, el veterinario determina el tratamiento a seguir.



Figura 2. Imagen de la alberca 2, CHICA (340 m<sup>3</sup>), se observaron a Juna y Ximena.



Figura 3. Imagen de la alberca 3, CHICA (122 m<sup>3</sup>), se observaron a Coca e Isis.

### 5.1.2 Procedimiento del estudio

Se realizó un registro observacional piloto a través de un muestreo de tipo *ad libitum* (Martin y Bateson, 1993; Lehner, 1998) durante 10 días, 5 h por día con un horario de 7:00 a 19:30, sumando un total de 50h. Evitando las horas en que se llevaban a cabo actividades dirigidas por humanos como alimentación, entrenamiento, espectáculos, maniobras, nados, buceos y terapias.

A partir de estas observaciones y de un etograma elaborado por Muller *et al.* (1998), se adaptó un catálogo de conductas ejecutadas por los delfines en cautiverio donde se

enlistan y describen los comportamientos que se registraron en el presente estudio (Cuadro 3, y Apéndice II). Los estudios conductuales se realizaron inmediatamente después de que los animales fueron colocados en un nuevo ambiente o cuando se hicieron cambios en la constitución de la pareja en una alberca. No hay registro de los animales antes de estos cambios.

Cuadro 3. Listado de pautas de comportamiento que fueron registradas durante el estudio.

<b>Comportamiento</b>	<b>Descripción</b>
<b>ESTADOS</b>	
Nado	Desplazamiento de un delfín, movimiento del cuerpo a través del agua, en donde la cabeza se traslada antes que el resto del cuerpo
Estacionario	El delfín se encuentra detenido sin desplazarse, generalmente se encuentra en la superficie
<b>EVENTOS</b>	
<b>Individuales</b>	
Salto	Movimiento del cuerpo hacia el aire. La posición en la que el delfín vuelve al agua determina el tipo de salto
Golpe	El delfín golpea la superficie del agua con alguna de sus aletas
Intervalo continuo de conducta (bout)	Cada vez que el delfín cambia de estado
Sonido Espiráculo	El delfín produce un sonido o soplido proveniente del espiráculo
Vertical	El delfín sale del agua en posición vertical ayudado de la aleta caudal y entra de la misma manera
Interacción con objetos	Interactúa con objetos que se encuentran en la alberca
Rascarse	Frotación de cualquier parte del cuerpo con las paredes o bordes de la alberca o con algún otro objeto
Morder objeto	El delfín muerde un objeto que se encuentra en la alberca o alguna parte de la misma.
Masturbación	El delfín se masturba con un objeto que se encuentra en la alberca.
<b>Sociales</b>	
Persecución	Un individuo sigue a otro de manera apresurada por la alberca
Huída	Un individuo se aleja ante el acercamiento de otro
Morder	Un individuo lanza una mordida a otro
Roce	Un individuo roza a otro

Una vez elaborado el catálogo de conductas, se realizó una combinación de muestreos de barrido y conductuales (Martin y Bateson, 1993; Lehner, 1998) con el fin de obtener información sobre el comportamiento individual y social de las toninas. Se llevaron a cabo muestreos de barrido con registros instantáneos cada 5 minutos. Este tipo de registros fue utilizado para calcular la proporción del tiempo en los diferentes estados de conducta (Lehner, 1998). Entre los muestreos de barrido se realizaron muestreos de tipo conductual (Martin y Bateson, 1993; Lehner, 1998) para conocer la frecuencia de eventos conductuales emitidos por cada delfín y el número de cambios de estado (bouts). Cada delfín fue registrado sólo una vez, menos uno que se observó dos veces ya que durante el periodo del estudio este animal fue cambiado de ambiente y de pareja, y se aprovechó la ocasión para tener registros del mismo animal en distintas circunstancias. Las observaciones se realizaron, sin un horario fijo, de lunes a viernes desde las 7:00 hasta las 19:00 h, dos terceras partes de las mismas se llevaron a cabo durante el turno matutino (7:00 – 13:59 h) y una tercera parte en el turno vespertino (14:00 – 19:30 h), sin hacer observaciones durante las horas en que los animales ejecutaban actividades dirigidas por humanos. En el Cuadro 4 se muestra el calendario de observaciones y número de horas totales de observación por animal. El delfinario y la pareja con la que se encontraba el animal antes y durante el estudio del estudio se muestra en el Apéndice III; por último, en el Apéndice IVa se muestran las características de los delfinarios.

Cuadro 4. Cronograma de observaciones por parejas donde se incluye el resumen de las observaciones por individuo.

Delfines	Fecha	Días totales	# total de barridos	Tiempo total (h)
<b>Pareja 1</b>				
Tritón	11 sep-9 oct	22	562	46.833
Beta	11 sep-29 sep	17	421	35.083
<b>Pareja 2</b>				
Juna	11 sep-05 oct	20	501	41.75
Ximena / J	11 sep-05oct	20	501	41.75
<b>Pareja 3</b>				
Baxal	18 oct-27 oct	10	552	46
Ximena / B	18 oct-27oct	10	552	46
<b>Pareja 4</b>				
Coca	16 nov-26 nov	11	500	41.66
Isis	16 nov-26 nov	11	500	41.66

Con el fin de determinar los niveles de cortisol circulante durante el estudio se tomaron muestras de sangre a través de una maniobra. La hora en que se tomaron las muestras varió. En algunas ocasiones éstas se realizaron en el día en que se llevaban a cabo observaciones. En el Apéndice V se muestra en qué momento del estudio conductual se tomaron las muestras de los 7 sujetos.

Una maniobra es el procedimiento que se utiliza para sacar a un delfín del agua. A grandes rasgos, consiste en acorralar al sujeto en una zona de poca profundidad con la ayuda de una red, cuando el delfín está bastante tranquilo y sale a respirar, se jala fuera del agua y se coloca sobre una camilla de lana, que se pone sobre un colchón de hule espuma forrado con plástico. Si el animal se mueve mucho es necesario que varias personas lo sujeten para poder realizar las actividades programadas, que van desde inyectar medicinas, muestreo de mucosas, lectura de microchips, toma de sangre o preparación para transportar al animal a otra alberca o delfinario. Las muestras de sangre se obtuvieron únicamente durante las maniobras, por lo que no se pudieron calendarizar ya que se dependía completamente de las circunstancias y del personal.

Se obtuvieron 15 mL de sangre de la aleta caudal, ésta fue centrifugada a 3000 r.p.m. durante 5 minutos para separar el suero que fue congelada a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta que ser analizada (Thompson y Geraci, 1986; St. Aubin *et al*, 1996). Se determinaron los niveles de cortisol a través de la prueba de RIA, modificada de Parrott *et al*. (1989).

Para cuantificar el cortisol, se utilizó un anticuerpo de cortisol 3-CMO de Chemicon. El anticuerpo se caracteriza por ser de alta especificidad y presenta reacción cruzada con hidrocortisona. El trazador fue Hidrocortisona [ $1,2,6,7\text{-}^3\text{H(N)}$ ] 70-100 Ci/mmol, 1 mCi/mL Etanol de NEN Life Science products, Inc. La curva estándar se realizó con Hidrocortisona (200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25 ng/mL de hormona fría).

### 5.1.3 Análisis de datos

Las variables independientes que se tomaron en cuenta para este trabajo se clasificaron en dos grupos.

El primero, se refiere al volumen de agua que contienen las albercas:

- a) Grande: entre los 1500 y los 1600 m<sup>3</sup>, y
- b) Chica: entre los 225 y los 340 m<sup>3</sup>

El segundo, se refiere al tiempo que llevan los animales en cautiverio:

- a) Viejos: Más de 5 años, y
- b) Nuevos: Menos de un año

Las conductas fueron consideradas las variables dependientes. Los estados se agruparon en: nado, estacionario, nado en sentido antihorario y horario, nado solo, social y nado con objeto; y los eventos se agruparon en: a) individuales: interacción de objetos, redirigidas, excitabilidad y exploración; y b) sociales: agresión, evasión, afiliación e intervalos continuos de conducta (bouts) (Apéndice II).

En una primera aproximación, se calcularon dos índices conductuales por cada delfín estos ayudaron a determinar la proporción del tiempo en que los animales se encontraban en un estado conductual, y la frecuencia de emisión de eventos.

Se calcularon de la siguiente manera:

- a) proporción total en estado conductual = # barridos en edo X / # de barridos totales
- b) frecuencia de emisión de eventos = # veces del evento / horas totales de registro

Se realizó un análisis de cúmulos con el programa Multivariate Statistic Package® (MVSP) 2001, donde una matriz de distancias se resuelve en un dendrograma que muestra cómo se agrupan los individuos a partir de la similitud de su patrón conductual.

Para esto fue necesario normalizar los datos:  $X_j^m = (X_{ij} - \bar{X}_j) / \sigma_j$ , posteriormente calcular la diversidad de la sumatoria de todos los estados y la de los eventos por cada delfín por separado:  $D = 1 / (\sum de P^2)$  donde  $P = (\text{Frecuencia media de la conducta} / \text{el total de las conductas})^2$ . Finalmente se construyó una matriz de distancias:

$$D_{xy} = \sqrt{\sum_{j=1}^n (X_{xj}^n - X_{yj}^n)^2}$$

, para que el programa pudiera construir el árbol. También se utilizó la prueba no paramétrica de Wilcoxon-Mann-Whitney para comparar las tendencias centrales de los estados y eventos de los individuos entre dos muestras no relacionadas. Se corrió una para conocer si existen diferencias en el despliegue conductual entre los dos tamaños de alberca (Hipótesis 1) y otra para comparar el tiempo que llevan en cautiverio (Hipótesis 2). Para conocer si a lo largo que transcurre el tiempo en su nueva condición (en el momento que se empezaron las observaciones) cambian las conductas emitidas, se realizó un Análisis de Varianza (ANOVA), donde se comparó el patrón conductual emitido en la primera mitad con respecto al emitido en la segunda del tiempo total de observaciones por delfín. En cuanto a la concentración de cortisol que se encontró en sangre, se realizaron correlaciones lineales simples y cuadráticas para conocer si existe una relación entre la conducta y los niveles de cortisol circulante. Este análisis estadístico se llevó a cabo con el programa de cómputo Statistica®, 6.0. En todas las pruebas se tomó un intervalo de confianza del 95% ( $p < 0.05$ ) (Siegel y Castellan, 2001).

#### 5.1.4 Resultados

**Los patrones conductuales encontrados para cada delfín los describo a continuación:**

El delfín Beta, que se encontraba alojada con Tritón, distribuyó el 90.73% del tiempo en estado de nado, mientras que al comportamiento estacionario le dedicó únicamente el 9.27%. El 99.21% del tiempo que nadó lo realizó en sentido antihorario (en contra de las manecillas del reloj), mientras que el 0.79% lo hizo en sentido horario. Del total del tiempo que nadó, la mayor parte (48.69%) nadó junto con su compañero de alberca, el 41.62% nadó con un objeto en una aleta lateral y el 9.69% lo hizo sola. Tritón, pareja de Beta, dedicó el 89.14% al nado y 10.86% al estado estacionario. El 98.43% nadó de manera antihorario mientras que el 1.57% lo realizó en sentido horario. Nadó la mayor parte del tiempo solo (62.88%) y con su pareja el 37.12%. Este delfín no nadó con ningún objeto.



La segunda pareja estuvo constituida por Juna y Ximena. Juna nadó el 99.80% del tiempo y al estado estacionario le dedicó el 0.20%. Nadó en sentido antihorario únicamente el 0.20% y en sentido horario 99.80%. Efectuó el comportamiento de nadó sola el 97.60%, con su compañera el 2.40%. En cambio Ximena distribuyó el 55.69% de su tiempo nadando y el 44.32 en estado estacionario. El 91% del tiempo en estado de nado lo realizó en sentido antihorario y el 8.96% en sentido horario. De la proporción del tiempo que le dedicó al nado, el 95.7% lo hizo sola y el 4.3% con Juna.

Baxal y Ximena conformaron otra pareja. Baxal dedicó el 84.06% de su tiempo al nado y el 15.94% al estado estacionario. Nadó en sentido antihorario el 99% y el resto (1%) en sentido horario. El 70.26 % del nado lo hizo solo y el 29.74% con su compañera. Por otro lado Ximena distribuyó el 86.23% de su tiempo nadando mientras que al estado estacionario le dedicó únicamente el 13.76%. El 99% del tiempo nadó en sentido antihorario y el 1% en sentido horario. Nadó solc el 71% y el 29% nadó con su compañero.

En la pareja de Coca e Isis, Coca distribuyó el 44.6% de su tiempo nadando y el 55.4% es estado estacionario. Nadó el 87.44% en sentido antihorario y el 12.56% en sentido horario. Del tiempo total que estuvo nadando el 68.16% lo hizo sola y el 31.84% con su compañera. Por último Isis dedicó el 96.2% de su tiempo al nado y el 9.8% al estado estacionario. Nadó más tiempo en sentio antihorario (90.22) y menos al sentido horario (9.8%). Del tiempo total que nadó, el 73.81% lo hizo sola, el 14.76% junto con Isis y el 11.43% son un objeto en una aleta lateral.

En el Cuadro 5, se muestra la frecuencia media de ejecución de los eventos conductuales por delfín agrupados por categorías. En el Apéndice VI se pueden consultar las figuras donde se muestran las frecuencias medias desglosadas por conductas individuales.

Cuadro 5. Frecuencia media de emisión de eventos conductuales ( $\pm$  ES) agrupadas en categorías, por cada delfín durante el periodo de observación.

Delfín	Individuales					Sociales		
	Cambio de estado	Interacción Con objetos	Exploración	Excitabilidad	Redirigidas	Agresión	Evasión	Afiliación
Beta	2.86 $\pm$ 0.55	2.36 $\pm$ 0.82	2.77 $\pm$ 0.57	2.36 $\pm$ 0.83	1.15 $\pm$ 0.51	0.24 $\pm$ 0.11	0.11 $\pm$ 0.11	0.63 $\pm$ 0.18
Tritón	2.94 $\pm$ 0.59	0	2.82 $\pm$ 1.06	2.06 $\pm$ 1.44	7.13 $\pm$ 6.13	0.46 $\pm$ 0.42	0	1.24 $\pm$ 0.36
Juna	0.57 $\pm$ 0.22	0	0.40 $\pm$ 0.11	1.73 $\pm$ 0.35	0	0.10 $\pm$ 0.04	0.01 $\pm$ 0.01	0.56 $\pm$ 0.23
Ximena / J	3.43 $\pm$ 0.60	4.02 $\pm$ 1.05	2.74 $\pm$ 0.59	6.81 $\pm$ 1.56	10.66 $\pm$ 4.14	0.12 $\pm$ 0.20	0.01 $\pm$ 0.01	0.77 $\pm$ 0.24
Baxal	2.85 $\pm$ 0.46	0.69 $\pm$ 0.68	9.65 $\pm$ 1.41	1.50 $\pm$ 0.47	2.86 $\pm$ 0.78	21.87 $\pm$ 4.6	2.54 $\pm$ 1.37	4.10 $\pm$ 0.96
Ximena / B	3.53 $\pm$ 0.48	2.65 $\pm$ 0.91	16.94 $\pm$ 2.01	0.38 $\pm$ 0.18	0.16 $\pm$ 0.11	6.11 $\pm$ 1.91	18.35 $\pm$ 3.8	8.60 $\pm$ 1.64
Coca	5.37 $\pm$ 0.33	1.81 $\pm$ 0.55	3.24 $\pm$ 0.79	0.10 $\pm$ 0.08	0	0.12 $\pm$ 0.07	0.04 $\pm$ 0.04	1.56 $\pm$ 0.29
Isis	3.32 $\pm$ 0.25	10.21 $\pm$ 1.94	31.06 $\pm$ 3.66	2.38 $\pm$ 0.52	0.70 $\pm$ 0.21	0	0.06 $\pm$ 0.04	6.68 $\pm$ 0.67

El resultado del análisis de cúmulos muestra un dendograma construido a partir de las similitudes del patrón conductual de los individuos (Figura 4). Junto al árbol se observan los tamaños de la alberca y el tiempo que llevan en cautiverio, al parecer las similitudes no están influenciadas por ninguna de estas dos variables. Sin embargo, se observa un patrón en cuanto a la diversidad de eventos y la edad de los individuos.

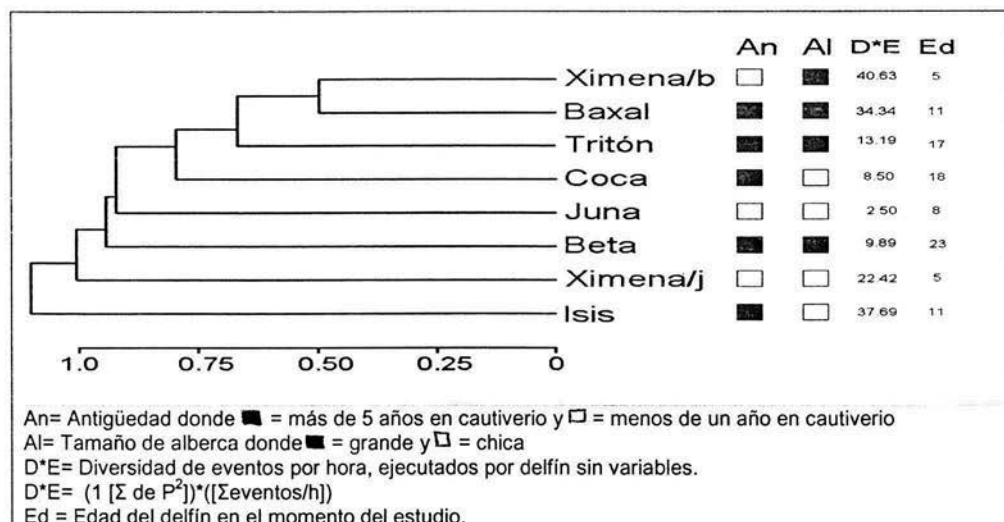


Figura 4. Dendograma donde la matriz de distancias de las conductas (estados y eventos) por cada delfín es resuelta en un apareamiento ponderado, sin considerar las variables independientes

Con el fin de probar la hipótesis 1, en la cual se predijo que habría diferencias significativas en el despliegue conductual dependiendo del tamaño de la alberca, la prueba estadística reveló que existen diferencias significativas en el sentido en el que nadan los delfines: antihorario u horario ( $Z=2.02$ ,  $R=-0.76$ ,  $N=8$ ,  $P<0.05$ ;  $Z=-2.3$ ,  $R=0.87$ ,  $N=8$ ,  $P<0.05$ , así como en el nado social ( $Z=2.02$ ,  $R=-0.88$ ,  $N=8$ ,  $p<0.05$ ) (Figura 5).

En cuanto a los eventos conductuales se observa una diferencia significativa en la emisión de las conductas agresivas, en la persecución ( $Z=2.30$ ,  $r=0.04$ ,  $N=8$ ,  $P<0.05$ ) (Figura 6 y Apéndice VII).

A partir de la segunda hipótesis de trabajo, donde se predijo que se encontrarían diferencias significativas en la frecuencia de las conductas emitidas por los delfines dependiendo del tiempo que llevan en cautiverio, los análisis muestran que no hay diferencias estadísticas en la ejecución de conductas (Apéndice VIII).

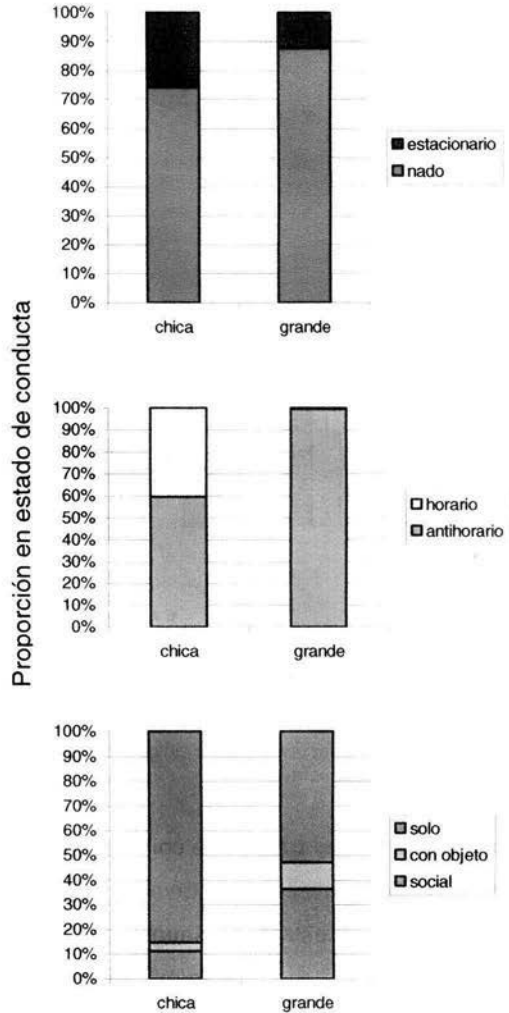


Figura 5. Proporción del tiempo total en estados de conducta dependiendo del tamaño de la alberca: chica y grande. a) Proporción en estado de nado y estacionario en alberca chica y grande. b) Proporción en la direccionalidad del nado en alberca chica y grande. c) Proporción de lo que hace mientras nada: solo, con su compañero y/o con un objeto

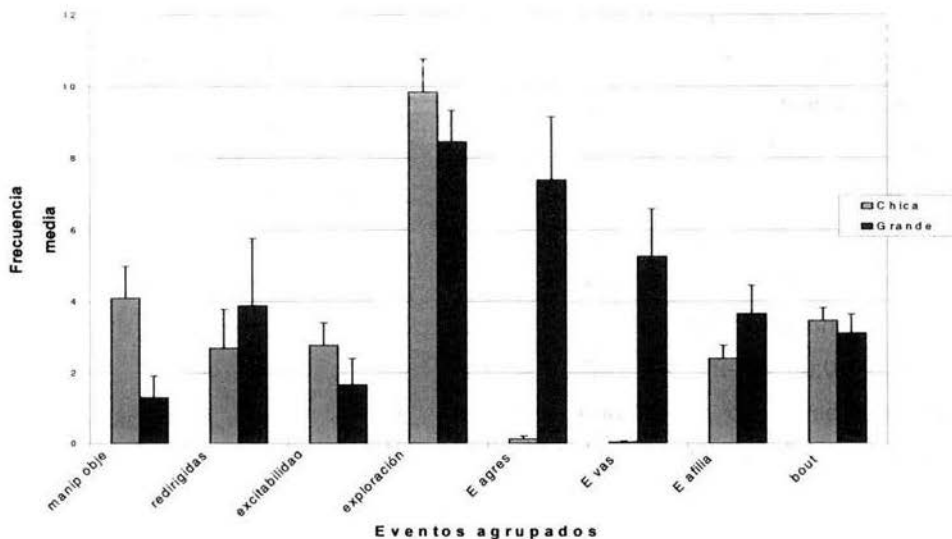


Figura 6. Frecuencia media de categorías de eventos conductuales en los dos tamaños de alberca  $\pm$  ES. Donde E agres = conductas agresivas emitidas. E vas = conductas evasivas emitidas. E afilia = conductas afiliativas emitidas. Bout = intervalo continuo de conducta.

En cuanto a la concentración de cortisol, para Beta, se obtuvieron 3 muestras de sangre a lo largo de los 17 días de observación, con valores de: 4.6, 3.2 y 8.3 ng/mL. De Tritón se obtuvieron 3 muestras de sangre durante 22 días de observación, los valores de cortisol fueron: 3.2, 1.4, y 4.3 ng/mL. Mientras que de Juna se obtuvo una sola muestra de sangre al inicio de las observaciones con un valor de 4.7 ng/mL. Para Ximena mientras estaba alojada con Juna, se obtuvo igualmente una muestra de sangre al inicio de las observaciones con un valor de 1.5 ng/mL. Para Baxal se obtuvo una muestra de sangre un mes y medio antes del inicio de las observaciones indicando una concentración de 0.726 ng/mL. De Coca e Isis no se obtuvieron muestras (Apéndice V). Debido al reducido número de muestras no fue posible realizar una correlación entre la concentración de cortisol y la conducta.

## 5.2 ESTUDIO 2. VALIDACIÓN DE UNA TÉCNICA NO INVASIVA PARA EVALUAR LA ACTIVIDAD ADRENAL EN DELFINES

### 5.2.1 Sujetos, localización y manejo

Este estudio se realizó con 12 delfines (Apéndice IX), de la especie *Tursiops truncatus*, divididos en dos grupos. El primer grupo estaba formado por cuatro delfines, un macho y tres hembras, entrenados para realizar procedimientos médicos, encuentros y nadados con humanos, alojados en el Delfinario 6 (Apéndice IVb). El segundo estaba formado por dos machos y seis hembras, alojados en los delfinarios 1, 2, 4 y 7 (Apéndice IVa y b), no entrenados para realizar procedimientos médicos.

### 5.2.2 Procedimiento del estudio

Se obtuvo una muestra de sangre y otra de saliva de cada delfín en ayunas (10:00 – 14:00 aprox), casi de manera simultánea. Los sujetos del grupo 1 estaban entrenados, por lo que a la señal del entrenador presentaron la aleta caudal, permitiendo al entrenador extraer 15 mL de sangre (Figura 7). Inmediatamente después se les pidió que abrieran el hocico para tomar la muestra de saliva (Figura 8); recibieron comida después de esta actividad. Al segundo grupo, constituido por los no entrenados, hubo que someterlos a maniobras para tomar ambas muestras. En el Cuadro 6 se muestra de manera precisa la hora a la que se realizó cada actividad en ambos grupos.



Figura 7. Toma de muestra sanguínea de la aleta caudal de un delfín realizada de manera voluntaria.

La sangre fue centrifugada a 3000 r.p.m. durante 5 minutos para separar el suero, que se congeló a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis (Thompson y Geraci, 1986; St Aubin *et al.*, 1996).

Las muestras de saliva se tomaron en torundas de algodón 100% natural tratadas con éter para eliminar impurezas. Una vez obtenida la muestra de saliva, las torundas fueron guardadas en bolsas de plástico cerradas herméticamente y congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis.

La concentración de cortisol fue determinada para sangre y saliva por radioinmunoanálisis (RIA) y se realizaron en el laboratorio dirigido por la Dra. Marta Romano del Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias del Centro de Investigación y Estudios Avanzados (CINVESTAV) del INP. Las muestras de suero y de saliva fueron evaluadas directamente utilizando kits de radioinmunoanálisis de  $^{125}\text{I}$  (Cort. CT2, CIS Bio Internacional, France). Las muestras se midieron por duplicado. La especificidad del sistema para detectar cortisol según el producto es de 100%, 84.5 % para 5- $\alpha$  Dihidro cortisol y 45.3% para Prednisolna. La sensibilidad del método definida como la concentración mínima detectable dos veces la desviación estándar del valor de cero, es aproximadamente 4.6 nm/mL con dos horas de incubación según el proveedor.

## **A. Correlación entre los niveles de cortisol libre en sangre y saliva en delfines**

### **5.2.3. A. Análisis de datos**

El análisis de los datos se realizó con el programa de cómputo Statistica<sup>®</sup>, 6.0; en todas las pruebas se tomó un intervalo de confianza del 95% ( $p < 0.05$ ) (Siegel y Castellan, 2001).

Para conocer si la relación que existe en el nivel de cortisol en saliva con respecto al nivel en sangre es similar a la que sugieren Vining y McGinley (1987), se calculó la razón de cada par de datos



Figura 8. Toma de muestra salival de un delfín realizada de manera voluntaria. Tomado de: Medición del comportamiento y cortisol salival de delfines de acuerdo a las actividades que realizan en cautiverio (Miguel C., 2004). Con permiso de la autora.

(sangre y saliva) obtenidos casi de manera casi simultánea y se promediaron.

Los datos obtenidos fueron expuestos a una correlación y a una regresión para obtener los parámetros de una línea para resumir la estructura de los datos.

#### 5.2.4. A. Resultados

A continuación se presentan en dos cuadros los valores obtenidos de cortisol en sangre y saliva tanto para los delfines entrenados como los no entrenados. Para el análisis de los datos se eliminaron los casos extremos.

Cuadro 6. Valores de cortisol (ng/mL) en sangre y saliva de delfines no entrenados para la toma de muestras.

DELFIN	CORTISOL EN SANGRE ng/mL	CORTISOL EN SALIVA ng/mL
Beta	4.04	1.02
Ximena	10.3	3.3
Juna	31.97*	0.915*
Baxal	10.51*	8.05*
Mitzón	3.16	2.4
Yashui	4.06*	9*
Karina	0*	0.7*
Chirris	23.37	5.7
Media	10.92	3.88
ES	3.94	1.16

\* Se consideraron como casos extremos.

Cuadro 7. Valores de cortisol (ng/mL) en sangre y saliva de delfines entrenados para la toma de muestras.

DELFIN	CORTISOL EN SANGRE ng/mL	CORTISOL EN SALIVA ng/mL
Amixcle	2.76	0.64
Nuna	2.39	0.52
Ashin	11.79*	0.64*
Tinda	2.45	0.65
Media	4.85	0.61
Error estandar	2.23	0.03

\* Se consideraron como casos extremos

Se obtuvo una relación de 0.48% entre la concentración de cortisol en sangre y en saliva. Las correlaciones se realizaron uniendo los dos grupos, entrenados y no entrenados y eliminando los casos extremos. Para probar la hipótesis 3 donde se predice que se puede utilizar la saliva para medir los niveles de cortisol de los delfines, el valor de la regresión ( $Y = 0.3153X^{0.9589}$ ) y el coeficiente ( $R = 0.94$ ,  $p < 0.01$ ), nos indica que existe una asociación entre los niveles de cortisol sanguíneos y salivales (Figuras 9 y 10).

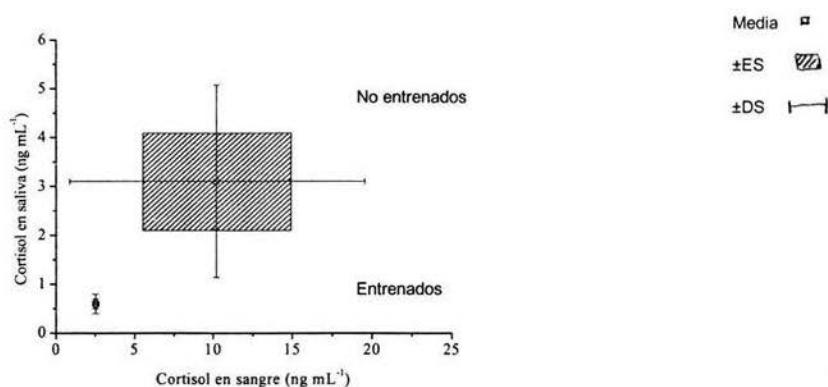


Figura 9. Concentración de cortisol en sangre y saliva en delfines entrenados y no entrenados, sin los datos extremos.



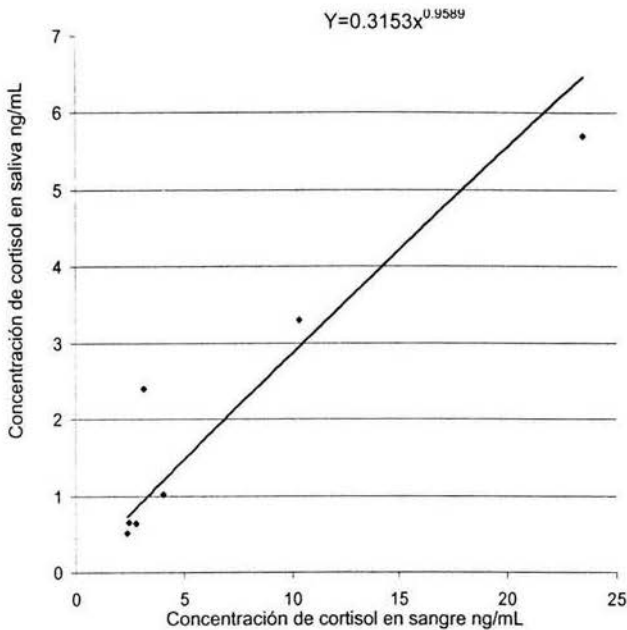


Figura 10. Correlación entre la concentración de cortisol en sangre y en saliva en 12 delfines de la especie *Tursiops truncatus* en cautiverio

## B. Comparación entre los niveles de cortisol en delfines entrenados y no entrenados

### 5.2.3. B. Análisis de datos

El análisis de los datos también se realizó con el programa de cómputo Statistica<sup>®</sup>, 6.0; en todas las pruebas se tomó un intervalo de confianza del 95% ( $p < 0.05$ ) (Siegel y Castellan, 2001).

Se utilizaron los datos obtenidos en el inciso anterior, ya que se encontraban divididos en entrenados (voluntario) y no entrenados (maniobra). Se realizó una T de Student para 2 muestras con el fin de conocer si hay diferencias significativas entre las medias de los dos grupos (voluntario vs. maniobra) para sangre, y otra distinta para las muestras de saliva. Donde la hipótesis nula plantea que no hay diferencias entre las medias de los dos grupos, mientras que la hipótesis alternativa sugiere una diferencia significativa entre las medias.

#### **5.2.4. B. Resultados**

La media del valor de cortisol sanguíneo en los delfines no entrenados (N=8) fue de  $10.92 \pm 11.16$  ng/mL, mientras que en los entrenados (N=4) fue de  $4.85 \pm 4.62$  ng/mL. La media del valor de cortisol salival en los delfines no entrenados (N=8) fue de  $3.88 \pm 3.30$  ng/mL, mientras que en los entrenados (N=4) fue de  $0.61 \pm 0.06$  ng/mL.

Los análisis muestran que hay diferencias significativas en ambos casos con un intervalo de confiabilidad de 95%, N=10 y una T= 2.22.

## VI. DISCUSIÓN

### **6.1 Estudio 1. Efecto del tamaño de la alberca y del tiempo en cautiverio sobre los estados y los eventos de conducta individuales**

Las habilidades que permiten a los animales adaptarse a condiciones del cautiverio dependen del individuo, de la experiencia y del grado de semejanza de su albergue a su hábitat natural (Carlstead, 1996). Conocer cómo se comportan los delfines en distintas situaciones del cautiverio nos ayuda a tratar de mejorar su estancia en los delfinarios, y por lo tanto su bienestar. Los resultados presentados en este estudio contribuyen al conocimiento de cómo se enfrentan los delfines al cautiverio desde el punto de vista de dos variables independientes, el tamaño de la alberca y el tiempo que llevan en cautiverio. Existe un sinnúmero de factores físicos que juegan un papel importante en la estancia en cautiverio que no se tomaron en cuenta en este trabajo, como la temperatura y pH del agua, los químicos que utilizan, el sentido y la fuerza de las corrientes, etc. Igualmente hay que considerar la importancia de las relaciones sociales e identificar las variables que causan problemas psicológicos (Waples y Gales, 2000), así como el efecto de las actividades dirigidas por los humanos.

Se ha notado que el estrés es una fuente de enfermedad y mortalidad en cetáceos (Dierauf, 1990; Seeeney, 1990). Sin embargo, se conoce muy poco acerca del estrés social y de la relación que tiene con las enfermedades. Los delfines son especies altamente sociales, se ha visto que agrupaciones sociales impuestas por el cautiverio pueden provocar una alta incidencia de enfermedades, comportamientos aberrantes y agresivos y tener poco éxito reproductivo (Caldewell y Caldewll, 1977; Sweeney, 1990). Como son animales silvestres en continuo movimiento, generalmente ocultan o disfrazan síntomas de enfermedades y no son detectados sino ya muy avanzadas. En muchos casos una respuesta conductual puede ser el primer indicador de una enfermedad, por ejemplo, inapetencia es un signo conocido en delfines como indicador de enfermedad y puede ser también un síntoma de estrés (Sweeney, 1990). Algunos de los problemas que presentan los cetáceos en cautiverio, es probable que sean

resultado directo de mantener a los animales en ambientes confinados (Sweeney, 1990).

El análisis de cúmulos muestra, la manera en cómo se agruparon los sujetos a partir de las similitudes en su patrón conductual, la figura no indica que la manera en como fueron ordenados depende del tamaño de la alberca ni del tiempo que llevan en cautiverio. Sin embargo, se pueden ver dos tendencias a partir de Juna, un delfín que al parecer presentó un patrón conductual muy distinto al de los demás; la diversidad de eventos que presenta este individuo es muy baja (2.5), esto significa que su repertorio conductual es muy pequeño ya que generalmente hace lo mismo. Hay un grupo donde a medida que disminuye la edad y tienen menos tiempo en cautiverio tienen una mayor diversidad conductual ( $D^*E$  es mayor) y son más parecidos entre sí (en el árbol, la ramificación entre los sujetos ocurre más cercana al 0), sugiriendo que van madurando una preferencia conductual a medida que pasan más tiempo en cautiverio porque la diversidad de eventos desplegados disminuye (Ximena/B, Baxal, Tritón y Coca). El otro grupo muestra jóvenes que presentan conductas más diversas ( $D^*E$  es mayor) y son menos parecidos entre sí (en el árbol, la ramificación entre los sujetos ocurre más cercana al 1), la diversidad aumenta a medida que disminuye la edad, son más diferentes y hacen más cosas. Lo que puede estar sucediendo es que llegan al cautiverio jóvenes (5 años aproximadamente) y se van adaptando de manera rápida tal vez a través de la imitación, y que el cautiverio homogeniza a todos. Lo interesante aquí es que pareciera que no todos los delfines responden de igual manera al cautiverio, pero se observan rasgos finitos de respuesta. Es necesario realizar más estudios para determinar el efecto del tiempo en cautiverio en los animales y conocer más a cerca de la historia de vida de cada sujeto.

Existe controversia a cerca del efecto del tamaño de la alberca en la conducta, hay reportes que sugieren que el tamaño del encierro tiene un efecto negativo en la conducta en jirafas (Vesey *et al.*, 1996 y Bashaw *et al.*, 2001), mientras que Kreeger *et al.* (1996) no encontraron ninguna relación en lobos. Uno de los puntos más relevantes que presenta este trabajo radica en que no se encontró una diferencia importante en la

proporción del tiempo que los delfines nadan y están estacionarios debido al tamaño de alberca. Esto nos indica que probablemente la diferencia de tamaño entre las albercas no sea significativa y que de todas maneras para estos animales, una alberca será siempre chica comparada con su habitat natural, aunque Shyan et al. (2002) sugieren que no necesariamente las albercas de mayor tamaño son preferidas por los delfines.

La proporción del tiempo de nado es mayor en la alberca grande, mientras que el tiempo en estado estacionario es mayor en la alberca chica; estos resultados concuerdan con Basos y Wells (1986). Es probable que un encierro de mayor tamaño, incremente las oportunidades en que gastan energía los animales y de esta manera disminuyan los encuentros agresivos (Caldwell et al. 1968, Mayers y Overstrom, 1978 y Basos y Wells, 1986). En cambio, en este trabajo, las conductas sociales, en particular, las agresivas, ocurrieron con mayor frecuencia en la alberca grande y en delfines que llevaban más de 5 años en cautiverio. Si se analizan las dos parejas que estuvieron en la alberca grande, se observa que la constituida por Baxal (antigo) y Ximena (nueva), es la que presenta una mayor emisión de este tipo de conductas. Es factible que lo que esté ocurriendo es que sea la determinación de dominancia entre la pareja (Dawkins, 1990; Sweeney, 1990; Östman, 1991; Samuels y Gifford, 1997), aunque generalmente esto ocurre entre machos. Otra posible explicación es que son conductas sociales con un fin reproductivo o una forma de afiliación (Würsig y Würsig, 1979).

Es importante considerar que la mayoría del tiempo estos animales nadan en círculos ya que es la manera de recorrer una mayor distancia de manera fluida, si nadaran en línea recta, al llegar a un extremo de la alberca tendrían que hacer una maniobra bastante complicada para dar la vuelta. Este nado en círculo también les proporciona la posibilidad de nadar de manera más rápida. Otra ventaja es que en el caso de tener compañeros en la alberca, el hecho del que todos naden en círculos en el mismo sentido, disminuye la probabilidad de contacto entre ellos. El sentido en el que nadan los delfines ha sido discutido por varios autores, Marino y Stowe (1997) encontraron una preferencia en sentido horario. Gygax (1993) realizó un estudio para intentar reconocer patrones estereotipados en delfines y encontró que estos animales

despliegan rutas de nado bastante rígidas: círculos completos en sentido horario. Aunque las estereotipias son individuales, el autor sugiere que este patrón de movimiento espacial puede ayudar a definir y entender anomalías del comportamiento en delfines cautivos. En cambio, Sobel *et al.* (1994), observaron 13 delfines y reportaron que el 84.6% del tiempo del nado, lo realizaban en sentido antihorario. En ninguno de estos estudios se reporta el sentido de la corriente de la alberca. En el presente estudio también se encontró una diferencia estadísticamente significativa en el sentido de nado en círculos dependiendo del tamaño de la alberca. Todos los delfines mostraron una preferencia por el sentido antihorario, excepto Juna, un animal recién capturado que se encontraba en una alberca chica. Ésta es la razón por la cual los resultados muestran una diferencia en el tamaño del encierro. La historia de vida de este sujeto (Apéndice I) nos dice que fue recién capturado a edad madura junto con su hijo del cual fue separado, dada la situación es probable que le estuviera costando mucho trabajo ajustarse al cautiverio.

Dentro de las conductas individuales, las redirigidas se pueden considerar anormales resultado del cautiverio (Fraser y Broom, 1990; Mason, 1991), por lo que se esperaría que en una alberca pequeña se encontraran en mayor frecuencia (Carlstead, 1991). Sin embargo, en este estudio se observó una frecuencia mayor de este tipo de conductas en la alberca de mayor tamaño. Sweeney (1990) argumenta que la presencia de comportamientos redirigidos probablemente sea el resultado de algún tipo de malestar. Confirmando este argumento, al realizar un análisis detallado de los individuos en observación, pudo verse que Tritón, un delfín que durante el estudio se encontraba en un estado apático, no comía, se notaba enfermo y al final murió. Los hallazgos de la necropsia revelaron una enfermedad renal terminal. Las conductas realizadas por este animal, son un reflejo de su estado de salud, puesto que dentro de las conductas redirigidas que Tritón ejecutaba se encontraban morder y rascarse con elementos del ambiente. Probablemente estas acciones ayudaban a aliviar el malestar de su enfermedad.

Dentro de las conductas sociales, en Tritón y su pareja Beta se registró la mayor proporción en tiempo de nado social. Probablemente Beta estuviera siendo empática con la enfermedad de su compañero, en concordancia con algunos reportes que reflejan casos de delfines sanos que acompañan o ayudan a los enfermos. Casos como éste sugiere que el personal que está encargado de los animales realice observaciones formales diarias, para distinguir y detectar a tiempo conductas que pueden reflejar malestar, actuando para aliviarlas o evitar de esta manera que se vuelvan crónicas.

Únicamente dos delfines nadaron con un objeto colocado en la aleta, en ocasiones era un pescado, en otras un aro (Figura 5). Ambos sujetos llevan más de cinco años en cautiverio y también interactuaban de manera importante con objetos. No se han reportado casos como este, ¿será una estereotipa resultado del tiempo en cautiverio?

No se encontraron diferencias significativas en las conductas de exploración entre los dos tamaños de alberca ni el tiempo en cautiverio; sin embargo, Carlstead *et al.* (1993) sugieren que este tipo de conductas disminuyen en situaciones de estrés en felinos. Por el contrario, la frecuencia con que se registraron estas conductas en este trabajo, puede indicar que los animales no son apáticos al ambiente externo y es probable que basándose en la presencia de estas conductas, no se encuentren en estado de estrés crónico.

Se sabe que las estereotipias son el resultado de una interacción anormal entre el ambiente y el animal (Carlstead, 1998), consecuencia de la imposibilidad que el animal tiene para realizar un comportamiento el cual el animal está altamente motivado a realizar (Carlstead, 1996). Las conductas de excitabilidad indican de alguna manera el estado de frustración en el que se encuentra un individuo, entre menor sea la frecuencia de estas, mayor será el nivel de bienestar. Si se presentan con mayor frecuencia pueden clasificarse como conductas anormales, y hasta como estereotipias si se analiza detalladamente a los individuos. Ximena fue el delfín que exhibió con mayor frecuencia este tipo de conductas, mientras fue pareja de Juna y se encontraban alojados en una alberca chica cuyas paredes eran muy altas. Esta pareja emitió muy

pocas conductas sociales. Ximena era un delfín joven y atento al ambiente exterior, como se ve por la frecuencia de conductas de exploración y juego. Es probable que este tipo de alberca y la falta de interacciones sociales hayan provocado en ella un alto nivel de frustración, puesto que cuando se la observa en una alberca grande y con otro compañero (Baxal), disminuyen estas conductas y aumenta el nivel de exploración.

Sweeney (1990) propone una serie de conductas que pueden sugerir algún tipo de malestar, como vómito, ingestión de objetos, conductas redirigidas, rascarse contra el ambiente, succionar partes del cuerpo, morder objetos, conductas exageradas, agresión, aumento en las conductas sexuales, sumisión, nerviosismo y destrucción del ambiente; sin embargo la mayoría de estos comportamientos se reportan en pinnípedos y son anecdóticos.

Los estados emocionales alteran la salud general de los individuos y pueden ser la causa de alguna enfermedad, por lo que sería ideal poder identificar los estados emocionales, sobre todo los negativos, y tomar decisiones al respecto antes de que la situación sea crónica y sea más difícil solucionarla (Duncan y Petherick, 1991; Dawkins, 1997). La aparente falta de especificidad en las respuestas conductuales, depende en gran medida de la experiencia emocional subjetiva de cada individuo (Mason, 1971). Es por eso que la mayoría de las diferencias que se encontraron en el presente estudio se explicaron desde el punto de una escala individual.

La diferencia entre conductas anormales y las normales no es evidente en muchas ocasiones (Mason, 1991). Es necesario realizar investigaciones encaminadas hacia conocer este tipo de conductas para ayudar a mejorar el bienestar de estos animales en cautiverio. Es un hecho que es necesario realizar más estudios para conocer la naturaleza de estos comportamientos y si es posible encontrar patrones de estereotipias en estos animales.

El hecho que no se encontraran diferencias en el cambio del patrón conductual a medida que transcurren los días en el nuevo ambiente, puede deberse a que el lapso de tiempo es muy corto y las diferencias se verían en un tiempo mayor. Es decir, el



tiempo que tardan en estabilizarse las relaciones sociales y se aclimatan al nuevo ambiente es mayor que las horas que se registraron a los animales. Existen dos reportes referentes a la aclimatación: uno de St. Aubin y Geraci (1989) en el que sugieren que a la décima semana, las belugas ya están aclimatados, y otro de Small y Demaster (1995) donde proponen que basándose en la sobrevivencia, a los 45 días los animales están aclimatados o murieron. El tiempo de observación en este estudio varió de un máximo de 22 a un mínimo de 10 días.

La adaptación a cambios en el ambiente involucra una cascada de respuestas conductuales, fisiológicas y neuroquímicas (Barnett y Hemsworth, 1990; Clark *et al.*, 1997b). La utilización del cortisol como indicador de estrés puede ser una herramienta útil mientras se combine con otros más para conocer el nivel de bienestar de los individuos (Broom y Johnson, 1993; Clark *et al.*, 1997b; Rushen, 1991). La concentración de cortisol en sangre se usa ampliamente como un indicador de estrés, aunque hay que tener cuidado porque el aumento en la concentración de esta hormona no ocurre como respuesta a todos los estímulos (Möstl y Palme, 2002) y tiene un ritmo circadiano específico.

Existe controversia en cuanto a la relación que existe entre las conductas anormales y los niveles de cortisol; hay estudios que reportan una relación positiva (Redbo, 1993; Wielebnowski, 2002) otros una relación negativa (Kostal *et al.*, 1992; Tiefenbacher *et al.*, 2000, 2004) y por último hay algunos que no encontraron una relación alguna (Pell y McGreevy, 1999). Por lo que es necesario conocer más acerca de esta relación y sugiero que se utilicen todavía más indicadores simultáneamente.

Es obvio que hubo muchas dificultades para realizar los muestreos de sangre durante el estudio. El hecho de haber trabajado con delfines no entrenados para fines veterinarios, implicaba que para obtener las muestras, los individuos tenían que ser sometidos a maniobras, dinámica que significa una gran producción y mucha estimulación a los animales, por lo que los encargados de los delfines, aunque se habían comprometido, no llevaban a cabo estas prácticas como se había calendarizado. Esta problemática

indica que es indispensable desarrollar técnicas no invasivas para obtener muestras de sangre o de saliva. De esta manera no se alteraría el ritmo de secreción de cortisol y no se manipularía a los individuos. Otro problema importante en la realización de este estudio fue que a pesar de tener pocas muestras de sangre, no fue posible cuantificarlas todas, en algunas ocasiones porque las muestras se coagulaban inmediatamente y la extracción de cortisol ya no era posible en el laboratorio, y porque algunas muestras se extraviaron en el laboratorio.

Es prioritario conocer cómo se comporta el cortisol en estos animales y conocer los valores basales, para poder realizar estudios posteriores. También es importante realizar un estudio en donde se comparen las conductas de los delfines y el nivel de cortisol, para poder contribuir al conocimiento de la relación que existe entre estas variables en los delfines; se sugiere que las muestras se obtengan de forma no invasiva, es decir, de saliva de delfines entrenados.

En la siguiente sección del trabajo discuto los estudios que se realizaron para validar el cortisol en saliva y donde se compararon los niveles de esta hormona en delfines entrenados contra delfines no entrenados. Estos estudios podrán ser una herramienta para estudios en el futuro, ya que facilitarían la recolección de muestras y se evitarían los problemas que surgieron al llevar a cabo esta parte del estudio.

## **6.2 ESTUDIO 2. Validación de una técnica no invasiva para evaluar la actividad adrenal en delfines**

### **6.2.A. Correlación entre los niveles de cortisol libre en sangre y saliva en delfines**

Desde hace muchos años se ha utilizado la saliva como una técnica no invasiva, para obtener niveles de hormonas en distintos animales y en humanos (Stahl y Dörner, 1982; Laudat *et al.*, 1988; Vining y McGineley, 1987). Dentro de estas hormonas se encuentra el cortisol que ya se ha medido en humanos (Walker *et al.*, 1978; Riad-Fahmy *et al.*, 1982; Vining y McGinley, 1987) y en algunos animales (Fell *et al.*, 1985, Parrott *et al.*, 1989; Pell y McGreevy, 1999; Beerda *et al.*, 1996; Tiefenbacher *et al.*, 2003).

Los datos obtenidos nos indican que es posible utilizar la saliva para medir los niveles de cortisol en estos cetáceos. El coeficiente de correlación que se obtuvo entre los niveles de cortisol en sangre y en saliva, es muy cercano a uno, esto nos indica que ambas variables están fuertemente asociadas y por lo tanto, se pueden obtener muestras de saliva para medir la concentración de esta hormona de una manera no invasiva.

Una de las ventajas de haber obtenido las muestras de sangre y saliva de manera casi simultánea es que también permitió conocer cuál es la concertación de este esteroide en saliva con respecto al nivel total en sangre. Esta relación de 0.48% entra dentro del intervalo propuesto por Vining y McGinley (1987), de 0.1 – 1%.

Los resultados obtenidos apoyan la idea de que la concentración de cortisol en saliva refleja de manera precisa los niveles de cortisol libre en sangre y no se ven afectados por los cambios en la globulina transportadora.

Vining *et al.* (1983) sugieren que después de un minuto de la inyección intravenosa de cortisol aparece este esteroide en saliva. Sin embargo, Kobelt *et al.* (2003) reportan que después de 4 minutos de manipulación no se encontró el efecto en la saliva en perros. Estos estudios nos sugieren que todavía se conoce muy poco a cerca del tiempo de liberación de cortisol al torrente sanguíneo después de una situación demandante y de ahí el tiempo en que se ve reflejado en la saliva. En este estudio en la mayoría de los casos el tiempo transcurrido entre la toma de sangre y la de saliva es menor a tres minutos; es probable que los niveles encontrados se puedan considerar como normales si consideramos el estudio de Kobelt *et al.* (2003).

Es evidente que es indispensable realizar estudios sobre este tema para poder conocer un poco más a cerca de los mecanismos de liberación de esta hormona y de esta manera interpretar de manera más confiable los resultados obtenidos.

Asimismo, este trabajo da pie para realizar más estudios para conocer cómo se comportan otras variables fisiológicas en la saliva de delfines.

### **6.2.B. Correlación entre los niveles de cortisol en delfines entrenados y no entrenados**

La forma en la que se obtienen las muestras para conocer la concentración de algunas variables fisiológicas puede ser un factor que por sí solo altere los valores de las mismas y puede confundir la interpretación de los resultados (Möstl y Palme, 2002). Por esta razón algunos investigadores han implementado procedimientos de muestreo menos invasivos como en orina, heces, leche y saliva. El problema se ha resuelto entrenando a los animales para que voluntariamente proporcionen la muestra, de esta manera no se manipula a los individuos y los valores obtenidos reflejan el estado en el que se encuentra el animal.

Esta técnica no invasiva junto con el entrenamiento de los animales ha ayudado a conocer el ritmo circadiano y estacional de algunas variables fisiológicas, así como sus niveles basales en algunas especies.

Estudios anteriores en delfines muestran niveles de cortisol en sangre de delfines entrenados para presentar la aleta caudal (St. Aubin *et al.*, 1996; Suzuki *et al.*, 2003), en ellos se sugiere el ritmo de la secreción de cortisol de manera formal y precisa. Sin embargo, este es el primer estudio donde se utilizan las muestras de saliva en delfines entrenados para abrir el hocico y así facilitar la obtención de la muestra.

Los datos que se obtuvieron en el presente trabajo sugieren que hay diferencias significativas entre las muestras de sangre y saliva obtenidas entre los delfines entrenados y los no entrenados. Esto significa que la forma en la que se toman las muestras influye en los niveles de cortisol, ya que, si las muestras se obtienen de delfines entrenados los niveles son significativamente menores comparados con los de los que se obtuvieron a través de una maniobra.

En los delfines que no estaban entrenados el tiempo que transcurrió desde que se tiró la red y se obtuvieron las muestras de sangre varió: desde 4 a 31 minutos, mientras que una vez sangrado al animal, transcurrieron de uno a cinco minutos para obtener la

muestra de saliva para estos delfines. En cambio para los delfines entrenados no pasaron más de cinco minutos entre la presentación de la aleta caudal y la toma de muestra salival. Con esta variación en los tiempos de estimulación, manipulación y obtención de ambas muestras así como los valores obtenidos de la concentración de cortisol no es posible conocer el tiempo en que tarda para activarse del eje hipotálamo-corteza adrenal en estos animales. Es obvio que es necesario conocer antes que nada los niveles basales y a partir de ahí realizar experimentos para conocer el ritmo y velocidad de secreción del cortisol. Esto hace complicado la comparación de los datos obtenidos en el presente trabajo con los citados con anterioridad. Sin embargo, queda claro que el procedimiento menos violento y que muestra de manera más precisa los niveles basales de esta hormona es a partir de la saliva de delfines entrenados y como segunda opción de sangre de la aleta caudal presentada de manera voluntaria.

Los niveles de cortisol reportados en la literatura son muy heterogéneos, esta diferencia puede deberse a un sinnúmero de factores, como por ejemplo, el lapso que transcurrió entre que inició la captura y la obtención de la muestra, la técnica utilizada para cuantificar la concentración de la hormona, el estado de salud y el sexo de los animales, la hora del día y la estación del año, entre otros. Sin embargo podemos discutir que Thompson y Geraci (1986), sugieren que después de 10 minutos de haber iniciado el proceso de la maniobra no se ha activado la respuesta adrenocortical y que los valores que ellos obtuvieron pueden considerarse valores en reposo (12.7 ng/mL), estos valores irán en aumento hasta una hora después y se mantendrán así durante 6 horas. En cambio St. Aubin *et al.* (1996) reportan que hay una diferencia notable entre delfines entrenados semidomesticados para presentar la aleta caudal y los de vida libre, no obstante, los valores que obtuvieron de los primeros son mayores que los de Thompson y Geraci (1986). Los valores presentados por Suzuki *et al.* (1998 y 2003) podrían considerarse como basales ya que son obtenidos de muestras de delfines entrenados para facilitar la obtención de las muestras y se aproximan a los obtenidos en este trabajo bajo condiciones similares.

Los valores de la concentración de cortisol en saliva obtenidos por Hernández (1998), son semejantes a los hallados en el presente trabajo, aunque no está especificado si los delfines que ella utilizó estaban entrenados para este fin. Ella sugiere un ritmo circadiano, al igual que Suzuki *et al.* (2003), ya que el cortisol salival disminuye en el transcurso del día.

### **6.3 Consideraciones finales**

El papel que juegan los delfinarios puede justificarse si es posible demostrar que los animales que ahí se alojan tienen un nivel de bienestar óptimo y que cumplen con un compromiso educativo. Por esto, es necesario general más información que revele cuáles son las conductas que pueden reflejar un bienestar pobre en esta especie, por lo que es indispensable realizar estudios de conducta cuantitativos para conocer a los individuos de manera más formal y poder tomar decisiones a cerca de cambios en el comportamiento. La identificación de los factores que afectan el bienestar y el reconocimiento de las respuestas de los individuos son cuestiones que se necesitan estudiar más formalmente en el delfín nariz de botella. También es conveniente elaborar protocolos de investigación que muestren a largo plazo el efecto del cautiverio sobre la salud y el éxito reproductivo.

El presente, es un estudio en el que se obtuvieron algunos resultados relevantes en cuanto a la conducta: El tamaño de la alberca influye en el tiempo que el delfín pasa nadando o en estado estacionario (Calwell *et al.*, 1968; Myers y Overstorm, 1978 y Basos y Wells, 1996) y en el sentido del nado. Se identificaron conductas que pueden estar reflejando el estado emocional de los individuos como las de excitabilidad (Carltead, 1996 y 1998), así como algunas conductas redirigidas que estuvieron relacionadas con el estado de salud de un individuo (Sweeney, 1990). Se mostró cómo el cautiverio homogeniza el comportamiento de los delfines y que las respuestas a este son distintas pero finitas.

Por otro lado se validó la técnica para utilizar la concentración de cortisol en saliva; de esta manera, se podrá disminuir la manipulación de los individuos para obtener muestras sanguíneas. Será factible llevar a cabo una gran gama de estudios, como por ejemplo, comparar el patrón conductual con los niveles de cortisol, así como con otras variables fisiológicas a largo plazo que ayudarán a determinar el bienestar de estos individuos en cautiverio.

## VII. REFERENCIAS

1. **Asper , E.D., W.G. Young y M.T. Walsh.** 1988. Observations on the birth and development of a captive-born killer whale. *International Zoo Yearbook.* 27:295-304.
2. **Barnet, J.L. y P.H. Hemsworth.** 1990. The validity of physiological and behavioral measures of animal welfare. *Applied Animal Behaviour Science.* 25:177-187.
3. **Bashaw, M.J., L.R. Tarau, T.S. Maki y T.L. Maple.** 2001. A survey assessment of variables related to stereotypy in captive giraffe and okapi. *Applied Animal Behaviour.* 73:235-247.
4. **Basos, M.K. y R.S. Wells.** 1996. Effect of pool features on the behavior of two bottlenose dolphins. *Marine Mammal Science.* 12(2):321-324.
5. **Beerda, B., M.B.H. Schider, N.S.C.M. Janssen y J.A. Mol.** 1996. The use of saliva cortisol, urinary cortisol, and catecholamine measurements for a noninvasive assessment of stress reponses in dogs. *Hormones and Behavior.* 30:272-279.
6. **Beerda, B., M.B.H. Schilder, J.A. Van Hoof y H. De Vries.** 1997. Manifestations of cronic and acute stress in dogs. *Applied Animal Behaviour Science.* 52:307-319.
7. **Broom, D.M.** 1986. Indicators of poor welfare. *British Veterinary Journal.* 142:524-526.
8. **Broom, D.M.** 1988. The scientific assesment of animal welfare. *Applied Animal Behaviour Science.* 20 (1-2):5-19.
9. **Broom, D.M.** 1993. A usable definition of animal welfare. *Journal of Agricultural & Environmental Ethics.* 6(2):15-25.
10. **Broom, D.M.** 1999. *Animal Welfare: the concept & the issues.* En *Attitudes to Animals: Views in Animal Welfare*, ed. F.L. Dolins, Cambridge: Cambridge University Press. Pp 129-142.
11. **Broom, D.M. y K.G. Johnson.** 1993. *Stress and Animal Welfare.* Chapman and Hall editions. Great Britain. 212pp.



12. **Caldwell, M.C y D.K Caldwell.** 1977. Social interactions and reproduction in the Atlantic bottlenosed dolphin. Páginas 133-142 en S.H. Ridgway y K. Benirschke, eds. Breeding dolphins. Report #MMC-76/07, Marine Mammal Commission, Washington, DC.
13. **Calwell, M. C., D.K. Caldwell y B.C. Townsend Jr.** 1968. Social behavior as a husbandry factor in captive odontocete cetaceans. St. Augustine, Florida: Marineland Research Laboratory. Proceedings of the Second Symposium on Diseases and Husbandry of Aquatic Mammals. 1-9 pp.
14. **Carlstead, K.** 1991. Husbandry of the Fennec fox, *Fennecus zerda*: Environmental conditions influencing stereotypic behaviour, International Zoo Yearbook. 30:202-207.  
**Carlstead, K.** 1996. Effects of captivity on the behaviour of wild mammals. En Wild Mammals in Captivity. Principles and Techniques.. Kleiman D.G., Allen M.E., Thompson K.V. y Lumpkin S. (eds). The University of Chicago Press. 317-333 pp.
15. **Carlstead, K.** 1998. Determining the causes of stereotypic behaviors in zoo carnivores. En: Second Nature. Shepherdson D.J., Mellen J.D. y Hutchins M. (eds). Smithsonian Institution Press. 172-201 pp.
16. **Carlstead, K., J.L. Brown y J. Seidensticker.**1993. Behavioral and adrenocortical responses to environmental changes in Leopard Cats (*Felis bengalensis*). Zoo Biology. 12:321-331.
17. **Clark, J.D., D.R. Rager y J.P. Calpin.** 1997a. Animal Well-Being I. General considerations. Laboratory Animal Science. 47(6):564-570.
18. **Clark, J.D., D.R. Rager y J.P. Calpin.** 1997b. Animal Well-Being IV. Specific Assesment Criteria. Laboratory Animal Science. 47(6):586-597.
19. **Coe, J.M. y W.E. Stuntz.** 1980. Passive behavior by the spotted dolphin *Stenella attenuata*, in tuna purse seine nets. Fishery Bulletin. 78(2):535-537.
20. **Cook, C.J., D.J. Mellor, P.J. Harris, J.R. y L.R. Mathews .** 2000. Hands-on and hans-off measurment of stress. En: Biology and Animal Stress. Moberg, G.P. y Mench J.A. (eds). CAB International. 123-146 pp.

21. **Crocket, C.M.** 1998. Psychological well-being of captive nonhuman primates. En: *Second Nature*. Second Nature. Shepherdson D.J., Mellen J.D. y Hutchins M. (eds). Smithsonian Institution Press. 131-132 pp.
22. **Crockett, C.M., M. Shimoji y D.M. Bowen.** 2000. Behavior, appetite, and urinary cortisol responses by adult female pigtailed macaques to cage size, cage level, room change, and ketamine sedation. *American Journal of Primatology*. 52:63-80.
23. **Chrousos, G.P. y P.W. Gold.** 1992. The concept of stress and stress system disorders. *Journal of the American Medical Association*. 267:1244-1252.
24. **Dantzer, R.** 1986. Behavioral, physiological and functional aspects of stereotyped behavior: A review and a re-interpretation. *Journal of Animal Science*. 62:1776-1786.
25. **Dantzer, R.** 1990. The concept of social stress. In: Zayan, R and R. Dantzer. 1990. *Social stress in domestic animals*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. Pp 3-7.  
**Dawkins, M.S.** 1990. From an animal's point of view: motivation, fitness, and animal welfare. *Behavioral Brain Science*. 13:1-16.
26. **Dawkins, M.S.** 1997. D.G.;. Wood-Gush memorial lecture: Why has there not been more progress in animal welfare research? *Applied Animal Behaviour Science*. 53:59-73.
27. **Dawkins, M.S.** 1998. Evolution and welfare. *Quarterly Review of Biology*. 73(3):305-328.
28. **Díaz, J.L.** 1985. Dinámica de la estructura social en primates. Crónica de seis años de observación de las tropas de macacos en cautiverio. En: *Análisis estructural de la conducta*. Dirección General de Publicaciones, U.N.A.M., México, pp. 213-294.
29. **Dierauf, L.A.** 1990. Stress in Marine Mammals Marine mammal behavioral diagnosis. In *CRC Handbook of Marine Mammals Medicine: Health, Disease and Rehabilitation*. CRC Press. Pp: 295-301.
30. **Douaze, L. y E. Douaze.** 1995. The Bubble-Screen: An Alternative Method to the Use of Nets in Dolphin Facilities. *Proceedings of the ninth annual conference of the European Cetacean Society*. Lugano (SW), 9-11 Feb.

31. **Duffy, Jr. A.M., J. Clobert y A.P. Moller.** 2002. Hormones, developmental plasticity and adaptation. *Trends in Ecology & Evolution.* 17(40):190-196.
32. **Duncan, I.J.H. y J.C. Petherick.** 1991. The implications of cognitive processes for animal welfare. *Journal of Animal Science.* 69:5017-5022.
33. **Fell, L.R. y D.A. Shutt.** 1986. Adrenocortical response of calves to transport stress as measured by salivary cortisol. *Canadian Journal of Animal Science.* 66:637-641.
34. **Fell, L.R., D.A. Shut y C. Bentley.** 1985. Development of a Salivary Cortisol Method for Detecting Changes in Plasma Free Cortisol Arising from Acute Stress in Sheep. *Australian Veterinary Journal.* 62:403-406.
35. **Fraser, A.F. y D.M. Broom.** 1990. *Farm Animal Behaviour and Welfare.* London: Baillière Tindal. 318-322.
36. **Friend, T.H.** 1991. Behavioral aspects os stress. *Journal of Dairy Science.* 74:292-303.
37. **Galhardo, L, M.C. Appleby, N.K. Waran y M.E. Dos Santos.** 1996. Spontaneous Activities of Captive Performing Bottlenose Dolphins (*Tursiops truncatus*). *Animal Welfare.* 5:373-389.
38. **Galindo, 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.
39. **Geraci, J.R. y W. Medway.** 1973. Simulated Field Blood Studies in The Bottlenosed Dolphin *Tursiops truncatus*. *Journal of Wildlife Diseases.* 9:29-33.
40. **Glade, M.J.** 1984. Social sleeping behavior in young horses. *Equine Practice.* 6(5):10-19.
41. **Goymann W., E. Möstl, T. Van't Hof. M.L. East, H. Hofer.** 1999. Noninvasive fecal monitoring of glucocorticoids in Spotted Hyenas, *Crocuta crocuta*. *General and Comparative Endocrinology.* 114. 340-348.
42. **Griffin, D.R.** 1992. *Animal minds.* University of Chicago Press.

43. **Gubins, C., B. McCowan, S.K. Lynn, S. Hooper y D. Reiss.** 1999. Mother-Infant spatial relations in captive bottlenose dolphins, *Tursiops truncatus*. Marine Mammal Science. 15(3):751-765.
44. **Gygax, L.** 1993. Spatial Movement patterns and Behaviour of Two Captive Bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*): Absence of Stereotyped Behaviour or Lack of Definition? Applied Animal Behaviour Science. 38:337-344.
45. **Herman, L.M.** 1990. Cognitive characteristics of dolphins. En: Cetacean behavior, Mechanisms & Functions. Ed. Herman, L.M. Krieger Publishing Company. 363-430 pp.
46. **Hernández-Ballesteros, L.M.** 1998. Determinación de la concentración de cortisol y de otros parámetros bioquímicos en la sangre de delfines *Tursiops truncatus* en cautiverio y durante el proceso de transportación. Tesis de licenciatura, Facultad de ciencias UNAM.
47. **Hinkle, L.E. Jr.** 1974. The Concept of "Stress" in the Biological and Social Sciences. International Journal of Psychiatry and Medicine. 5:335-357
48. **Jensen, P.** 1994. Individual variation in behaviour - noise or functional strategies? "Proceedings of the 28 th International Congress of the ISAE. Research Centre Foulum. Denmark.
49. **Knol, B.W.** 1991. Stress and the endocrine hypothalamus-pituitary-testis system: a review. The Veterinary Quaterly. 13(2):104-114.
50. **Kobelt, A.J., P.H. Hemsworth, J.L. Barnett y K.L. Butler.** 2003. Sources of sampling variation in saliva cortisol in dogs. Research in veterinary science. 75(2):157-161.
51. **Korhonen H., P. Niemela, L. Jauhiainen y T. Tupasela.** 2000. Effects of space allowance and earthen floor on welfare-related physiological and behavioural responses in male blue foxes. Physiology and Behavior. 69 (4-5):571-580.
52. **Kostal L, Savory C.J., Hedges B.O.** 1992. Diurnal and individual variation in behaviour of restricted-fed broiler breeders. Applied Animal Behaviour Science. 32:361-374
53. **Kreeger, T.L., D.L. Pereira, M. Callahan y M. Bekel.** 1996. Activity patterns of gray wolves housed in small vs large enclosures. Zoo Biology. 15(4):395-401.

54. **Kyngdon, D.J., E.O. Minot y K.J. Stafford.** 2003. Behavioral responses of captive common dolphins *Dolphinus delphis* to a "Swim-with-Dolphin" programme. *Applied Animal Behaviour Science.* 82(2):163-170.
55. **Laudat, M.H., S. Cerdas, C. Fournier, D.Guiban, B. Guilhaume y J.P. Luton.** 1988. Salivary cortisol measurement: A practical approach to assess pituitary-adrenal function. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* 66(2):343-360.
56. **Lehner, P.N.** 1998. *Handbook of Ethological Methods.* 2a. Edición. Cambridge University Press, Cambridge. 672 pp.
57. **Levine, S.** 1993. The Influence of Social Factors on the Response to Stress. *Psychotherapy and Psychosomatics.* 60:33-38.
58. **Lyons, D.M., E.O. Price y G.P. Moberg.** 1988a. Individual differences in temperament of domestic dairy goats: constancy and change. *Animal Behaviour.* 36:1323-1333.
59. **Lyons, D.M., E.O. Price y G.P. Moberg.** 1988b. Social modulation of pituitary-adrenal responsiveness and individual differences in behavior of young domestic goats. *Physiology and Behavior.* 43:451-458.
60. **Manser, C.E.** 1992. *The Assessment of Stress in Laboratory Animals.* RSPCA, U.K. 208 pp.
61. **Manteca, X. y J.M. Deag.** 1993. Use of physiological measures to assess individual differences in reactivity.
62. **Marino L. y J. Stowe.** 1997. Lateralized Behavior in Two Captive Bottlenose Dolphins (*Tursiops truncatus*). *Zoo Biology.* 16:173-177.
63. **Markowitz, H.** 1997. The conservation of species typical behaviors. *Zoo Biology.* 16:1-2.
64. **Martin, P y P. Bateson.** 1993. *Measuring Behaviour.* Cambridge University Press. 200pp.
65. **Mason, G. y M. Mendl.** 1993. Why is there simply no way of measuring animal welfare? *Animal Welfare.* 2:310-319.
66. **Mason, G.J.** 1991. Stereotypies: a critical review. *Animal Behaviour.* 41: 1015-1037.

67. **Mason, G.J.** 1993. Forms of stereotypic behaviour. En: Stereotypic Animal Behaviour, Fundamentals and Applications to Welfare. Ed. Lawrence y Rushen. CAB international. pp. 212
68. **McLeod, P.J., W.H. Moger, J. Ryon, S. Gadbois y J.C. Fentress.** 1995. The relation between urinary cortisol levels and social behaviour in captive timber wolves. *Canadian Journal of Zoology*. 74:209-216.
69. **Medway, W. y J.R. Geraci.** 1964. Hematology of the Bottlenose Dolphin (*Tursiops truncatus*). *American Journal of Physiology*. 207(6):1367-1370.
70. **Medway, W., J.R. Geraci y L.V. Klein.** 1970. Hematologic response to administration of a corticosteroid in the bottle-nose dolphin (*Tursiops truncatus*). *Journal of American Veterinary Medical Association*. 157(5):563-565.
71. **Miguel, C.** 2004. Medición del comportamiento y cortisol salival de delfines de acuerdo a las actividades que realizan en cautiverio. Tesis de maestría, Facultad de Veterinaria y Zootecnia, UNAM.
72. **Moberg, G.P.** 1987. Problems defining stress and distress in animals. *Journal of American Veterinary Medical Association*. 1991: 1207 - 1211.
73. **Mormede, P.** 1990. Neuroendocrine responses to social stress. In: Zayan, R and R. Dantzer. 1990. Social stress in domestic animals. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. Pp 203-211.
74. **Möstl, E. y R. Palme.** 2002. Hormones as an indicator of stress. *Domestic Animal Endocrinology*. 23:67-74.
75. **Müller, M., H. Boutière, A.C.F. Weaver y N. Candelon.** 1998. Nouvel inventaire du comportement du grand dauphin (*Tursiops truncatus*). Approch comparative des comportement des dauphins gregaries, solitaires et familiares. *Vie Milie*. 49(2):89-104.
76. **Myers, W.A y N.A. Overstrom.** 1978. The role of daily observaitons in the husbandry of captive dolphins (*Tursiops truncatus*). *Cetology*. 29(7):
77. **Newberry, R.C.** 1995. Environmental enrichment: Increasing the biological relevance of captive environments. *Applied Animal Behaviour Science*. 44:229-243.

78. **Odberg, F.O.** 1978. Abnormal behaviours: (stereotypies), Proceedings at the First World Congress of Ethiology applied to Zootechnics, Madrid, 475-480.
79. **Orlov, M.V., A.m. Mukhlya y N.A. Kulikov.** 1988. Hormonal indices in the bottlenose dolphin in the norm and in the dynamics of experimental stress. Zhurnal Évolutsionnoi Biokhimii I Fiziologii. 24:431-436.
80. **Östman, J.** 1991. Changes in Aggressive and Sexual Behavior Between Two Males Bottlenose Dolphins *Tursiops truncatus* in a Captive colony. In Dolphins and Societies, Discoveries and Puzzles. ed Pryor K y Norris K.S. University of California Press, Berkeley. 397 pp.
81. **Otriz. R.M. y G.A.J, Worthy.** 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.
82. **Pace, D.S.** 2000. Fluke-made bubble rings s toys in bottlenose dolphins calves (*Tursips truncatus*). Aquatic Mammals. 26:57-64.
83. **Parrott, R.F, B.H. Mission y B.A. Baldwin.** 1989. Salivary cortisol in pigs following adrenocotrophic hormone stimulation: comparison with plasma levels. British Veterinary Journal. 145(4):362-366.
84. **Pell, S.M. y P.D. McGreevy.** 1999. A study of cortisol and beta-endorphin level in stereotypic and normal Thoroughbreds. Applied Animal Science. 64:81-90.
85. **Pérez, M.Mm, M.E. Mendoza y M.C. Romano.** 1999. Exfoliative vaginal cytology and plasma levels of estrone and estradiol 17 $\beta$  in young and old adult gotas. Small Rumiant Research. 33:153-158.
86. **Prosser.** 1993. Comparative animal physiology. N.Y. Wiley Ed. 578 pp.
87. **Pryror K. y I.K. Shallenberger.** 1991. Social structure in spotted dolphins (*Stenella attenuata*) in the tuna purse seine fishery in the eastern tropical Pacific. En Dolphin societies. Discoveries and Puzzles. Pryror, K. y K.S. Noris Eds. University of California Press. 397 pp.
88. **Redbo, I.** 1993. Stereotypies and cortisol secretion in heifers subjected to tethering. Applied Animal Behaviour Science.38 (3-4):213-225.
89. **Riad-Fahmy, D., G.F. Read, R.F. Walker y K. Griffiths.** 1982. Steroids in saliva for assessing endocrine function. Endocrinology Review. 3:367-395.

90. **Ridgway, S.H.** 1990. The central nervous system of the bottlenose dolphin. En. The bottlenose dolphin. Leatherwood, S y R. Reeves, Eds. Academic Press Inc.
91. **Rodas, M. A.Z.** 2005. Estacionalidad en la función testicular de monos araña (*Ateles geoffroyi*) en condiciones de cautiverio en Catemaco, Veracruz, México. Tesis de maestría en ciencias de la producción y de la salud animal.
92. **Rushen, J.** 2001. Problems associated with the interpretation of physiological data in the assessment of animal welfare. Applied animal Behaviour Science. 28: 381-386.
93. **Samuels, A. y T. Gifford.** 1997. A Quantitative Assessment of Dominance Relations Among Bottlenose Dolphins. Marine Mammal Science. 13(1):70-99.
94. **Samuels, A. y T.R. Spradlin.** 1995. Quantitative Behavioral Study of Bottlenose Dolphins in Swim-With-Dolphins Programs in the United States. Marine Mammal Science. 11:520-544.
95. **Sayigh, L.S., P.L. Tyack, R. S. Wells, A.R. Solows, M.D. Scott y A.B. Irvine.** 1999. Individual Recognition in Wild Bottlenose Dolphins: A Field Test Using Playback Experiments. Animal Behavior. 57(1):41-50.
96. **Sekiguchi, Y. y S. Koshima.** 2003. Resting behaviors of captive bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). Physiology and Behavior. 79:643-653.
97. **Seyle, H.** 1973. The evolution of the stress concept. American Scientist. 61:692-699.
98. **Shyan, M.R. y D. Merritt.** 2002. Effects of pool size on free-choice selections by Atlantic bottlenosed dolphins at one zoo facility. Journal of Applied Animal Welfare Science. 5(3):215-225.
99. **Small, R. y D.P. DeMaster.** 1995. Acclimation to captivity: A quantitative estimate based on survival of Bottlenose dolphins and California sea lions. Marine Mammal Science. 11(4):510-519.
100. **Sobel, N., A. Supin y M.S. Myslobodsky.** 1994. Rotational swimming tendencies in the dolphin (*Tursiops truncatus*). Behavioural Brain Research. 65(1):41-45.
101. **St. Aubin, D.J. y J.R. Geraci.** 1989. Adaptive changes in hematologic and plasma chemical constituents in captive beluga whales, *Delphinapterus leucas*. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 46:796-803.



102. **St. Aubin, D.J. y J.R. Geraci.** 1990. Adrenal responsiveness to stimulation by adrenocorticotropic hormone (ACTH) in captive beluga whales, *Delphinapterus leucas*. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 224:149-157.
103. **St. Aubin, D.J., S.H. Ridgway y R.S. Wells.** 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.
104. **Stahl, F y G. Dörner.** 1982. Responses to Salivary Cortisol Levels to Stress-Situations. Endocrinologie. 80 (2):158-162.
105. **Suzuki M, T. Tobayama, E. Katsumata, M. Yoshioka y K. Aida.** 1998. Serum Cortisol Levels in Captive Killer Whale and Bottlenose Dolphin. Fisheries Science. 64(4): 643-647.
106. **Suzuki, M., S. Uchida, K. Ueda, T. Tobayama, E. Katsumata, M. Yoshioka y K. Aida.** 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.
107. **Sweeney, J.C.** 1990. Marine Mammal Behavioral Diagnostics. In CRC Handbook of Marine Mammal Medicine: Health, Disease, and Rehabilitation. CRC Press. 53-72 pp.
108. **Terlouw, E.M.C., A.B. Lawrence, J. Ladewig, A.M. De Passille, J. Rushen y W.G.P. Schouten.** 1991. Relationship between plasma cortisol and stereotypic activities in pigs. Behavioural Processes. 25(2-3):133-153.
109. **Thompson, C.A. y J.R. Geraci.** 1986. Cortisol, Aldosterone, and Leucocytes in the Stress Response of Bottlenose dolphins *Tursiops truncatus*. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science. 43:1010-1016.
110. **Tiefenbacher, S., B. Lee, J.S. Meyer y R.D. Speakman.** 2003. Noninvasive technique for the repeated sampling of salivary free cortisol in awake, unrestrained squirrel monkeys. American Journal of Primatology. 60(2):69-75.
111. **Tiefenbacher, S., M.A. Novak, L.M. Marinus, W.K. Chase, J.A. Miller y J.S. Meyer.** 2004. Altered hypothalamic-pituitary-adrenocortical function in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) with self-injurious behavior. Psychoneuroendocrinology. 29(4): 501-515.

112. **Tiefenbacher, S., M.A. Novak, M.J. Jorgensen y J.S. Meyer.** 2000. Physiological correlates of self-injurious behavior in captive, socially-reared rhesus monkeys. *Psychoneuroendocrinology*. 25 799-817.
113. **Tinbergen, N.** 1963. On aims and methods of Ethology. *Z. Tierpsychol.* 20:410-433.
114. **Veasey, J.S., N.K. Waran y R.J. Young.** 1996. On comparing the behavior of zoo animals with wild conspecifics as a welfare indicator, using giraffe (*Giraffa camelopardalis*) as a model. *Animal Welfare*. 5(2):139-153.
115. **Vining R.F. y R.A. McGinley.** 1987. The measurement of hormones in saliva: Possibilities and pitfalls. *Journal of Steroid Biochemistry*. 27(1-3):81-94.
116. **Vining, R.F., R.A. McGinley y R.G. Symons.** 1983. Hormones in saliva: mode of entry and consequent implications for clinical interpretation. *Clinical Chemistry*. 29:1752-1756.
117. **Vining, R.F., R.A. McGinley, J.J. Maksvytis y K.Y. Ho.** 1983. Salivary cortisol: a better measure of adrenal cortical function than serum cortisol. *Annual of Clinical Biochemistry*. 20:329-335. et al. 1983<sup>a</sup>
118. **Walker, R.F., D. Riad-Fahmy y G.F. Read.** 1978. Adrenal status assessed by direct radioimmunoassay of cortisol in whole saliva or parotid saliva. *Clinical Chemistry*. 24(9):1460-1463.
119. **Waples, K.A. y N.J. Gales.** 2002. Evaluating and minimising social stress in the care of captive bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *Zoo Biology*. 21:5-26.
120. **Wielebnowski, N.C., N. Fletchall, K. Carlstead, J.M. Busso y J.L. Brown.** 2002. Noninvasive assessment of adrenal activity associated with husbandry and behavioral factors in the north American clouded leopard population. *Zoo Biology*. 21:77-98.
121. **Würsig, B. y M. Würsig.** 1979. Behavior and ecology of the bottlenose dolphin, *Tursiops truncatus*, in the south Atlantic. *Fish. Bull. U.S.* 77:399-412.
122. **Zayan, R.** 1990. Perspective in the study of social stress. In: Zayan, R and R. Dantzer. 1990. *Social stress in domestic animals*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. pp 31-69.

APÉNDICE I HISTORIA DE VIDA DE LOS SUJETOS DEL ESTUDIO 1

DELFIN	SEXO	AÑO NAC APROX	AÑO CAPTURA	ACTIVIDADES	JERARQUÍA	EDAD DURANTE ESTUDIO	DURANTE EL ESTUDIO	AHORA
BETA	♀	1977	1981	PARQUES	SUBORDINADO	23	APÁTICA SANA	JAMAICA
TRITÓN	♂	1983	1987	GIRAS PARQUES	DOMINANTE	17	ENFERMO APÁTICO	MURIÓ
JUNA	♀	1992	2000	ENTRENAMIENTO	OBSTINADA AGRESIVA	8	ENTRENAMIENTO	DELFINARIO 1
XIMENA	♀	1995	2000	ENTRENAMIENTO	JUGUETONA	5	ENTRENAMIENTO	JAMAICA
BAXAL	♂	1989	1996	GIRAS PARQUES	AHORA DOMINANTE	11	DE VUELTA A DELFINARIO 1, OTRA PAREJA	DELFINARIO 1
COCA	♀	1982	1988	GIRAS PARQUES	DOMINANTE	18	DESCANSO VIENDO LA VENTANA	GIRA
ISIS	♀	1989	1993	GIRAS PARQUES	SUBORDINADO	11	DESCANSO ACTIVA	GIRA

## APÉNDICE II CATÁLOGO DE LAS CONDUCTAS UTILIZADAS

A continuación se presenta una lista de todos los comportamientos que se registraron en el presente estudio.

### ESTADOS

a) Nado. El desplazamiento de un delfín, movimiento del cuerpo a través del agua, en donde la cabeza se traslada antes que el resto de las regiones. No importa dirección o sentido.

#### Dirección del nado

- Horario. El delfín nada en círculo en sentido de las manecillas del reloj.
- Antihorario. El delfín nada en círculo en sentido antihorario.

Nado solo. El delfín nada de manera individual independientemente de lo que haga su compañero.

Nado con objeto. El delfín nada con un objeto colocado en el hocico o en alguna aleta pectoral.

Nado social. El delfín nada junto a otro en sincronía.

b) Estacionario. El delfín está detenido sin desplazarse. Permanece en el mismo lugar. Flota. No necesariamente está inmóvil.

### EVENTOS

#### INDIVIDUALES

a) Bout. Intervalo continuo de conducta. Cada vez que el delfín cambia de estado.

b) Excitabilidad.

- Salto. Movimiento ascendente del cuerpo hacia el aire. La posición en la que el delfín vuelve al agua determina en este caso el tipo de salto.
  - Salto lateral. Vuelve al agua de lado, puede ser el derecho o el izquierdo.
  - Salto dorsal. Al volver al agua cae de espaldas.
- Golpe. El delfín golpea la superficie del agua con alguna de sus aletas.
  - Golpe aleta caudal. Golpea con la aleta caudal.
  - Golpe aleta pectoral. Golpea con alguna de las dos aletas pectorales o las dos.
- Sonido Espiráculo. El delfín produce un sonido o soplido proveniente del espiráculo.

- Nsdra. Nado sumergido dorsal rápido y antihorario.
- c) Exploración
- Vertical. El delfin sale del agua en posición vertical ayudado de la aleta caudal y entra de la misma manera.
  - Salto adelante. Lo primero que toca el agua es la parte posterior.
- d) Interacción con objetos. Interactúa con objetos que se encuentran en la alberca.
- e) Redirigidas
- Rascarse. Frotación de cualquier parte del cuerpo con las paredes o bordes de la alberca o con algún otro objeto.
  - Morder objeto. El delfin muerde un objeto que se encuentra en la alberca o alguna parte de la misma.
  - Masturbación. El delfin se masturba con un objeto que se encuentra en la alberca.

#### SOCIALES

##### a) Agresivas

- Morder. Un individuo lanza una mordida a otro.
- Persecución. Un individuo sigue a otro de manera apresurada por la alberca.

##### b) Evasivas

- Huida. Un delfin se aleja ante la aproximación de otro.

##### c) Afiliativas

- Roce. Un sujeto eventualmente toca a otro.

**APÉNDICE III AMBIENTE ANTERIOR Y ACTUAL (2001) DE CADA DELFÍN DEL ESTUDIO 1**

66

<b>DELFIN</b>	<b>PAREJA DELFINARIO</b>	<b>DELFINARIO ANTERIOR</b>	<b>DELFINARIO ACTUAL</b>	<b>PAREJA ANTERIOR</b>	<b>FECHAS DE OBSERVACIÓN</b>	<b>HORAS OBSERVACIÓN</b>	<b>DÍAS OBSERVACIÓN</b>
Beta	1	4	1	Cometa	Sep 11 - Sep 29	32.08	17
Tritón	1	1	1	Baxal	Sep 11 - Oct 13	43.16	22
Juna	2	5	2	Ximena	Sep 11 - Oct 5	39.75	20
Ximena / Juna	2	5	2	Juna	Sep 11 - Oct 5	39.75	20
Baxal	3	1 y 4	1	Tritón y Cometa	Oct 17 - Oct 27	41.83	10
Ximena / Baxal	3	2	1	Juna	Oct 17 - Oct 27	41.83	10
Coca	4	Gira	3	Isis	Nov 17 - Nov 26	39.75	11
Isis	4	Gira	3	Coca	Nov 17 - Nov 26	39.75	11

**APÉNDICE IVa CARACTERÍSTICAS DE LOS DELFINARIOS EN EL ESTUDIO 1**

<b>DELFINARIO</b>	<b>COMPOSICIÓN</b>	<b>FORMA</b>	<b>MEDIDAS</b>	<b>CAPACIDAD APROX (m<sup>3</sup>)</b>	<b>ACTIVIDADES</b>
1	Concreto	Oval	20 x 16 m 5 m profundidad	1600	Nados, espectáculos, delfino-terapias, buceo. Lunes descanso
2	Concreto	Redonda	12 m diámetro 3 m profundidad	340	Entrenamiento diario
3	Concreto	Rectangular	7 x 5 m 3.5 m profundidad	122	Holding comida gratis
4	Concreto	Redonda	18 x 18.5 m 5 m profundidad	1665	Nados, espectáculos, delfino-terapias. Lunes descanso
5	Concreto	Oval	10 x 4 m 3 m profundidad	144	Holding entrenamiento

**APÉNDICE IVb CARACTERÍSTICAS DE LOS DELFINARIOS EN EL ESTUDIO 2**

<b>DELFINARIO</b>	<b>COMPOSICIÓN</b>	<b>FORMA</b>	<b>MEDIDAS</b>	<b>CAPACIDAD APROX (m<sup>3</sup>)</b>	<b>ACTIVIDADES</b>
6	Lona	Rectangular	60 x 27 m 4.5 m profundidad	7290	Entrenamiento Nados y encuentros
7	Concreto	Oval	70 x 30 m 4 m profundidad	8400	Entrenamiento Nados





**BAXAL**

SEP		OCTUBRE									
4	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
*	*										
0.726											

**XIMENA / BAXAL**

SEP		OCTUBRE					DIC					
4	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
*	*											*
1.5												

**COCA**

NOVIEMBRE										
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
										*

**ISIS**

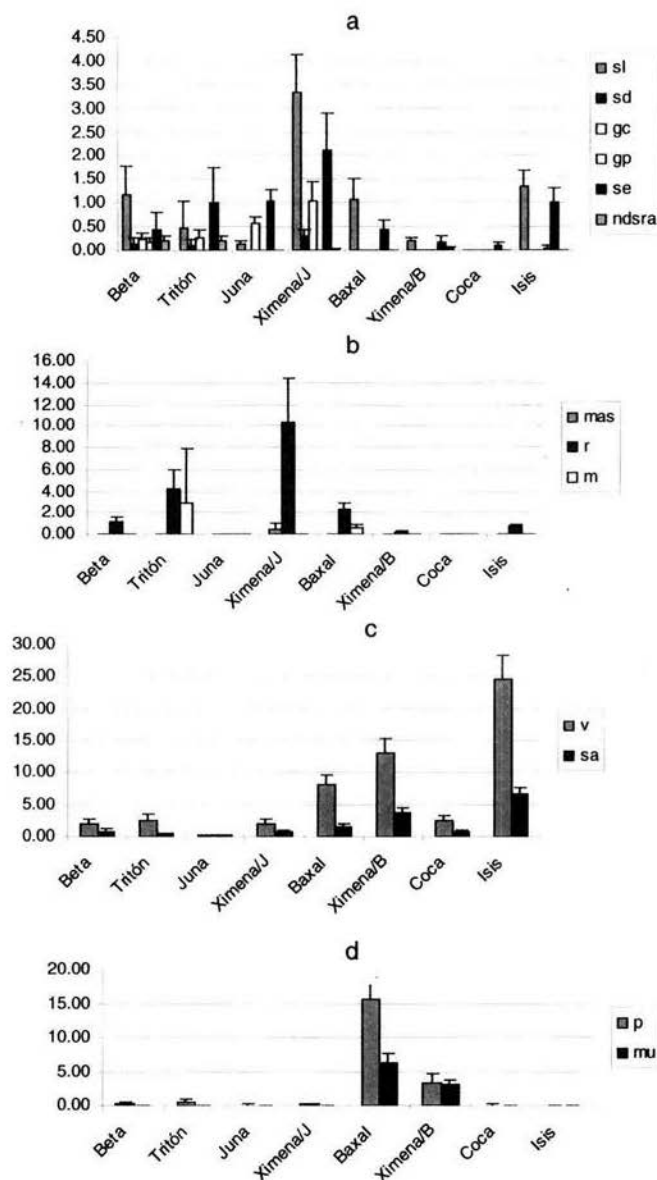
NOVIEMBRE										
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
										*

\* = muestra de sangre

Concentración de cortisol ng/mL determinado con tritio

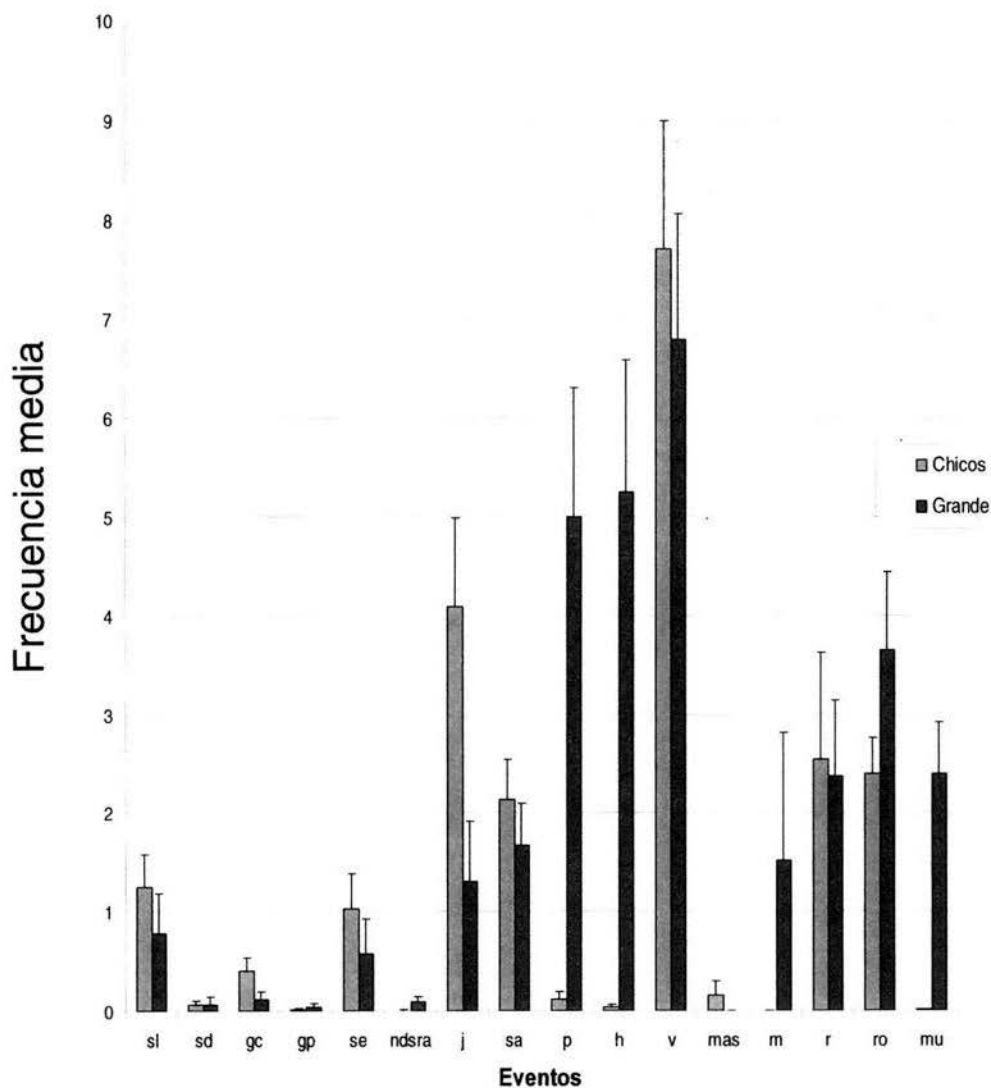
## APÉNDICE VI GRÁFICAS DE LAS FRECUENCIAS MEDIAS DE LA EMISIÓN DE EVENTOS CONDUCTUALES POR DELFÍN

Frecuencia media



Frecuencia media de eventos conductuales  $\pm$  ES por delfín. En a) se presentan los eventos que constituyen la categoría de excitabilidad. b) se presentan los eventos que constituyen la categoría de conductas redirigidas. c) se muestran las conductas de exploración y d) se muestran las conductas que son consideradas como conductas agresivas.

**APÉNDICE VII EFECTO DEL TAMAÑO DE ALBERCA SOBRE LAS CONDUCTAS EN 7 DELFINES**



Frecuencia media de los eventos conductuales  $\pm$  ES en los dos tamaños de alberca: chica y grande.

## APÉNDICE VIII EFECTO DEL TIEMPO EN CAUTIVERIO SOBRE LAS CONDUCTAS EN SIETE DELFINES

Proporción del tiempo en estado de conducta

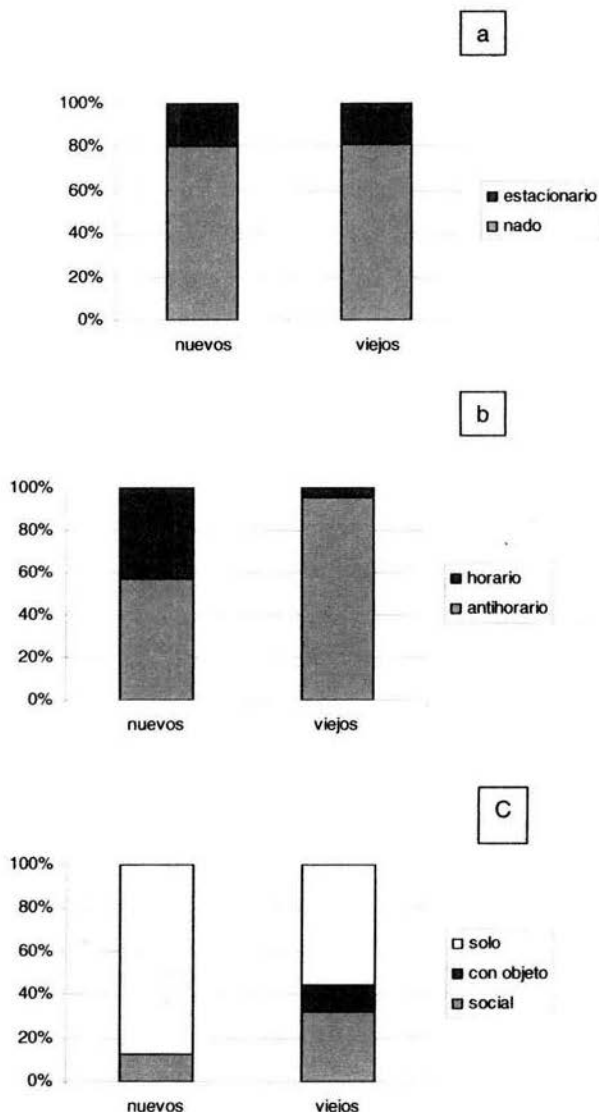
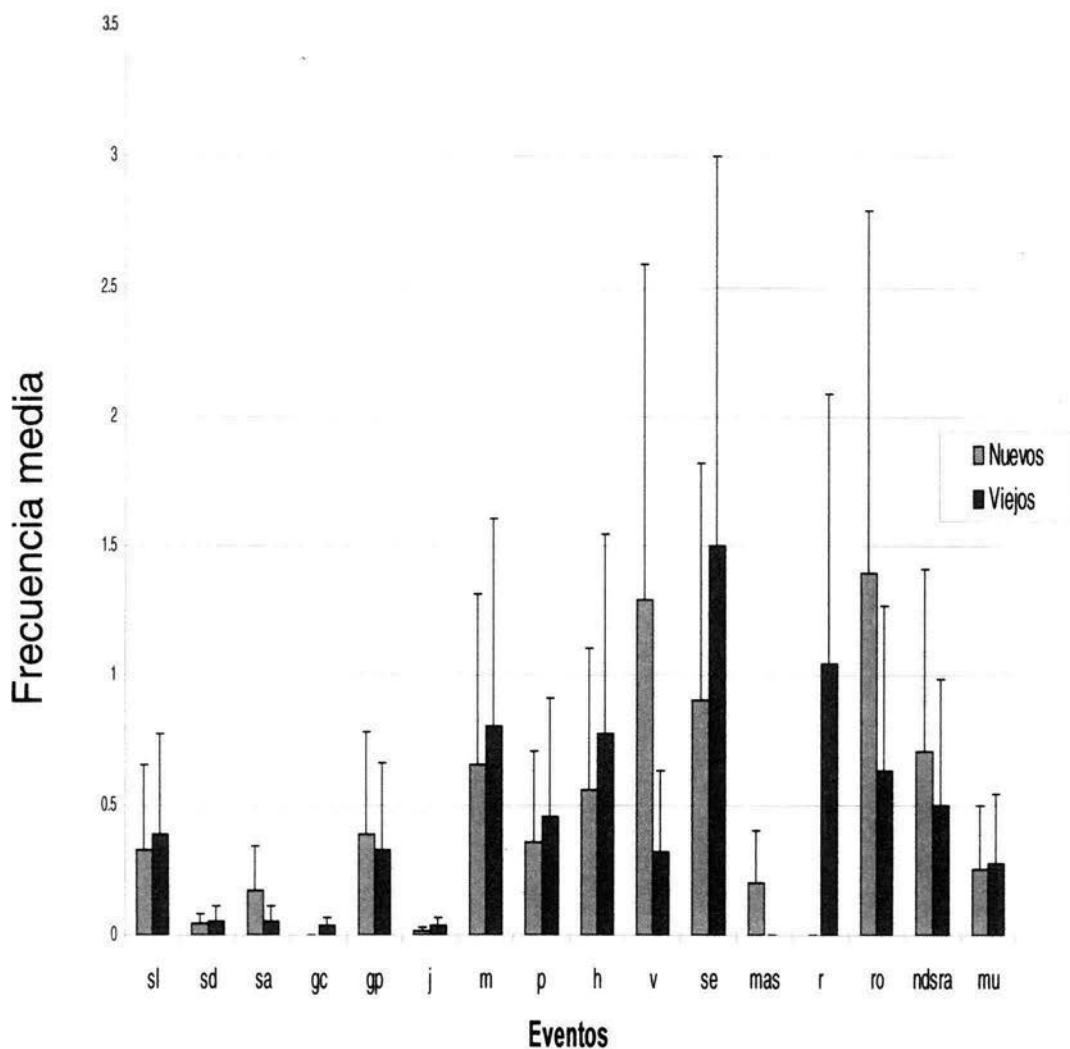


Figura 11. Proporción del tiempo total en estados de conducta dependiendo del tiempo en cautiverio: nuevos (menos de un año) y viejos (más de 5 años). a) Proporción en estado de nado y estacionario para nuevos y viejos. b) Proporción en la direccionalidad del nado para nuevos y viejos. c) Proporción de lo que hace mientras nada: solo, con su compañero y/o con un objeto.

CONTINUACIÓN APÉNDICE VIII EFECTO DEL TIEMPO EN CAUTIVERIO SOBRE LAS CONDUCTAS EN 7 DELFINES



Frecuencia media de los eventos conductuales  $\pm$  ES dependiendo del tiempo que llevan en cautiverio: nuevos o viejos.

## APÉNDICE IX

### HISTORIA DE VIDA DE LOS SUJETOS DEL ESTUDIO 2

DELFIN	SEXO	AÑO NAC	AÑO CAPTURA	DELFINARIO	EDAD	CARACTERÍSTICA
Amixle	♂	1990	-	1	11	Único macho
Nuna	♀	1990	-	1	11	Unida a Tinda
Ashin	♀	1992	-	1	9	Gorda y hábil, la más joven. Embarazada?
Tinda	♀	1990	-	1	11	Embarazada? Unida a Nuna
Mitzon	♂	1996-97	Ago 2000	2	4 - 5	Entrenamiento
Yashui	♀	1996-97	Ago 2000	2	4 - 5	Entrenamiento
Karina	♀	1996-97	Ago 2000	2	4 - 5	Entrenamiento
Chirris	♀	1996-97	Ago 2000	2	4 - 5	Entrenamiento
Beta	♀	1977	1981	4	23	Apática
Ximena	♀	1995	2000	2	5	Entrenamiento
Juna	♀	1992	2000	2	8	Entrenamiento
Baxal	♂	1989	1996	1	11	Apático y después normal