



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO Y BIENESTAR DE
DELFINES *Tursiops truncatus* EN DELFINARIOS DE MÉXICO.**

**TESIS
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN
Y DE LA SALUD ANIMAL**

**PRESENTA:
MV M en C CRISTIAN MARCEL UGAZ RUIZ**

ASESOR: FRANCISCO GALINDO MALDONADO

**COMITÉ TUTORAL:
Dra. MARTA ROMANO PARDO
Dr. LUIS ZARCO QUINTERO**

MÉXICO, D.F.

2009



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DEDICATORIA

A Gaby y Emiliano (†), nunca los dejare de amar y llevar conmigo, cada momento de mi vida lo dedico a tenerlos en mi corazón.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco mucho a todos lo que me ayudaron a realizar esta parte de mi vida.

- A todos los que componen y descomponen el Laboratorio de Fisiología II del CINVESTAV del IPN.
- Gracias a la Dra Marta Romano, Dr. Luis Zarco y Dr. Francisco Galindo, por apoyarme en todos los años que esto nos llevo-
- Gracias a Via Delphi, Convimar, Delfiniti, Dolphinaris y ZooAquarium de Madrid, por darme las facilidades para desarrollar esta investigación
- A la DGEP, por brindarme el apoyo económico durante el desarrollo de este estudio, por medio de la Beca de la Dirección-
- Gracias a PAPIIT, por el apoyo económico que nos brindo para el desarrollo de toda la investigación.
- Agradecimientos a MVZ Jorge Guzmán, MVZ Raúl Torres, MVZ Leonardo Ibarra, MVZ José Luis Solórzano, Biolg. Ana María Espinosa, Psicólogo Román Soto.

ÍNDICE

Dedicatoria		
Agradecimientos		
RESUMEN		
ÍNDICE	1	
1. Antecedentes	4	
1.1 Biología de la especie		4
1.2 Tendencia creciente de delfinarios en América Latina	5	
2. Efectos de cautiverio sobre el comportamiento	7	
3. Relaciones entre cambios en el comportamiento y actividad adrenal	12	
4. Efecto de la actividad adrenal sobre la reproducción		16
5. Bienestar animal y su evaluación	18	
6. Justificación del proyecto	20	
OBJETIVO GENERAL	21	
OBJETIVOS ESPECIFICOS	21	
HIPÓTESIS	21	
MATERIALES Y MÉTODOS	22	
Generales	22	
Localización y sujetos	22	
Estudio 1.		
Comparación de la pautas de comportamiento de mantenimiento y sociales con los perfiles de cortisol entre los diferente ambientes	24	
Objetivo	25	
Metodología	26	
Muestras de Saliva y Análisis de Cortisol	26	
Mediciones de comportamiento	26	
Análisis estadísticos	27	

Resultados	27
Estados de comportamiento	27
Cortisol salival	30
Ambientes cerrados versus abiertos	31
Correlación pautas de comportamiento y cortisol salival	32
Discusión	32
Diferencias en el comportamiento	32
Concentración de cortisol salival	35

Estudio 2.

Comparación de actividad reproductiva (hormonal y gonadal) de delfines alojados en los diferentes tipos de ambientes	39
Objetivos	41
Metodología	41
Evaluación de hormonas reproductivas.	41
Evaluación reproductiva gonadal	42
Análisis estadísticos	42
Resultados	42
Discusión	51

Estudio 3.

Influencia de la estructura social sobre la dinámica de interacciones sociales bajo diferentes ambientes físicos	56
Objetivo	59
Metodología	59
Análisis estadístico	60
Resultados	60
Discusión	61

Estudio N°4

Análisis de estrategias de conducta individual en instalaciones	
--	--

abiertas y cerradas.	64
Objetivo	64
Metodología	64
Resultados	66
Discusión	69
Discusión general	71
Bienestar, comportamiento y actividad adrenal	71
Diferencias Individuales	77
Estabilidad Social del grupo	78
Investigaciones Futuras	79
INSTITUCIONES PARTICIPANTES	80
LITERATURA CITADA	81
ANEXOS	
Anexo 1 Listado de animales utilizados en este estudio	101
Anexo N° 2 Alberca del delfinario A	102
Anexo N° 3 Alberca del delfinario B	103
Anexo N° 4 Muelle del delfinario C	104
Anexo N° 5 Muelle del delfinario D	105

1. Antecedentes

1.1 Biología de la Especie

Los delfines nariz de botella (*Tursiops truncatus*) son considerado dentro del grupo de los pequeños cetáceos y están extensamente distribuidos en los océanos templados y tropicales. En el oeste del océano atlántico, es común verlo desde el norte de Argentina hasta la costa de Nueva Inglaterra (Kenney RD, 1989), y en el noreste se ven hasta las islas británicas, lugar donde se observan encallamientos masivos (Brown 1975, citado por Kenney RD, 1989). El delfín nariz de botella tradicionalmente no habita aguas poco profundas, la mayoría de las poblaciones se encuentran en mas abierto, aunque existen poblaciones que habitan las costas (por ejemplo *Tursiops aduncus*). Las poblaciones de mayor tamaño habitan en mares de aguas templadas y tropicales (Mooney J, 1998). Caldwell and Caldwell (1972), estudiaron varias poblaciones de delfines en vida libre, y concluyendo que estos animales pueden tener un territorio estacional y un territorio para viajes, que pueden llegar a abarcar larga distancia de hasta 500 Km. hacia el Norte en la costa sur de California, y también reportó movimientos de ida y vuelta de 600 Km. en el mar argentino.

Al ser los delfines animales sociales, generalmente se les encuentra en grupos de 2 a 15 individuos; aunque se han observado grupos de hasta 1,000 ejemplares en África del Sur (Wells and Scott, 1999). El sexo, la edad, la condición reproductiva y las relaciones familiares parecen ser los factores más importantes para la conformación de los grupos sociales. Así por ejemplo, en la región de Sarasota (Florida, EE.UU), hay tres tipos de agrupaciones: bandas de hembras adultas con sus crías recientes, grupos de ambos sexos y de subadultos, y machos adultos solitarios o en pares (Wells et al, 1987).

El delfín nariz de botella ha sido la especie más comúnmente mantenida en cautiverio, principalmente por que combina una buena respuesta al entrenamiento con la habilidad para tolerar mejor el cautiverio. Que otras especies de delfines.

Esto contrasta con algunas otras especies como el delfín del río Amazonas o Boto (*Inia geoffrensis*) y el Baiji (*Lipotes vexillifer*) que toleran pobremente el cautiverio y no desarrollan el comportamiento aéreo que es atractivo para los espectadores. Otros delfines, como el Delfín de lado blanco del Pacífico (*Lagenorhynchus obliquidens*), tienen poca tolerancia al cautiverio, por su acelerado metabolismo, pero su actividad aérea es tan espectacular, que estimula a las colecciones acuáticas a mantenerlos en sus instalaciones (Mayer 1998).

1.2 Tendencia creciente de los delfinarios en América Latina

A mediados de la década de los 70's se inició la industria de los espectáculos de mamíferos marinos en la Ciudad de México, desde ese entonces ha ido en aumento este tipo de empresas del entretenimiento, y por ende el número de animales en cautiverio.

Actualmente en México existen delfinarios en muchas ciudades de la República, especialmente en las áreas turísticas costeras, como el sureste del país (estado de Quintana Roo especialmente), así como también el noroeste (Baja California sur y norte), además de existir espectáculos itinerantes por diferentes ferias del país. La base de los animales utilizados actualmente fue capturada desde vida libre, y debido a la demanda de estas empresas y a las bajas tasa de reproducción que existían, cada vez hubo una mayor demanda por este tipo de animales.

La controversia sobre el mantenimiento de cetáceos en cautiverio se ha incrementado durante los últimos años enfocándose muchas veces, más a demandar la liberación de los cetáceos en cautiverio que a la educación ambiental del público en general, utilizándose generalmente más las motivaciones emocionales que argumentos concretos y basados en evidencia científica. Una buena educación utilizando información adecuada podría lograr que la opinión pública no tolerara la continua captura y confinamiento de los delfines (Mooney J,

1998). La diferencia entre mantener mamíferos terrestres o acuáticos en cautiverio radica en la imposibilidad de igualar las condiciones necesarias para satisfacer al 100 % las necesidades fisiológicas, sociales y ambientales de los animales, debido a las limitaciones de los espacios físicos con los que se llega a contar (Mooney J, 1998). Los cetáceos son grandes mamíferos que mantienen lazos familiares muy fuertes, realizan largos viajes, y se alimentan y se comunican manteniendo siempre una cohesión grupal; el cautiverio compromete severamente ese tipo de relaciones, especialmente en encierros donde no pueden expresar ese tipo de actividades grupales (Mooney J, 1998).

Durante el año 2003 se decretó la Norma Oficial Mexicana 135 de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (NOM-135-SEMARNAT) que prohíbe la importación y capturas de los delfines, obligando de esta manera a los delfinarios a reproducir a sus animales para obtener reemplazos. Dentro de las empresas que existen en México hay varias que tienen programas de reproducción estables, pero con parámetros relativamente pobres que podrían ser mejorados especialmente en las empresas que poseen instalaciones en corrales en el mar, que permiten que los animales se encuentren en condiciones más semejantes a las naturales.

2. Efectos de cautiverio sobre el comportamiento

El comportamiento de cualquier especie silvestre es el resultado de muchas generaciones de selección natural y adaptaciones a las diferentes condiciones ambientales específicas del hábitat en el que se desarrolla la especie. El cautiverio, sin embargo, impone a los animales un ambiente muy diferente al entorno donde han evolucionado y para prosperar en esas condiciones los animales deben ajustarse a las diferencias. La capacidad de una especie para responder con conductas de su repertorio natural a las condiciones de cautiverio depende de una compleja interacción entre factores del desarrollo, experiencia y

herencia, así como del grado de semejanza del ambiente de cautiverio al natural (Shepherdson, 1994; Carlstead 1996; Poole 1998). Debido a que la conducta es una consecuencia de las interacciones entre los factores genéticos y ambientales, las fallas para reproducir un ambiente que sea por lo menos funcionalmente equivalente al silvestre puede provocar la pérdida de los patrones conductuales naturales, incluyendo aquellas conductas que son aprendidas y que han pasado de una generación a otra. La diversidad de estas conductas transmitidas tiene el potencial de perderse más rápido que la diversidad genética y, a diferencia de los genes, el comportamiento no puede ser críopreservado (Sepherdson, 1994; Seidensticker y Doherty, 1996).

Una de las mayores diferencias entre los ambientes naturales y los de cautiverio es la posibilidad que tiene el animal en vida libre para controlar el impacto de los estímulos recibidos a través de la realización de ajustes conductuales. Los animales silvestres tienen más posibilidad de acercarse, explorar, buscar, atacar, escapar, evitar y esconderse frente a un estímulo mientras que en los animales cautivos generalmente tienen limitaciones para enfrentar y modificar la presencia o impacto de los estímulos externos a los que están expuestos. Por ejemplo, la relación entre la presentación de una conducta (búsqueda de alimento) y la consecuencia adecuada (obtenerlo) le proporciona control al animal, pero la falta de esta relación generalmente produce frustración y estrés (Carlstead 1993; Shepherdson *et al.*, 1993). En cautiverio, donde el ambiente está restringido, los animales tienen una limitada capacidad de alterar los estímulos externos a los que están expuestos (Carlstead, 1996) y es más probable que los animales no puedan realizar los pasos necesarios para evitar los estímulos adversos (Dawkins, 1990).

En situaciones donde los animales se ven incapacitados para realizar patrones de comportamiento fuertemente motivados, aparecen en su lugar conductas anormales; las que se describen como aquellas conductas que no aparecen en situaciones de libertad (Mason, 1991). Algunos de los problemas de

comportamiento relacionados con alteraciones en los sistemas motivacionales de conducta son: estereotipias, conductas redirigidas, pasividad e hiperexcitabilidad (Broom y Johnson, 1993). Así, en algunas especies de aves y mamíferos carnívoros, la manera de evitar los estímulos se traduce en movimientos estereotipados de locomoción (Ödberg, 1986; Mason, 1993). La realización de conductas al vacío o de desplazamiento en animales de granja, así como en animales de zoológico, se han relacionado con estados elevados de motivación (Vestergard, 1980; citado por Mason 1991). Parece ser que la realización de estos comportamientos provee a los animales de una percepción de control del medio más que un control real (Carlstead, 1996).

Las conductas anormales son de naturaleza diversa, la repetitividad y la inflexibilidad, así como el tipo y el tiempo dedicado a ellas dependen de la especie y del estímulo que las provoca (Mason, 1991), aunque también varían entre individuos. Mason (1991) define la estereotipia como un patrón de comportamiento que es repetitivo, constante y sin un objetivo obvio. Los comportamientos anormales, sobretudo estereotipias, han sido ampliamente reportadas en carnívoros como osos, zorras y mustélidos, y de hecho se presentan con relativa frecuencia en especies de este taxón (Carlstead, 1991a,b; 1993). Se ha observado, por ejemplo, que las estereotipias de caminata que presentan varios felinos de zoológico están relacionadas con la colocación de la carne en los encierros (Carlstead, 1998). Otras conductas anormales observadas en felinos en cautiverio son: acicalamiento excesivo, arrancarse el pelo y lamido excesivo de patas y cola (Carlstead *et al.*, 1993). En cánidos, concretamente en fennecs (Vulpes o Fennecus zerda), se han descrito estereotipias post-alimentación relacionadas con la motivación de cazar presas (Carlstead, 1991a).

Los estímulos psicológicos juegan un papel importante en la adaptación de las especies silvestres a los ambientes de cautiverio y a las prácticas de contención. La aprehensión ante el cautiverio en algunas especies puede iniciar como un suave estímulo psicológico que luego puede intensificarse hasta convertirse en

ansiedad, miedo o, en formas más severas, terror. Algunos animales llegan a enfurecerse; La frustración también es un estímulo psicológico estresante para los animales en cautiverio (Fowler, 1986). Los estímulos estresantes psicológicos impuestos por el cautiverio, están estrechamente relacionados con muchos estresores de comportamiento, como un entorno desconocido, sobrepoblación, desorden territorial o jerárquico, cambios en los ritmos biológicos, falta de contacto social (o al revés, falta de aislamiento) y falla en la obtención de los alimentos habituales (Fowler, 1986).

En el cautiverio los procedimientos de contención constituyen uno de los eventos más estresantes en la vida de un animal, y la intensidad o duración del estímulo puede inducir una respuesta perjudicial (Fowler, 1986).

Los mamíferos marinos en cautiverio tienen que enfrentar factores de estrés que son demandantes sobre sus habilidades adaptativas, repercutiendo negativamente sobre su bienestar. Estos animales tienen que sobrellevar cambios ambientales físicos y sociales, debidos al diseño de los encierros, diferencias en la presentación y tipo de alimento, así como en la estructura social, lo que provoca alteraciones en el comportamiento individual y en su interacción grupal (Miguel, 2004).

El reposo o descanso es un estado conductual fundamental e importante para la salud de muchas especies; ha sido descrito en los delfines como la conducta en la cual el animal nada lentamente o permanece estático por varios minutos a cierta profundidad (Goley, 1999; Constantine et al, 2004). El sueño de esta especie ha sido mejor estudiado en los ejemplares cautivos, y desde 1964 Lilly (citado por Sekiguchi y Kohshima, 2003) fue el primer investigador que sugirió que los delfines cierran sus ojos alternativamente durante los periodos de inactividad; varios estudios posteriores han demostrado la actividad alternada de los hemisferios cerebrales y su influencia en la conducta de descanso (Ridgway, 2006 a y b).

El delfín es una especie que se caracteriza por desarrollar una amplia y compleja conducta social, situación que en cautiverio es muy diferente. Por ejemplo, en cautiverio los machos adultos permanecen continuamente con el grupo principal, lo que puede causar problemas sociales o de comportamiento, especialmente con los machos jóvenes del grupo e incluso con cierta frecuencia se pueden observar despliegues de conducta agonista. Sin embargo, también es posible observar ciertas pautas de conducta afiliativa, la cual expresan a través de varios patrones como son el contacto físico y la sincronización de movimientos. En vida libre se han observado varios machos nadando con movimientos de alineación perfectamente sincronizados, y algunos contactos durante el nado son considerados como una expresión de afiliación, (Carwardine et al, 1999; Mann et al, 2000).

Un importante factor de estrés es la disminución radical en el espacio disponible que ocurre cuando se capturan delfines del océano y sus estuarios y se ponen en corrales artificiales de cautiverio o en estanques (St Aubin y Dierauf, 2001; Vail, 2005). En la actualidad en México se distinguen dos tipos de encierros: en la primera categoría tenemos a las instalaciones cerradas con calidad de agua regulada por sistemas de filtración, intentando asemejarla a la marina. En muchos casos son delfinarios cercanos al mar que bombean agua marina a las albercas en donde mantienen a los delfines, aunque continúan dándole algún tratamiento químico. Estos albergues cerrados se caracterizan por estar contruidos en mampostería y cumplen con las dimensiones mínimas y los requisitos de operación establecidos en la legislación, para el caso de México la Norma Oficial Mexicana NOM-135-SEMARNAT-2004 para la regulación de la captura para investigación, transporte, exhibición, manejo y manutención de mamíferos marinos en cautiverio (Diario Oficial de la Federación, 2003), como es un diámetro horizontal mínimo (DHM) de 7.32 m para todas las especies menores a 3.66 m; una profundidad mínima equivalente a la longitud máxima del adulto de la especie más larga, mientras que el volumen del tanque (cuando son más de 2 ejemplares)

deberá ser el resultado de la longitud promedio del adulto sobre dos elevado al cuadrado, multiplicado por 3.14 m y por la profundidad. En la segunda categoría se encuentran las llamadas instalaciones abiertas o corrales en el mar, los cuales se distinguen por estar ubicados en importantes centros turísticos junto al mar, son de mayor dimensión y los animales se mantienen aislados del océano por una malla ciclónica, aunque confinados en su medio natural, recibiendo intercambio de agua del exterior ya sea por flujo de agua de mareas u otras fuentes y únicamente se verifica periódicamente su calidad. Estas instalaciones también están regidas por la norma oficial mexicana antes citada (Diario Oficial de la Federación, 2003).

3. Relaciones entre cambios en el comportamiento y actividad adrenal

Los estímulos ambientales son percibidos por los órganos de los sentidos e integrados en las estructuras superiores del cerebro: hipotálamo, sistema límbico (amígdala e hipocampo) y neocorteza. Desde el momento en que se percibe un estímulo como adverso se pone en marcha toda una intrincada cascada de señalización hormonal por diferentes vías. A los pocos segundos, mediante la activación de las vías simpáticas del Sistema Nervioso Autónomo se liberan catecolaminas hacia la sangre. Desde el hipotálamo, por vía axonal, la información llega a la hipófisis posterior (neurohipófisis) y se produce la liberación de vasopresina y oxitocina. El hipotálamo produce la Hormona Liberadora de Corticotropina (CRH) que viaja por vía portal hasta la adenohipófisis y estimula la liberación de prolactina y del péptido pro-opiomelanocortina (POMC), el cual podrá ser procesado para formar sustancias opioides (β -endorfinas) y ACTH. Esta última es la responsable de la estimulación de la corteza adrenal para la liberación de glucocorticoides, apareciendo un aumento de su concentración sanguínea pocos minutos después del estímulo. El cortisol se transporta en sangre libre o unido a albúmina y globulinas específicas (transcortina), teniendo una vida media en la circulación de 80 a 120 minutos, hasta que sufre un proceso de catabolismo

principalmente en el hígado y en menor medida en riñón, tejido conectivo, fibroblastos y músculos (Brownie, 1992).

El Síndrome General de Adaptación (GAS) es todo el proceso de adaptación que sufre el organismo al enfrentarse a factores de estrés (Selye, 1950; citado por Nelson 2000). Primero se pasa por un estado de alarma y reacción, en el cual se detecta el factor de estrés y predomina el eje simpático-adrenal. Si el estímulo continua, se pasa por un estado de habituación o resistencia con la consecuente activación del eje Hipotálamo Hipófisis Adrenal. Si el estímulo es persistente y no se logra la adaptación, se llega al estado de agotamiento del sistema, donde aparecen estados patológicos debido a la activación prolongada de la respuesta de estrés (Sapolsky, 1992). De este modo, mientras que la respuesta de estrés aguda puede ser beneficiosa para los animales, ésta puede llegar a ser dañina si se prolonga o se repite (Wingfield y Ramenofsky, 1999; Creel, 2001).

En estados de estrés crónico, donde existe un aumento sostenido de cortisol en sangre, hay una disminución de la habilidad inclusiva individual por inmunodepresión y atrofia de tejidos (Munck *et al.*, 1984; Toates, 2000). Generalmente se habla de estrés crónico como un estado constante e invariable, pero se pueden considerar estados de estrés a largo plazo bajo situaciones repetidas de estrés agudo, donde se estaría hablando de estrés crónico intermitente (Ladewing, 2000).

El efecto que produce un factor de estrés depende de la experiencia subjetiva de los animales, de manera que una misma situación puede afectar en forma diferente a varias especies o individuos (Ladewing, 2000). Los animales, particularmente los mamíferos, son sensibles a condiciones ambientales adversas, las cuales son percibidas como amenazas (Rivier y Rivest, 1991). La respuesta a estos estímulos es la activación del Sistema simpático-adrenal (SSA) y del eje Hipotálamo-Hipófisis- Adrenal (HHA), estado en el que se pueden desarrollar conductas anormales (Berridge y Dunn, 1989).

Debido a que el desarrollo de estereotipias ha estado relacionado en muchos casos con altos niveles de estrés (McBride y Cuddelford, 2001), es de esperar que dichas estereotipias tengan relación con cambios en el eje HHA (Ladewing *et al.*, 1993). Sin embargo, existen controversias ya que se han encontrado concentraciones de corticoides menores en aves y cerdos que realizaban estereotipias comparados con individuos que no las desarrollaban (Kostal *et al.*, 1992; Cronnin y Barnett, 1987). También se han observado niveles más bajos de cortisol en primates con conductas de auto mutilación en comparación con sus compañeros que no las realizaban (Tiefenbacher *et al.*, 2000; 2004). Por el contrario, otros estudios realizados en cerdos, encontraron un aumento en la concentraciones de cortisol y de conductas estereotipadas en situaciones de estrés (Redbo, 1993), pero otros autores indican no haber encontrado relación alguna entre la concentración de cortisol circulante y la presencia o ausencia de estereotipias en cerdos y caballos (Terlouw *et al.*, 1991a, b; vonBorell y Hurnik, 1990; Redbo, 1993; Pell y McGreevy, 1999). Lo que sí se ha concluido es que no existe una respuesta neuroendocrina común o un único mediador neuroendocrino que haga predecibles los cambios de comportamiento e inmunitarios después de un estado de estrés (Morrow-Tesch *et al.*, 1993).

Para el caso de los mamíferos marinos y particularmente en los delfines, el estrés juega un papel fundamental en el desarrollo de su vida, debido al cambio de ambiente físico y social que sufren cuando son capturados, situación que afecta su comportamiento y fisiología, porque la mayoría de los individuos son extraídos de la vida libre debido a la pobre o nula tasa de reproducción en cautiverio (Dierauf, 1990; Fair y Becker, 2000).

En algunos estudios se han determinado las concentraciones de cortisol, corticosterona y aldosterona plasmáticos en animales semi-domesticados y en delfines silvestres, lo que ha permitido conocer la forma en que estos animales se

adaptan a los diferentes factores de estrés (Ortiz y Worthy, 2000; Thompson y Geraci, 1986; St. Aubin, et al, 1996)

En relación a los delfines cautivos en México, Miguel (2004) evaluó la concentración de cortisol salival en delfines nariz de botella y relacionó sus resultados con las actividades que realizaban previamente los individuos, observando que las mayores concentraciones séricas de cortisol se hallaban después de realizar algunas actividades específicas, como terapias, que les exigen a los animales estar en una posición inmóvil durante varios minutos en forma repetida. Otro hallazgo fue el aumento en la concentración salival de cortisol una vez terminado el espectáculo, pero esa elevación se relacionó con la alta actividad física que implica el efectuar los saltos y vueltas.

Es necesario contar con estudios de medición de la conducta, como la proporción del tiempo que cada delfín o tonina dedica en estanques y corrales en el mar a estados de comportamiento individual, así como la frecuencia de eventos a lo largo del día, acompañados de evaluación del bienestar mediante cuantificación de la actividad adrenal (Clark et al, 1997 b). Las polémicas sobre la relevancia y justificación de continuar con el confinamiento de estos ejemplares, obliga el desarrollo de investigaciones que aporten conocimientos suficientes para su conservación, protección y manejo sustentable, manteniendo su bienestar con una calidad de vida aceptable (Small y De Master, 1995 b).

4. Efecto de la actividad adrenal sobre la reproducción

Minutos después de la percepción del estresor el CRH es liberado en las terminaciones nerviosas de la eminencia media del hipotálamo, pasando a través de la circulación portal hasta la hipófisis anterior, donde estimula a células específicas para secretar ACTH, que entra a la circulación sanguínea general y estimula a la corteza adrenal para producir y secretar glucocorticoides (Balm,

1991). En respuesta al estrés también se liberan endorfinas y las encefalinas, que son importantes para proveer alivio al dolor, pero estas hormonas también suprimen secreción de la GnRH, con lo cual se inhibe la función reproductiva. Con esto, todos los procesos que están involucrados en la sobrevivencia futura o éxito de la reproducción (por ejemplo, almacenaje de energía en forma de grasa, producción de gametos, crecimiento, etc.) son detenidos hasta cuando mejoren las condiciones (Sapolsky, 2000). Esto tiene obvias consecuencias negativas en el éxito reproductivo de los animales silvestres que viven en cautiverio sin las condiciones ambientales adecuadas (Nelson, 2000).

El estrés crónico acompañando de elevaciones constantes y excesivas de las concentraciones del cortisol tienen efectos patológicos sobre los sistemas cardiovascular, reproductivo, digestivo e inmune y afecta los procesos metabólicos, estimulando el catabolismo e inhibiendo el anabolismo general (Sapolsky, 1992, 2000; Brown, 1994).

Alternativamente, la reproducción o la función inmune estarían comprometida cuando la disponibilidad de energía esté significativamente reducida (Nelson, 2000). La supresión de la reproducción en la respuesta al estrés ocurre en muchos niveles fisiológicos y de comportamiento y puede tener severos efectos en animales y humanos (Welch et al, 1999). Consecuentemente, existe una desviación de la energía requerida para el crecimiento o función inmune para mantener la reproducción aun cuando la energía esté un poco restringida (Ots y Horak, 1996). La liberación de CRH y los opioides endógenos pueden suprimir directamente la liberación de GnRH (Hulse y Coleman, 1983; Jacobs y Lightman, 1980; Rasmussen et al, 1983; Rivier et al, 1986). La activación de los receptores de CRH estimula la vía de la protein-cinasa A, y como tanto el CRH y sus receptores han sido identificados en los testículos y los ovarios, su liberación estaría directamente inhibiendo la producción de esteroides gonadales (Welsh et al, 1999) Los glucocorticoides pueden inhibir la reproducción en varias formas, ya

que suprimen la secreción de GnRH, LH y FSH por medio de la retroalimentación negativa (Welsh et al, 1999).

Lamentablemente no existe información sobre el efecto directo del estrés en la reproducción de delfines, por lo que es imperativa la realización de estudios para conocer las correlaciones entre las variables de respuestas al estrés y las hormonas reproductivas.

5. Bienestar animal y su evaluación

El bienestar animal es un concepto objetivo y cuantificable. Un nivel pobre de bienestar debido a problemas prolongados se puede valorar mediante un amplio rango de variables, como serían la habilidad inclusiva individual y la dificultad de adaptación al medio (Broom and Johnson, 1993).

Se ha visto que algunos indicadores de un nivel pobre de bienestar son los bajos índices reproductivos (Jurke *et al.*, 1997; Johnson *et al.*, 1992), la disminución en el peso corporal o en el crecimiento (von der Ohe y Servheen, 2002), así como una baja expectativa de vida (Nelson, 2000).

Los indicadores fisiológicos que se pueden utilizar para evaluar el estado de estrés crónico incluyen la medición de ACTH y glucocorticoides (Garnier et al, 1990; Palme *et al.*, 2000), la determinación de los niveles sanguíneos de glucosa y la proporción de los diferentes tipos de células blancas en sangre (leucograma de estrés) entre otros (Knol, 1991). En carnívoros se ha detectado un aumento en las concentraciones de glucocorticoides en situaciones pobres de confinamiento (Carlstead *et al.*,1993; Clark *et al.*, 1997; Hennessy *et al.*, 1997), bajo condiciones de anestesia y restricción (Fox *et al.*, 1994; Moe y Baken, 1997; Ogburn *et al.*, 1998; Smith *et al.*,1999) y en cirugías (Church *et al.*, 1994).

Los mejores indicadores de problemas de bienestar han sido en muchos casos las mediciones conductuales (Broom y Johnson, 1993). En animales en cautiverio es frecuente la aparición de conductas anormales relacionadas con estados de estrés crónico y asociadas en muchos casos a situaciones de frustración e impredecibilidad. Esto ocurre por ejemplo en situaciones de restricción de movimientos, frente a cierto grado de frustración, ante la incapacidad de escapar de estímulos adversos, frente a una falta de estimulación o cuando existe una sobre estimulación, los animales se ven incapacitados de responder de una manera adecuada. Entre los indicadores más importantes de problemas de bienestar a largo plazo se pueden citar los comportamientos estereotipados, así como la hiperexcitabilidad, las conductas redirigidas y la pasividad (Broom y Johnson, 1993).

La aparición de conductas normales pero con frecuencias o intensidades aumentadas o disminuidas, así como alteraciones en los ciclos de actividad, también pueden ser indicadores de un nivel de bienestar pobre (Crocket, 1998). La medición de conducta ha resultado ser una herramienta muy práctica en zoológicos debido a que no es necesario la manipulación del medio ni de los individuos para realizar un muestreo (Pifarré, 2002).

En delfines en cautiverio existen algunos estudios previos sobre comportamiento social y mantenimiento que han permitido identificar como distribuyen su tiempo y como interactúan socialmente (Pedernera-Romano *et al.*, 2006). Sin embargo a la fecha existe poca información acerca de la relación entre las pautas comportamiento y los perfiles de glucocorticoides (Miguel, 2004; Singh, 2005).

El bienestar de los animales cautivos puede ser evaluado objetivamente, relacionando el comportamiento de los animales con sus concentraciones de cortisol, para lo cual se pueden utilizar técnicas no invasivas (i.e. cortisol salival) ya que ambos indicadores son útiles para conocer más sobre sus mecanismos de respuesta a cambios en el ambiente (Haupt, 1991; Broom and Johnson, 1993). El

cortisol plasmático ha sido medido en delfines semi-domesticados y silvestres, lo que ha permitido conocer como los delfines se adaptan a los diferentes factores de estrés (Thompson, 1986; St Aubin, 1996). El manejo para la obtención de saliva es muy práctico y poco estresante y refleja las concentraciones de hormona libre en el plasma (Staff and Corner, 1982; Pedernera-Romano *et al.*, 2006). En delfines el total de cortisol encontrado en la saliva representa entre el 1 y el 10% del circulante en plasma (Pedernera et al, 2006), por lo que en ocasiones es mejor realizar las determinaciones de cortisol en la sangre. Los delfines en cautiverio pueden ser entrenados para que en forma voluntaria expongan la aleta caudal con el objeto de obtener muestras sanguíneas. Esta práctica facilita mucho la obtención de muestras para la determinación de hormonas en sangre.

6. Justificación del Proyecto

Los Delfines en cautiverio presentan bajas tasas de reproducción , por lo tanto, es necesario generar mas información científica que permita identificar que factores conductuales y fisiológicos influyen en la capacidad adaptación a los diferentes tipos de encierros y por lo tanto en los niveles de bienestar.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el bienestar de los delfines en cautiverio en diferentes tipos de encierros, utilizando índices de conducta, fisiología y éxito reproductivo.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Comparación de pautas de comportamiento de mantenimiento, sociales y perfiles de cortisol salival entre los diferentes ambientes de cautiverio.

Relacionar los perfiles de hormonas reproductivas (progesterona, estradiol), con las imágenes ováricas y las proporciones celulares vaginales, para comprobar el valor diagnóstico de la citología vaginal en la especie, y obtener alguna relación con los efectos de los diferentes ambientes, sobre esto.

Identificar el efecto de la estabilidad grupal de dos poblaciones de delfines sobre la dinámica de la interacción social en dos ambientes físicos diferentes, mediante las interacciones sociales de las poblaciones.

Identificar las diferencias individuales en el comportamiento de los delfines en los diferentes tipos de ambientes físicos y sociales, y relacionarlos con la concentración de cortisol salival de los mismos individuos.

HIPÓTESIS

I.- Las patrones de nado son más continuos y con menos tiempos de inmovilidad en los ambientes más complejos (i.e. corrales en el mar) que en los más simples (albercas)

II.- La concentración de cortisol salival, medida por perfiles hormonales, es menor en los animales que habitan en instalaciones abiertas o naturales con respecto a los animales de instalaciones cerradas.

III.- La actividad reproductiva evaluada por perfiles hormonales esteroideos (progesterona, estradiol), representa las imágenes gonadales obtenidas por ultrasonografía y las proporciones celulares obtenidas por citologías vaginales, en esta especie.

IV.- Las diferencias individuales de los grupos sociales y la manera en que los animales se relacionan con los ambientes en los que habitan, reflejan las pautas de comportamiento y la actividad adrenal

Justificación del proyecto

Los delfines en cautiverio presentan bajas tasas de reproducción, por lo tanto, es necesario generar más información científica que permita identificar que factores conductuales y fisiológicos influyen en la capacidad de adaptación a los diferentes tipos de encierros y por lo tanto en los niveles de bienestar.

MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES

- Localización y sujetos

Los trabajos se realizaron en delfinarios ubicados en diferentes ciudades y con instalaciones diferentes para conocer el efecto que esta variable tiene sobre los animales.

El delfinario **A** se ubica en el centro de México en una ciudad a más de 2000 mts de altura sobre el nivel del mar, es una alberca redonda de 25 mts de diámetro, con un fondo cónico con profundidad máxima en el centro de 5 metros, y esta compuesta por solo un área de desplazamiento;. El delfinario **B** está ubicado en la costa pacífica de México y los delfines viven en una piscina rectangular de 70 m de largo y 10 m de ancho, con una profundidad promedio de 4 m, la piscina está dividida en un área principal de 60 m de largo y 10 m de ancho, y cuatro separaciones pequeñas, dos en cada extremo, de 5 x 5 m cada una. El delfinario **C** se ubica en la costa central de la Península de Yucatán y los delfines están alojados en una escollera artificial, con una pequeña comunicación al mar para el intercambio del agua en forma natural y por donde entran peces y otras pequeñas especies marinas. El interior de la escollera tiene un muelle ovalado, cercado, de 50 m de largo, 10 m de ancho y una profundidad máxima de 3 metros, dividido en dos áreas de igual dimensión por una separación central. El delfinario **D** se ubica en la zona norte de la península de Yucatán; conformado por un muelle, desde la playa al interior del mar, de 100 metros de largo y 75 metros de ancho, con 4 separaciones en un extremo de 25 m de largo por 10 m ancho, todas comunicadas entre sí y con el área central.

Cuadro N° 1 Listado de animales utilizados en este estudio

UBICACION	TIPO DE ENCIERRO	ID	SEXO	EDAD	CAUTIVERIO
Ac Aragón	Cerrado	Maya	Hembra	12 años	+ 8 años
Ac Aragón	Cerrado	Holbox	Macho	18 años	+ 15 años
Delfiniti	Cerrado	Kaly	Hembra	12 años	+ 8 años
Delfiniti	Cerrado	Brisa	Hembra	14 años	+ 8 años
Delfiniti	Cerrado	Lluvia	Hembra	14 años	+ 8 años
Delfiniti	Cerrado	Chame	Macho	15 años	+ 8 años
Delfiniti	Cerrado	Chato	Macho	18 años	+ 1 año
Delfiniti	Cerrado	Chocho	Macho	17 años	+ 8 años
Delphinus	Abierto	Tapish	Hembra	14 años	+ 10 años
Delphinus	Abierto	Nicteha	Hembra	12 años	+ 9 años
Delphinus	Abierto	Cab	Hembra	11 años	+ 8 años
Delphinus	Abierto	Sas	Hembra	16 años	+ 6 años
Delphinus	Abierto	Alux	Macho	18 años	+ 15 años
Atlántida	Abierto	Ajitzi	Macho	16 años	+ 10 años
Atlántida	Abierto	Aphrodite	Hembra	28 años	+ 10 años
Atlántida	Abierto	Atlantis	Hembra	18 años	+ 10 años
Atlántida	Abierto	Olympia	Hembra	17 años	+ 10 años
Atlántida	Abierto	Electra	Hembra	16 años	+ 10 años
Atlántida	Abierto	Marina	Hembra	18 años	+ 10 años
Atlántida	Abierto	Náutica	Hembra	16 años	+ 10 años
Atlántida	Abierto	Simo	Hembra	18 años	+ 10 años
Atlántida	Abierto	Athenas	Hembra	18 años	+ 10 años
Atlántida	Abierto	Nike	Hembra	24 años	+ 10 años
Zoo-Aquarium	Cerrado	Tritón	Macho	27 años	+ 20 años
Zoo-Aquarium	Cerrado	Guarina	Hembra	18 años	+ 15 años
Zoo-Aquarium	Cerrado	Mancha	Hembra	16 años	+ 15 años
Zoo-Aquarium	Cerrado	Mary	Hembra	16 años	+ 15 años
Zoo-Aquarium	Cerrado	Lala	Hembra	14 años	+ 10 años

Todos los individuos utilizados en el estudio, son de edad adulta y fueron capturados de vida libre aproximadamente hace 10 años (en promedio), (Cuadro N°1). En todos los casos la alimentación consisten en diversas especies de pescado y en todos los delfinarios los animales realizan actividades semejantes, relacionadas con los programas de nado interactivos con delfines. En el delfinario A se evaluó toda la población, consistente en un macho y una hembra que nunca se han reproducido. En el delfinario B, se evaluaron 6 delfines adultos, tres hembras y tres machos, también sin reproducción. En el delfinario C se evaluaron 5 delfines de edad adulta, cuatro hembras y un macho. En el delfinario D se utilizaron 10 animales en edad adulta, un macho y 9 hembras; Tanto en el delfinario C y D han nacido crías en cautiverio.

Los muestreos se realizaron fuera de los horarios de espectáculos o nado con personas. El rango de las edades de la población estudiada fueron homogéneos en todos los grupos experimentales. Las actividades de los animales son muy semejantes, programas interactivos de nado con delfines, excepto en el delfinario A que además realizan espectáculos y terapias, aunque también desarrollan programas interactivos de nado con delfines (cuadro N°1).

Estudio 1.

Relación de la pautas de comportamiento de mantenimiento y sociales con los perfiles de cortisol en los diferentes ambientes

El comportamiento de cualquier especie silvestre es el resultado de muchas generaciones de selección natural y adaptaciones a las diferentes condiciones ambientales específicas. El cautiverio, sin embargo, impone a los animales un ambiente muy diferente al entorno donde han evolucionado y para prosperar en esas condiciones deben ajustarse a estas diferencias. La capacidad de una especie para responder con conductas de su repertorio natural a las condiciones de cautiverio depende de una compleja interacción de factores del desarrollo, experiencia y herencia, al igual que el grado de semejanza del ambiente de cautiverio al natural (Shepherdson, 1994; Carlstead 1996; Poole 1998).

El estrés se ha tratado de definir de diversas maneras: la respuesta acumulada en un animal como resultado de la interacción con el ambiente a través de sus receptores y como una amenaza de la homeostasis (Clark et al, 1997 a); también se reconoce que es la respuesta biológica a un estímulo, teniendo como fin alertar y preparar al organismo en circunstancias inesperadas, por lo tanto se considera que el estrés es un fenómeno adaptativo (Fowler, 1995; Moberg, 1985). La conducta depende de la interacción del animal con el medio que le rodea, y la intensidad y prolongación del estímulo puede inducir daños en el animal en el corto y mediano plazo (Fowler, 1986, 1995; Moberg, 1985; Spraker, 1993). Para el caso de los mamíferos marinos el estrés juega un papel fundamental en el desarrollo de su vida. La mayoría de los delfines mantenidos en cautiverio han sido capturados de la vida libre debido a la pobre o nula reproducción que se logra en los delfinarios (Dierauf, 1990; Fair y Becker, 2000), debido al cambio de ambiente físico y social que sufren cuando son capturados, situación que afecta su comportamiento y fisiología.

Un importante factor de estrés para los delfines en cautiverio es la radical disminución del espacio disponible, que ocurre cuando se toman estos animales del océano y sus estuarios y se ponen en los corrales artificiales de cautividad o estanques (St Aubin y Dierauf, 2001; Vail, 2005), situación que afecta su comportamiento y fisiología, (Dierauf, 1990; Fair y Becker, 2000). Las polémicas sobre la relevancia y justificación de continuar con el confinamiento de estos ejemplares, obliga el desarrollo de investigaciones que aporten conocimientos suficientes para su conservación, protección y manejo sustentable, manteniendo su bienestar con una calidad de vida aceptable (Small y De Master, 1995 b).

El efecto del cautiverio sobre los mamíferos silvestres terrestres ha sido bien estudiado (Carlstead, 1996), pero lamentablemente no se han realizado muchos investigaciones directamente sobre este tipo de efectos en los mamíferos marinos, por lo que es necesario realizar diversos tipos de estudios. Uno de estos tipos es la medición de la conducta para determinar la proporción de tiempo que los animales dedican a cada conducta, en los diferentes tipos de ambientes cautivos en los que viven. Estos estudios pueden acompañarse por evaluaciones del bienestar mediante cuantificación de la actividad adrenal (Clark et al, 1997 b).

Objetivo

Relacionar las pautas de comportamiento de mantenimiento y sociales con los perfiles de cortisol salival entre delfines mantenidos en diferentes tipos de ambientes de cautiverio.

Metodología

- Muestras de Saliva y Análisis de Cortisol

Las muestras de saliva fueron obtenidas todos los días en los que se realizó observación de comportamientos durante la primera sesión de trabajo de los delfines, con los animales en ayunas (9:00 a 9:30 A.M.). Los animales fueron

condicionados para abrir la boca y permitir en primer lugar secarles toda el agua presente en la cavidad oral, para luego introducir una torunda de algodón previamente tratada con éter para eliminar todos los residuos que pudieran interferir con la cuantificación de cortisol en la muestra. La torunda se colocó en la base de la lengua hasta empaparse con la secreción salival. Una vez obtenida la muestra, las torundas de algodón fueron colocadas en tubos plásticos estériles para de inmediato centrifugarlas a 3000 r.p.m., para separar la muestra de saliva, que fue congelada a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, hasta su análisis para la determinación de cortisol en el laboratorio de Fisiología II del CINVESTAV, IPN. Para el análisis en laboratorio se utilizó un Radioinmunoanálisis directo utilizando un estuche comercial, ¹²⁵I Radioimmunoassay Kits, Cort CT 2, CIS Bio International, Francia, que presenta una afinidad de 100% por cortisol sérico, urinario o salival., reacción cruzada de 42% con Prednisolona, 12.1% con Fludrocortisona, 2.8% con Corticosterona, 1.2% con Prednisona, 0.9% con Cortisona, y menos de uno por ciento con otros metabolitos semejantes. El análisis presentó de acuerdo al fabricante una sensibilidad de detección mínima de 0.04 nmol/Lt, y un rango de 1 a 100 nmol/Lt sin diluciones. Las muestras fueron procesadas por duplicado. En total se obtuvieron 276 muestras de saliva, 12 de cada animal (cuadro N°2)

Cuadro N°2. Distribución de las muestras de saliva obtenidas.

DELFINARIO NUM	DE HEMBRAS	MACHOS	CANTIDAD DE MUESTRAS
ARAGON 2	1	1	24
DELFINITI 6	3	3	72
DELPHINUS 5	4	1	60
DOLPHINARIS 10	9	1	120

Mediciones de comportamiento

A través de una combinación de muestreos focales y de barrido con una duración de 48 horas, se obtuvo la información durante un mes en cada tipo de ambiente, sobre la proporción del tiempo que cada del fin dedica a los diferentes estados de comportamientos sociales e individuales, con el fin de calcular los presupuestos de tiempo que dedican a esto.

Las observaciones se realizaron durante dos periodos de 24 horas cada uno, fraccionados en seis días, el primer día se inició a las 8:00 hasta 12:00 del día, el segundo día de 12:00 a 16:00, el tercero de 16:00 a 20:00, el cuarto de 20:00 a 24:00, el quinto día de 24:00 a 4:00, el sexto 4:00 a 8:00, con el fin de conocer la actividad de los animales en las diferentes etapas del día.

Análisis estadísticos

Se realizaron pruebas de análisis de varianza (ANOVA), para conocer las diferencias entre los grupos estudiados. Comparando las pautas de comportamiento de los animales de cada lugar en las diferentes horas de observación, y en cada una de los ambientes estudiados, sumando el error aleatorio. Se utilizó una prueba de Mann Whitney para comparar las pautas de comportamiento entre las poblaciones de ambientes cerrados en contra de los abiertos.

RESULTADOS

Estados de comportamiento

En la figura 1 se muestra la distribución del tiempo de acuerdo a las diversas conductas asumidas por los animales; los animales del Delfinario A dedicaron un $72.4 \pm 1.1\%$ de su tiempo a conductas de traslado en sus diferentes modalidades,

dedicando el mayor porcentaje ($49.4 \pm 5.3\%$) de al buceo individual en círculos de diferentes dimensiones, seguido de buceo sincronizado $13.11 \pm 2.4\%$, y en menor proporción al nado superficial $3.025 \pm 0.7\%$. Esta población dedicó un $27.56 \pm 3.4\%$ de su tiempo a los comportamientos inmóviles de los cuales un $13.87 \pm 3.1\%$ a la flotación horizontal y $13.7 \pm 3.6\%$ se dedicó a la flotación vertical (Figura 1.1). No se observaron comportamientos agonistas en los individuos.

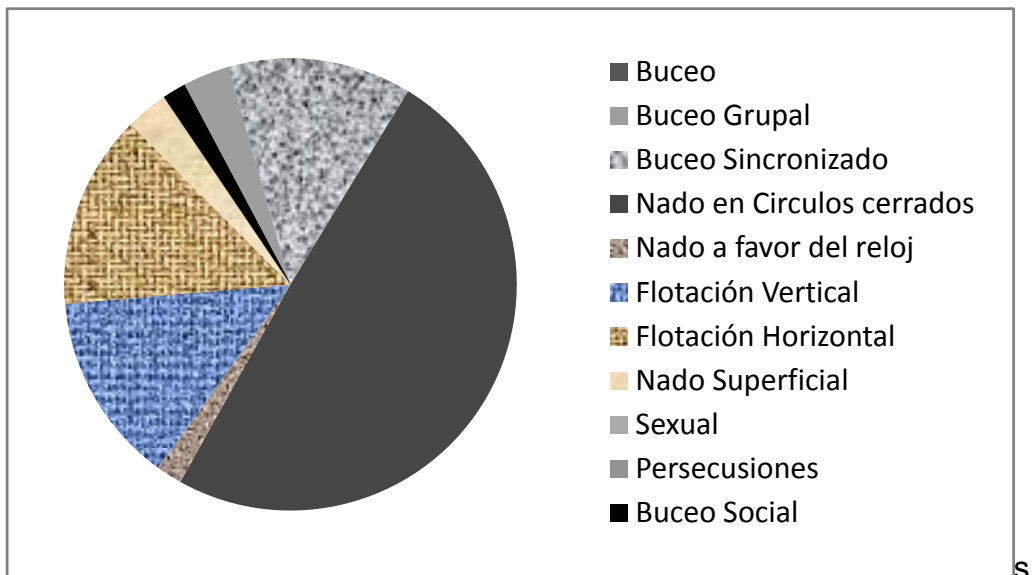


Figura 1.1 Distribución del uso de tiempo de los delfines del delfinario A

En la figura 2 se muestran la distribución del tiempo de los animales del Delfinario B los que utilizan $88.7 \pm 1.7\%$ de su tiempo total observado en los comportamientos de desplazamiento, dedicando un $18.08 \pm 1.8\%$ fue dedicado al buceo grupal, que en su mayoría se realizó durante la noche después de las 22:00. Un $16.9 \pm 1.9\%$ lo dedicaron al buceo individual en diferentes direcciones, al buceo en círculos le dedicaron un $14.58 \pm 2.3\%$, al buceo acompañado de por lo menos otro individuo fue de $10.75 \pm 1.9\%$. El tiempo dedicado al desplazamiento a nivel de superficie del agua fue de $2.99 \pm 0.4\%$. Se observaron $8.76 \pm 1.8\%$ del tiempo fue dedicado a comportamientos agonistas. Del tiempo total las toninas del

delfinario B destinaron un $11.3 \pm 1.1\%$ a los comportamientos estáticos, de los cuales un $5.86 \pm 1.5\%$ fue para la flotación horizontal y $5.44 \pm 0.8\%$ a la flotación vertical (Grafica 1.2).

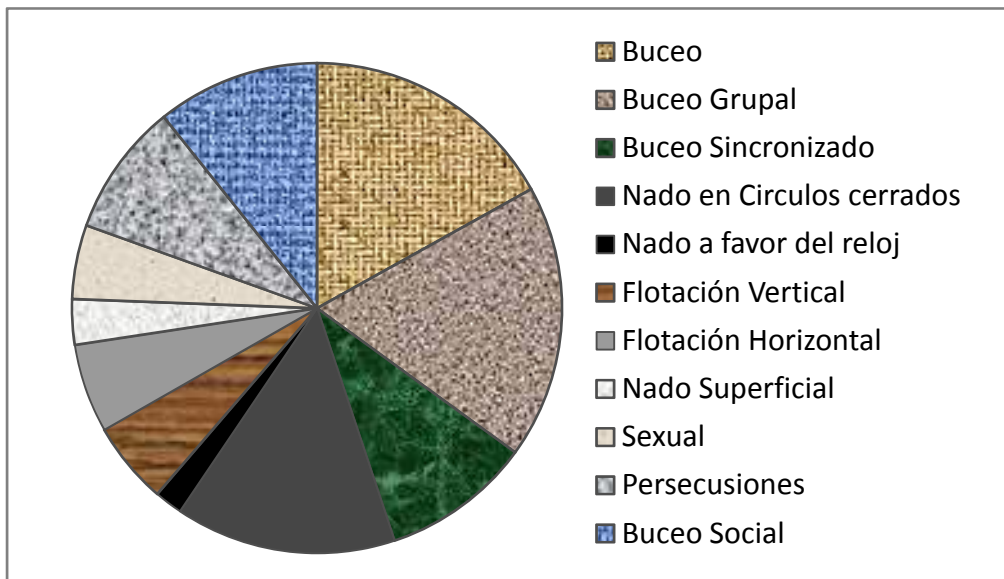


Figura 1.2. Distribución del uso de tiempo de los delfines del delfinario B

Los animales del Delfinario C presentaron comportamientos de traslado durante el $92.3 \pm 2.2\%$ del tiempo, de los cuales la mayor parte del tiempo la dedican al buceo individual ($19.4 \pm 1.4\%$), sin patrón o dirección aparente; un $16.4 \pm 2.4\%$ del tiempo bucearon a favor de las manecillas del reloj especialmente un individuo de toda esta población. También se observó un $13.2 \pm 3.3\%$ de buceos acompañados de al menos un individuo, sin llegar a sincronizarse. De los movimientos de desplazamiento sólo un $1.3 \pm 0.15\%$ los realizaron en la superficie del agua y un $5.7 \pm 1.9\%$ del tiempo se utilizó para comportamientos agonistas. Del total del tiempo de observación de este delfinario un $7.6 \pm 1.1\%$ lo dedicaron a comportamientos estáticos, de los cuales un $5.4 \pm 1.3\%$ lo dedicaron a la flotación horizontal y un $2.19 \pm 0.8\%$ a la flotación vertical (Figura 1.3).

En la población del Delfinario D el $93.3 \pm 0.6\%$ del tiempo total observado lo dedicaron a los comportamientos de desplazamiento, siendo el buceo individual sin patrón determinado, el estado más realizado ($33.5 \pm 1.1\%$), seguido del nado en la superficie del agua con un $13.44 \pm 0.5\%$, del buceo grupal con un $9.91 \pm 0.6\%$ y los comportamientos agonistas con un $8.57 \pm 0.7\%$. Del total del tiempo esta población de toninas realizó un $6.69 \pm 0.3\%$ de sus comportamientos de manera estática, con un $4.87 \pm 0.3\%$ de flotación horizontal y un $1.81 \pm 0.3\%$ de flotación vertical (Figura 1.4).

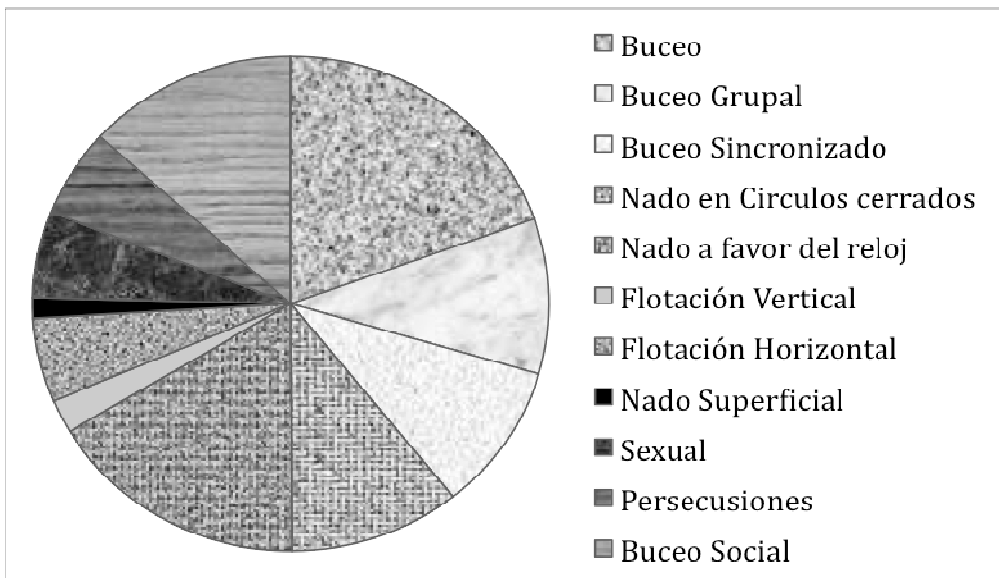


Figura 1.3 Grafica de la distribución del uso de tiempo de los delfines del delfinario C

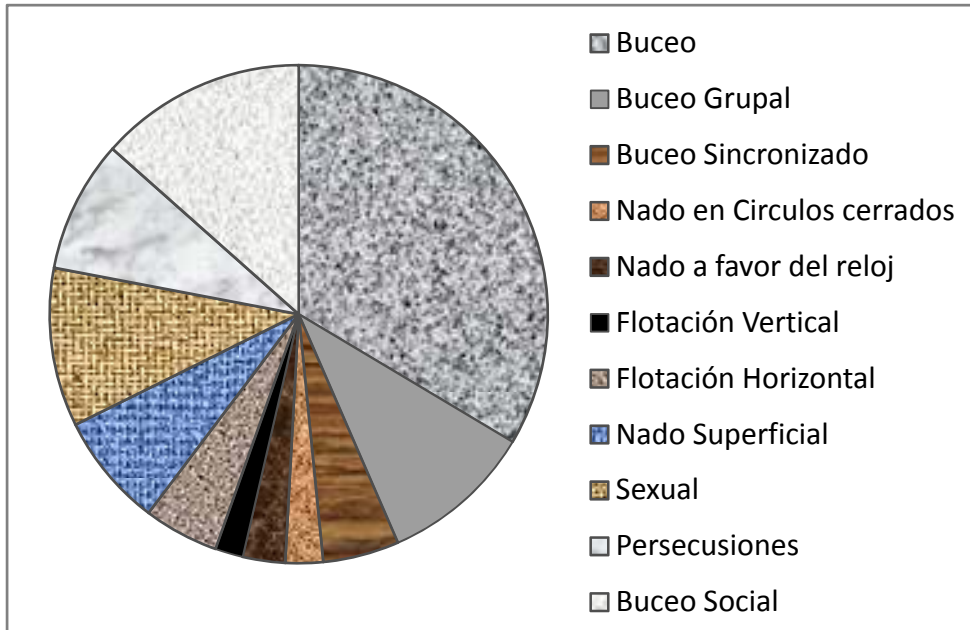


Figura 1.4 Distribución del uso de tiempo de los delfines del delfinario D

Se observó una diferencia estadísticamente significativa en el los comportamientos de buceo entre los diferentes tipos de ambientes ($P < 0.03$), donde los animales nadaron mayor tiempo de esta manera en los ambientes abiertos y semiabiertos, respectivamente. Para conductas como el buceo en círculos cerrados los animales de los delfinarios cerrados fueron los que más tiempo le dedicaron a esto y los de ambiente abierto los que menor tiempo le dedicaron, observándose una diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.01$) (Cuadro 1.1).

Las conductas sociales como el buceo grupal se presentaron más en el delfinario B que habita en ambientes cerrados siendo significativamente ($P < 0.01$) diferente con los animales de los delfinarios C y D. Los nadados sincronizados en pareja fueron significativamente menores en el delfinario abierto ($P < 0.01$) (Cuadro 1.1).

Cuadro 1.1 Promedio de la proporción del uso de tiempo de las diferentes poblaciones en estudio

	DELFINARIO A	DELFINARIO B	DELFINARIO C	DELFINARIO D	P
Buceo	0 ± 0	16.93 ± 1.937	19.42 ± 1.42	33.57 ± 1.179	0.03
Buceo Grupal	3.361 ± 0	18.08 ± 1.845	10.17 ± 4.76	9.906 ± 0.629	0.01

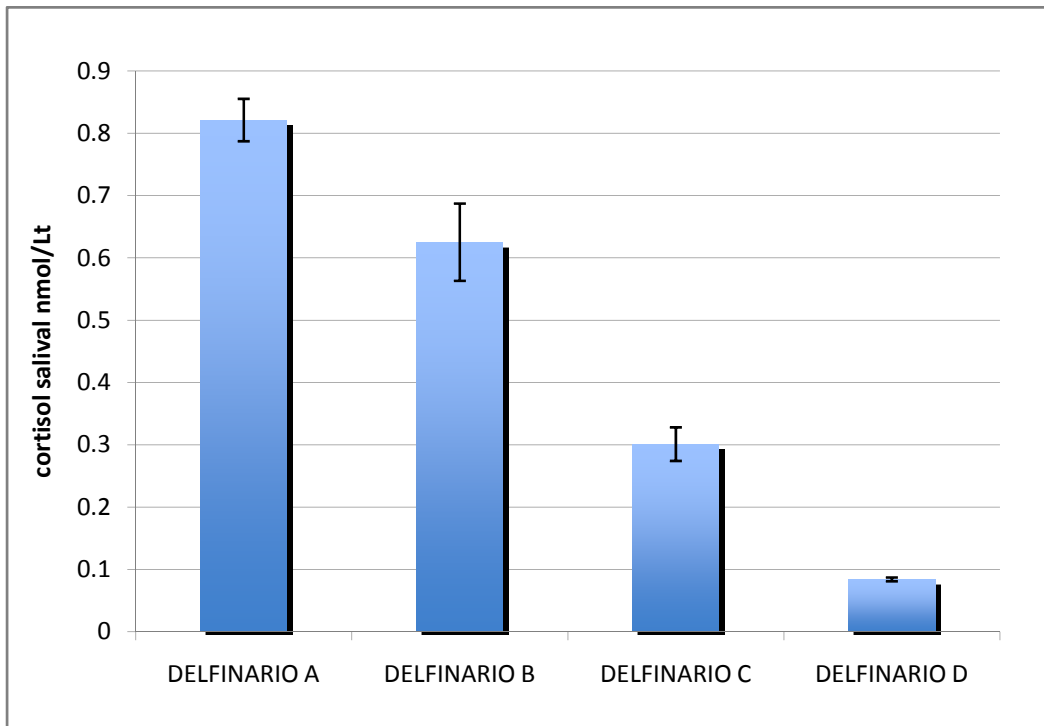
Buceo Sincronizador	13.11	± 2.437	9.871	± 2.906	9.635	± 1.996	4.953	± 0.708	0.01
Buceo en Círculos	49.41	± 5.378	14.58	± 2.352	10.67	± 2.226	2.437	± 0.393	0.01
Buceo a favor del Reloj	1.849	± 0.588	1.845	± 0.277	16.47	± 2.457	2.752	± 0.314	0.01
Flotación Vertical	13.7	± 3.697	5.443	± 0.876	2.188	± 0.806	1.808	± 0.393	0.37
Flotación Horizontal	13.87	± 3.193	5.858	± 1.522	5.489	± 1.382	4.874	± 0.393	0.18
Nado Superficial	3.025	± 0.756	2.998	± 0.461	1.344	± 0.154	7.39	± 0.55	0.01
Comportamiento Sexual	0	± 0	4.889	± 2.306	5.643	± 2.035	10.3	± 0.865	0.89
Persecuciones 0		± 0	8.764	± 1.845	5.758	± 1.958	8.569	± 0.708	0.23
Buceo Social	1.681	± 0.84	10.75	± 1.983	13.21	± 3.378	13.44	± 0.55	0.03
Cortisol 0.821		± 0.034	0.625	± 0.062	0.301	± 0.027	0.084	± 0.003	0.01

Cortisol salival

Las concentraciones de cortisol salival de los animales de los diferentes tipos de ambiente, agrupados como población por delfinario, arrojan una diferencia estadísticamente significativa, ($P < 0.01$). De las dos poblaciones que habitan en albercas cerradas sin estímulos ambientales, la mayor concentración (0.821 ± 0.034 nmol/Lt) la obtuvo el delfinario A; la población del delfinario B presentó una concentración de 0.625 ± 0.062 nmol/Lt). Ambas poblaciones presentan una diferencia estadísticamente significativa en relación a las poblaciones de toninas de las instalaciones abierta (C) y abiertas (D) (0.301 ± 0.027 nmol/Lt y 0.084 ± 0.03 nmol/Lt, respectivamente).

Las concentraciones de cortisol salival en los animales de las instalaciones cerradas (0.673 ± 0.05 nmol/Lt) fueron significativamente mayores a las concentraciones de cortisol de la población de las instalaciones abiertas (0.156 ± 0.01 nmol/Lt) ($t=11.49$; $P < 0.01$) (Cuadro 1.3; Figura 1.5).

Grafica 1.5 Concentración de cortisol salival promedio de las diferentes poblaciones de delfines en estudio.



Ambientes cerrados versus abiertos

Al comparar a los individuos de acuerdo a la clasificación de los ambientes en cerrados, sin estímulos físicos naturales y ambientes abiertos o enriquecidos naturalmente (flora y fauna marina), se lograron identificar diferencias significativas importantes (Cuadro 1.3) al momento de evaluar el bienestar animal, como la concentración de cortisol salival ($P < 0.01$), Tiempo total de locomoción (TTL) ($U = 4710$; $P = 0.032$), el Tiempo total de flotación (o descanso) ($U = 154.0$; $P = 0.027$). Del TTL, se dividió en Nado Lineal (NL) que fue estadísticamente mayor para las instalaciones abiertas ($U = 2067$; $P = 0.0019$), y en Nado Circular, el que fue estadísticamente mayor para las instalaciones cerradas ($U = 369.0$; $P = 0.018$). El nado Lineal se dividió en nado Profundo ($U = 1502.0$; $P = 0.0031$) y Nado Superficial ($U = 23$; $P = 0.04$), ambos patrones de comportamiento fueron estadísticamente mayores en las instalaciones abiertas. El nado circular está compuesto por Nado a favor de las manecillas del reloj ($P > 0.05$) y nado en contra de las manecillas del

reloj (U: 97; P=0.001). Del tiempo total de flotación se dividen flotación vertical (P>0.05) y en flotación horizontal la que fue estadísticamente mayor en las poblaciones de instalaciones abiertas (U: 16; P=0.005). Los nados Sincronizados no fueron estadísticamente diferentes (P>0.05)

Cuadro 1.3 Comparación ambientes cerrados y abiertos (medias \pm ee)

	Instalaciones	Instalaciones	P=
cortisol	0.156 \pm 0.012	0.673 \pm 0.049	0.01
Tiempo Total de	91.72 \pm 1.61	79.65 \pm 2.14	0.032
Nado Lineal	66.97 \pm 1.13	38.91 \pm 1.432	0.001
Nado Superficial	5.47 \pm 0.442	4.061 \pm 0.831	0.04
Nado Profundo	61.49 \pm 1.301	35.21 \pm 1.58	0.003
Nado Circular	33.03 \pm 2.33	60.73 \pm 2.58	0.018
Nado a favor del reloj	12.13 \pm 1.74	2.49 \pm 0.593	0.29
Nado en contra del reloj	20.89 \pm 2.53	58.24 \pm 2.87	0.001
Tiempo Total de	8.23 \pm 1.71	20.35 \pm 4.25	0.027
Flotación Vertical	27.77 \pm 8.19	48.92 \pm 10.58	0.66
Flotación Horizontal	72.22 \pm 11.94	51.07 \pm 12.52	0.005
Nado Sincronizado	19.99 \pm 2.06	24.03 \pm 2.47	0.13

Correlación pautas de comportamiento y cortisol salival

En el cuadro N° se observan las correlaciones estadísticamente significativas, observándose que algunos comportamientos que podrían relacionarse con un bajo nivel de bienestar, como por ejemplo el Buceo en círculos cerrados o los comportamientos estáticos verticales, son los que presentan altos índices de correlación con las concentraciones de cortisol. En el caso del nado superficial (NS), este comportamiento presenta una correlación negativa con el cortisol, y al observar los resultados por delfinario, se ve que este comportamiento lo presentan en mayor proporción los animales que viven en ambientes más complejos, donde podían interactuar con el oleaje natural del ambiente.

Cuadro 1.4 Correlación de concentración de cortisol salival y pautas comportamientos

Variable	r	p<
Buceo Grupal	0.25	0.01
Buceo en círculos	0.31	0.01
Flotación Vertical	0.45	0.01
Flotación Horizontal	0.29	0.01
Nado Superficial	-0.28	0.01
Persecuciones	0.21	0.06
Buceo Social	0.25	0.01

Discusión

Diferencias en el comportamiento

En este trabajo se pudo observar que los delfines estudiados presentan patrones de comportamientos de mantenimiento diferentes de acuerdo a las características de los ambientes donde habitan. La mayor proporción del uso del tiempo libre en los delfines que habitan en albercas o ambientes cerrados la utilizan para nado circular continuo en comparación con los animales que viven en delfinarios naturales ($P < 0.01$) los que presentan más frecuentemente un buceo continuo sin dirección definida ($P < 0.03$), algo más semejante al nado en vida libre. El nado en círculos lo realizan la mayor parte del tiempo en condiciones de cautiverio, muy diferente a lo que ocurre en vida libre; pero como se efectúa de manera continua, repetida y sin una función aparente se le considera una estereotipia (Mason, 1991). Sin embargo, se ha considerado que nadar así es una manera de recorrer mayores distancias en forma fluida y más rápida, aunque la falta de interacciones sociales y confinamiento a espacios pequeños se le asocia con patrones estereotipados (Gygax, 1993). Esta diferencia se puede considerar como una forma de adaptación al cautiverio de acuerdo a las limitaciones físicas impuestas por la forma y tamaño de las albercas las albercas lo que podría influir en el tipo e intensidad de los giros (Sobel et al, 1994).

De la misma manera los animales de los ambientes cerrados desarrollan mayoritariamente comportamientos estáticos como la flotación horizontal y la flotación vertical ($P < 0.02$ y $P < 0.01$, respectivamente). Muchos de estos comportamientos son considerados como estados pasivos de conducta, los que también pueden ser movimientos con la cabeza hacia arriba y fuera del agua en posición vertical, ayudándose de la aleta caudal y con movimiento de regreso al agua en la misma posición y que puede ser un movimiento repetitivo o bien el nado lento emergiendo y sumergiéndose en una misma zona (Santurtun, 2002). Luna (2008) al comparar las proporciones de tiempo entre instalaciones cerradas y abiertas también reportó una diferencia significativa mayor en los comportamientos estáticos o de reposo ($P < 0.05$) en las instalaciones cerradas, coincidiendo con lo reportado por Bassos y Wells (1996) y Singh (2005), en donde la proporción de tiempo en descanso fue mayor en las albercas más pequeñas.

Muchos estudios han demostrado que los animales silvestres en cautiverio desarrollan diferentes patrones de comportamiento cuando habitan o son transferidos a ambientes restringidos (Martin and Bateson, 1993; Carlstead 1996). Algunos comportamientos son significativamente más observados en los ambientes abiertos o naturales, tales como el nado superficial ($P < 0.01$), esto se puede atribuir a que este comportamiento es utilizado como interacción con las olas del mar, que solo se producen en los ambientes naturales. La interacción con objetos, naturales o artificiales, solo se logró observar en los ambientes abiertos, especialmente los animales interactúan con objetos naturales como algas, o peces que pescan y juegan con ellos.

Mucha de la idiosincrasia del comportamiento, definida como roles sociales por Manteca y Deag (1993b), han sido reportados en primates y bovinos. Estos autores sugieren que, entre los grupos donde hay lazos sociales bien establecidos disminuye el efecto estresor del ambiente. Esto se puede ver en las instalaciones cerradas donde existe una diferencia significativa en la presentación del buceo en

grupo ($P < 0.01$) semejante a un nado protector, donde los animales dominantes del grupo nadan delante del grupo, especialmente en los horarios nocturnos.

Muchos autores han reportado la prevalencia del patrón de nado de los delfines en contra de las manecillas del reloj (Sobel, 1994; Bas sos y Wells, 1996; Miguel, 2004; Singh, 2005). Pero en otras investigaciones lo que se registró con mayor frecuencia fue el nado a favor de las manecillas. Buscando una relación con la conducta de lateralidad se asegura que los odontocetos cautivos muestran una clara preferencia de visión con el ojo derecho y por ello una inclinación hacia el nado contra horario (Gygax, 1993; Marino y Stowe, 1997). En otras investigaciones realizadas en instalaciones cerradas por Gygax (1993) y Marino y Stowe (1997), donde se discutió la direccionalidad del nado se encontró predominancia en el nado a favor de las manecillas, lo cual es diferente con los resultados encontrados en este estudio. Buscando la relación con la conducta de lateralidad, se asegura que los odontocetos cautivos (incluidas las toninas) muestran una clara preferencia de visión con el ojo derecho bajo ciertas condiciones y por ello una inclinación hacia el nado en contra de las manecillas del reloj, ya que esto les permite visualizar la pared o cristales del estanque (Sekiguchi y Kohshima, 2003). En este trabajo se observó la prevalencia de este tipo de nado en las instalaciones de uno de los delfinarios abiertos, Delfinario C, pero específicamente en uno de sus individuos, no teniendo una predominancia grupal o que fuera determinado por algún factor ambiental, mas bien individual.

Concentración de cortisol salival

En el presente trabajo la diferencia en la concentración de cortisol salival, entre los diferentes tipos de ambientes estudiados, fue estadísticamente significativa, donde las mayores concentraciones se observaron en los encierros menos estimulantes para los animales. Las concentraciones de cortisol fueron disminuyendo a medida que aumentaba la complejidad del ambiente ($P < 0.01$).

Uno de los aspectos más notables de la respuesta adrenocortical al estrés en los cetáceos, que tienen relación con los resultados obtenidos, es que elevados niveles de cortisol son evidencia de que los individuos están o estuvieron frente a estresores como la captura, manejo o restricciones físicas, pero estas elevaciones son más modestas en comparación con lo que otros mamíferos experimentan frente a estresores similares (Thomson and Geraci, 1986; St. Aubin and Geraci, 1990).

Como Carlstead (1996) sugirió, para algunas especies de animales silvestres, el cautiverio es considerado como estrés por la limitación de los espacios y estímulos ambientales deficientes, entre otros. En el caso de los individuos estudiados en los ambientes abiertos (Delfinario C y D), donde existen estímulos naturales se puede considerar como ambientes enriquecidos, los animales interactúan continuamente con sus componentes, lo que concuerda con los niveles de cortisol plasmáticos y fecales encontrados por Boinski *et al.*, en capuchinos café (*Cebus apella*) frente a los cambios en enriquecimiento ambiental artificial.

Siendo este uno de los primeros estudios enfocados a evaluar el efecto del cautiverio sobre los delfines, se puede concluir que el tipo de ambiente físico afecta directamente la actividad adrenocortical de la especie, viéndose altamente estimulada en ambientes deficientes de estímulos, lo que también se ve reflejado en el repertorio de comportamientos, ya que se observaron estados conductuales no naturales o poco relacionados con la vida libre. En cambio los animales que habitan en lugares más naturales o en corrales en el mar, presentan baja concentración de cortisol salival, por ende menor actividad adrenocortical y sus pautas de comportamientos, son más semejantes a las observadas en vida libre.

Estudio 2

Comparación de actividad reproductiva (hormonal y gonadal) de delfines alojados en los diferentes tipos de ambientes

Los pequeños cetáceos, como *Lagenorhynchus obscurus* (Van Wae rebeek and Read, 1994) y el *Phocoena Phocoena* (Neimanis et al, 2000; Read and Hohn, 1995), presentan una estacionalidad reproductiva claramente definida. Sin embargo, en las especies medianas de delfines, como el *Tursiops truncatus* y el *Sousa chinensis*, no han sido capaces de definir fácilmente sus patrones, siendo clasificados reproductivamente como “difusamente estacionales”. Datos obtenidos tanto en vida libre como en cautiverio muestran que los nacimientos ocurren durante todo el año (Cockcroft, 1989; Jefferson, 2000; Joseph et al., 2000; Urian et al., 1996; Wells, 2000).

La anatomía del útero y de los ovarios es semejante en todos los cetáceos estudiados (Robeck, 1994). Aunque los datos de la progesterona sérica indican la existencia de un patrón irregular en los ciclos ováricos en tursiones (Sawyer.Steffan and Kirby, 1980; Yoshioka et al., 1986), se ha logrado establecer que el ciclo estral de los delfines nariz de botella (*Tursiops truncatus*) dura aproximadamente 31 días, y la fase del estro 5 a 7 días (aún no está bien determinada) (Brook 2001; Robeck et al., 1994, 2005). Los resultados también han indicado que la presentación estacional de estros varía marcadamente entre los individuos y aún entre años para el mismo animal.

Para estudiar la estacionalidad reproductiva en delfines se ha utilizado la determinación de diversas hormonas. En la mayoría de los estudios se ha considerado que la ausencia continua de niveles de progesterona sérica, de 1 ng/ml o mayor, fueron indicadores de anestro. La presencia de niveles elevados de progesterona (3.0 a 3.4 ng/ml) indican ovulación y fase lútea del ciclo ovárico. Los valores de progesterona sérica de entre 1 y 3 ng/ml fueron clasificados como indeterminados, ya que no necesariamente coinciden con la presencia de un cuerpo lúteo funcional (Kirby, 1984; Kirby and Ridgway, 1984; Sawyer-Steffan and Kirby, 1984; Schoeder, 1990).

Por otra parte, los niveles de progesterona no proveen información útil acerca del desarrollo folicular y del tiempo de ovulación., por lo que se ha intentado estudiar estas variables, por lo que se han realizado estudios en los que se miden las concentraciones

de estrógenos totales en tursiones. Sin embargo, dichos estudios no indicaron variaciones entre las etapas de anestro y estro, por lo que no han sido de mucha utilidad (Kirby, 1990; Kirby and Ridgway, 1984; Swayer-Steffan and Kirby, 1984; Schoeder, 1990; Yoshioka *et al.*, 1986). Sin embargo, en un estudio Yoshioka *et al.* (1986) reportaron concentraciones menores de 70 pg/ml para las etapas de anestro, y de 125 a 200 pg/ml para las de estro.

En estudios más recientes se utilizaron ultrasonografía para correlacionar los cambios morfológicos en tiempo real en los ovarios, con las concentraciones de los esteroides sexuales séricos y las fases ováricas (Brook, 1997; 2000). Así se encontró que los niveles de progesterona fueron menores a 0.2 – 0.9 ng/ml durante la fase de anestro, y de <0.2 a 18.5 ng/ml durante la época reproductiva. Los estrógenos totales fueron de 8.4 a 106.3 pg/ml en anestro y de 11.2 a 379.2 pg/ml durante la etapa reproductiva.

Debido a que puede existir un traslapo entre los niveles hormonales presentes durante el anestro y la época reproductiva, el monitoreo endocrino adecuado se debe complementar con las imágenes de los eventos ováricos, en tiempo real, por medio de la ultrasonografía. Brook (1997) utilizando el ultrasonido siguió la actividad folicular de *Tursiops truncatus aduncus*, haciendo la primera descripción en tiempo real de la foliculogénesis en cetáceos. En diversos momentos encontró múltiples folículos de 2 a 3 mm de diámetros. Los folículos de más de 3 mm fueron clasificados como en desarrollo. Los folículos dominantes pudieron ser identificados 1 o 2 días antes de la ovulación por presentar un tamaño superior a los otros. Se encontró que en esta especie solo un folículo ovula, mientras que los folículos secundarios entran en regresión antes o justo después de la ovulación, la cual esta ocurre aproximadamente 8 días después que el folículo dominante supera los 10 milímetros de diámetro. Los folículos preovulatorios alcanzan un diámetro máximo de 18 a 28 mm, con un promedio de 20.9 mm, aunque existe evidencia de que el tamaño de los folículos preovulatorios varía de acuerdo al tamaño de la hembra, además de presentarse variación individual (Brook, 1997).

Otro método de evaluación hormonal para el seguimiento del ciclo estroal es por medio de la citología vaginal, que asume que el grado de madurez de las células está relacionado con la cantidad actual de esteroides sexuales presentes en la sangre. En ciertas condiciones el grado de madurez del epitelio vaginal puede ser proporcional al grado de efecto estrogénico presente en el organismo (Bibbo and Wied, 1991). En el delfín las altas

concentraciones de esta hormona provocan que el epitelio se transforme en células cornificadas, indicando que la ovulación se acerca (Muraco *et al.*, 2005). Estos cambios pueden ser observados en la estructura de las células exfoliativas de la vagina a través del ciclo de las hembras. Durante el proestro, la concentración de los estrógenos aumenta, lo que provoca que la mucosa vaginal se engrose. Durante esta transición, las células de la superficie comienzan a alargarse, tomando una forma irregular y aplanándose el núcleo, formando así las células intermedias. Una mayor elevación en las concentraciones de estrógenos circulantes lleva a formar células cornificadas, con pequeños núcleos o anucleadas y de bordes rectos, las que son conocidas como superficiales. Cuando la proporción de células superficiales aumenta, indica que el proestro está llegando a su fin, comenzando el estro. Cuando el 80 a 100 % de las células son superficiales se asume que se encuentra en el periodo más fértil del ciclo. Posteriormente a este pico de células cornificadas, los niveles de estrógenos comienzan a disminuir, aumentando en cambio las concentraciones de progesterona, lo que provoca que las células de la superficie disminuyan y aparezcan las más profundas, como las parabasales y las intermedias, indicando que inicia el metaestro y el diestro. En este punto la ovulación ya ocurrió (England and Concannon, 2002).

Existen diferentes factores que afectan la reproducción en cautiverio, unos son los Factores Ambientales, que actúan especialmente sobre las hembras que poseen estrategias estacionales de reproducción. Negus y Berger (1972) dividieron a las especies como de reproducción continua, estacionales obligadas, o estacionales facultativas. Generalmente las especies estacionales son las que se ven más afectadas por las adaptaciones al cautiverio y a las condiciones climáticas. En especies terrestres los factores que más influyen sobre la estacionalidad reproductiva son el fotoperíodo, las precipitaciones y temperatura (Asa, 1996). En mamíferos marinos existe muy poca información sobre los factores ambientales que afectan la estacionalidad reproductiva, y tampoco se conoce la forma en la que los espacios reducidos encontrados en cautiverio interactúan con los factores ambientales.

Objetivos

Caracterizar los perfiles de hormonas reproductivas (progesterona, estradiol) de delfines mantenidos en diferentes tipos de cautiverio.

Relacionar las concentraciones de estradiol con las imágenes ultrasonográficas de los ovarios y las proporciones celulares encontradas en las muestras de citología vaginal exfoliativa, con el fin de evaluar el valor diagnóstico de ésta última técnica.

Metodología

Se obtuvieron 136 muestras sanguíneas, de 17 hembras en los cuatro delfinarios descritos en Materiales y Métodos Generales (Cuadro N°1) de cada una se obtuvieron 8 muestras.

- Evaluación de hormonas reproductivas.

Dos veces por semana se obtuvieron muestras sanguíneas de las hembras delfín. Todas las muestras fueron tomadas en la primera sesión del día, en el momento de la revisión médica diaria, de manera voluntaria, por exposición voluntaria de la aleta caudal, desde la vena caudal, dos veces por semanas, para poder observar las fluctuaciones hormonales de los ciclos (Brook 2001; Robeck *et al.*, 1994, 2005).

La muestra se obtuvo en tubos marca Vacutainer BD®, al vacío, sin anticoagulantes, una vez obtenida la sangre completa se centrifugó en el laboratorio de cada delfinario, se separó el suero para congelarlo a -4° Celsius, hasta su análisis en el Laboratorio de Fisiología II del Centro de investigaciones y estudios avanzados (CINVESTAV), del Instituto Politécnico Nacional (IPN). Para el análisis las muestras se procesaron por duplicado, utilizando estuches comerciales de Radioinmunoanálisis (RIA), ESTR-CTRIA (estradiol) y PROG-CTRIA (progesterona), marca CISbio International GIF-SUR-YVETTE TEX CEDEX/Francia, ambos con marcador de yodo 125. El análisis de Estradiol presentó una variación intra-ensayo de 3.5% y de 4.9% inter-ensayo; de acuerdo

al fabricante presenta 100% de afinidad con 17-beta estradiol, y una reacción cruzada con estriol de 3.5%, 1.7% con estrona y 1.16% con 17 alfa etinil estradiol, con el resto de los metabolitos presenta menos de 0.3% de afinidad, los rangos de sensibilidad para el estuche son desde 8 hasta 5000 pg/ml. En el caso del análisis de progesterona presenta una variación intra-ensayo de 3.5% y de 4.5% inter-ensayo; presenta una sensibilidad mínima de 0.05 ng/ml con una probabilidad de 95% de efectividad. El fabricante indica una afinidad del 100% con progesterona, una reacción cruzada de 6.2% con Deoxycorticosterona, 2.2% con 20 alfa dihydroprogesterona, 1.6% con 16 alfa dihydroprogesterona, con el resto de los metabolitos presenta una reacción cruzada de menos de 1%

- Evaluación reproductiva gonadal

Se realizaron dos monitoreos reproductivos por semana de ultrasonografía, de acuerdo a la técnica descrita por Brook (2000), lo que permitió observar en forma directa los eventos gonadales, que fueron relacionados con la actividad endocrina y el comportamiento en los diferentes tipos de ambiente. A su vez, por medio de un hisopo vaginal estéril, utilizando la técnica descrita por Muraco (2004), se colectaron células vaginales, dos veces por semana, para relacionar las proporciones de los diferentes tipos celulares con la concentración de las hormonas reproductivas, conducta, y las imágenes ováricas, en todas las hembras en los diferentes tipos de encierros; con el fin de comprobar el valor diagnóstico de este tipo de estudio.

- Análisis de los datos

Con los datos obtenidos se describieron los diferentes métodos utilizados para caracterizar la actividad gonadal de las hembras de los diferentes ambientes, y la relación que estas técnicas tienen entre ellas.

Resultados

El promedio de estradiol de la hembra del delfinario **A** fue de 22.3 ± 9.5 pg/ml (promedio \pm error estándar) y de progesterona fue 0.16 ± 0.12 ng/ml; para las tres hembras del delfinario **B** las concentraciones fueron de 30.1 ± 6.5 pg/ml de estradiol y 0.14 ± 0.13 ng/ml de progesterona. El promedio de estradiol para las cuatro hembras del delfinario **C** fue de 24.3 ± 8.2 pg/ml, y de 18.1 ± 27.4 ng/ml de progesterona. En el delfinario **D** las concentraciones de estradiol de las 9 hembras promediaron 23.5 ± 7.4 pg/ml y las de progesterona 0.02 ± 0.02 ng/ml (Cuadro 2.1)

Cuadro 2.1: Promedio de las concentraciones séricas de hormonas esteroidales de cada hembra.

DELFINARIO	HEMBRAS	INSTALACIONES	ESTRADIOL pg/ml	PROGESTERONA ng/ml
ARAGON A	1	CERRADAS	22.3	0.16
DELFINITI B	2	CERRADAS	28.2	0.04
DELFINITI B	3	CERRADAS	29.6	0.23
DELFINITI B	4	CERRADAS	33.7	0.18
DELPHINUS C	5	ABIERTAS	19.9	25.1
DELPHINUS C	6	ABIERTAS	21.2	24.2
DELPHINUS C	7	ABIERTAS	35.1	30.6
DELPHINUS C	8	ABIERTAS	25.4	0.06
DOLPHINARIS D	9	ABIERTAS	30.5	0.04
DOLPHINARIS D	10	ABIERTAS	17.4	0.01
DOLPHINARIS D	11	ABIERTAS	30.7	0.02
DOLPHINARIS D	12	ABIERTAS	22.1	0.01
DOLPHINARIS D	13	ABIERTAS	17.01	0.006
DOLPHINARIS D	14	ABIERTAS	16.8	0.03
DOLPHINARIS D	15	ABIERTAS	20.4	0.009
DOLPHINARIS D	16	ABIERTAS	23.2	0.009
DOLPHINARIS D	17	ABIERTAS	21.8	0.001

De acuerdo con los datos que se han reportado para la especie (Brook, 2001; Robeck et al., 2005), en las hembras estudiadas los niveles de hormonales encontrados indican anestro en todos los individuos, excepto en tres hembras del delfinario **C**, las que presentaron actividad ovárica que indicó una ovulación en las

hembras 5 y 6, y en la hembra 7 los niveles hormonales podrían indicar una ovulación pero lamentablemente no se logró obtener muchas muestras sanguíneas de este individuo.

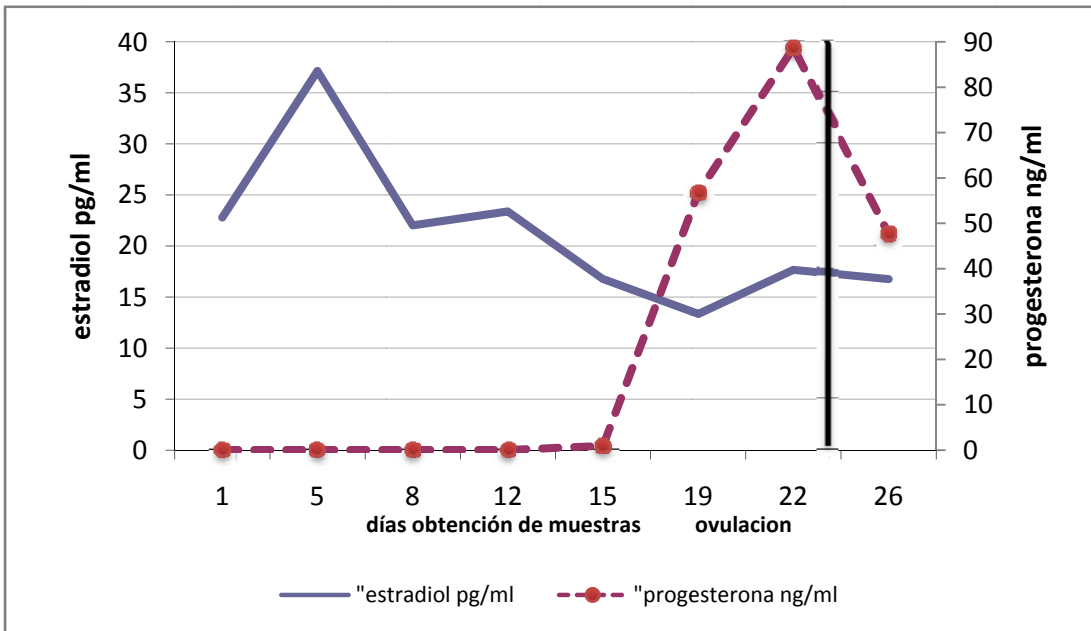
El primer día del estudio las hembras del delfinario C presentaron una concentración de estradiol sérico de 22.02 a 37.1 pg/ml en la hembra 5 (H5), y de 19.6 a 23.8 pg/ml en la hembra 6 (H6); estos niveles se disminuyeron a 16.7 pg/ml (H5) y 17.1 pg/ml (H6), previo al aumento de la concentración de progesterona que llegó hasta 88.7 ng/ml (H5) y 93.6 ng/ml (H6), y bajando hasta 47.6 y 39.8 ng/ml, respectivamente (Cuadro 2.2). Al graficar estos cambios hormonales se logra observar los picos pre-ovulatorios de la progesterona serial y las variaciones del estradiol, previo a la ovulación, que se logró ver en las imágenes de ultrasonido (gráficas 2.1 y 2.2).

Cuadro 2.2 Citologías vaginales, concentración sérica de hormonas esteroidales de las hembras que ovularon

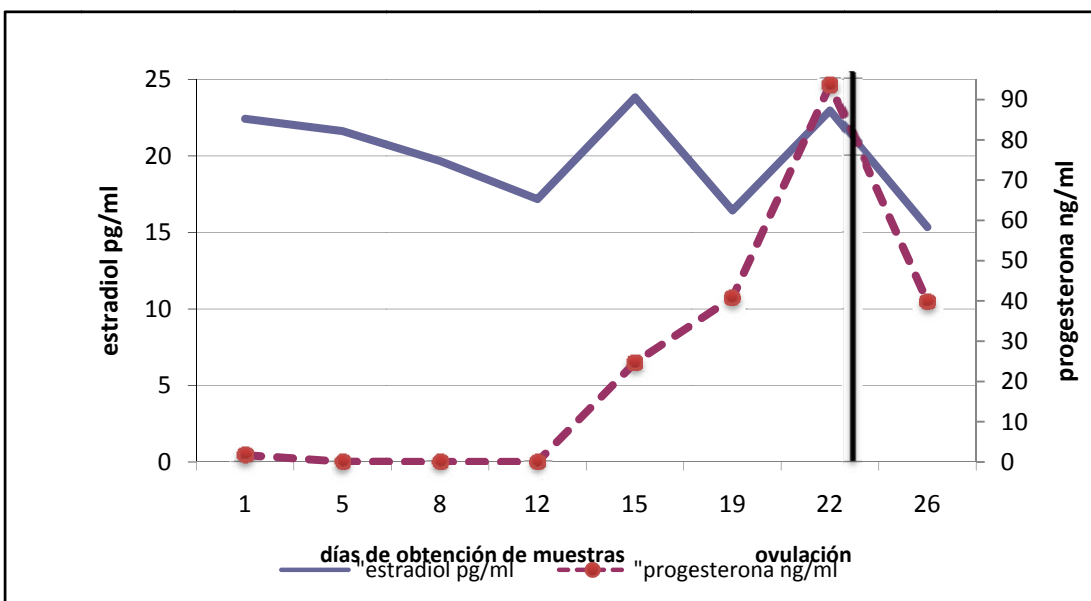
Días de muestreo			Día 1	Día 5	Día 8	Día 12	Día 15	Día 19	Día 22	Día 26
HEMBRA 5	Estradiol (pg/ml)		22.8 37.1		22.02	23.3 16.7	13.3 17.6	16.7		
	Progesterona (ng/ml)		0.04 0.05	0.04 0.04			0.9	56.7 88.7	47.6	
Citología Vaginal (%)	Sup.		20	30	40	50	60	50	40	20
	Inter		40	50	20	30	20	30	20	30
	Bas.		40	20	40	20	20	20	40	50
HEMBRA 6	Estradiol (pg/ml)		22.4 21.6	19.6 17.1	23.8 16.4	22.9 15.3				
	Progesterona (ng/ml)		1.7	0.07 0.06	0.05 24.7	40.7 93.6	39.8			
Citología Vaginal (%)	Sup.		20	40	70	70	60	70	50	30
	Inter		30	30	20	20	30	20	20	30
	Bas.		50	30	10	10	10	10	30	40

Citología vaginal: porcentaje de tipos celulares vistos en cada hembra, Sup. Células superficiales o cornificadas. Inter. Células intermedias. Bas. Células basales o nucleadas

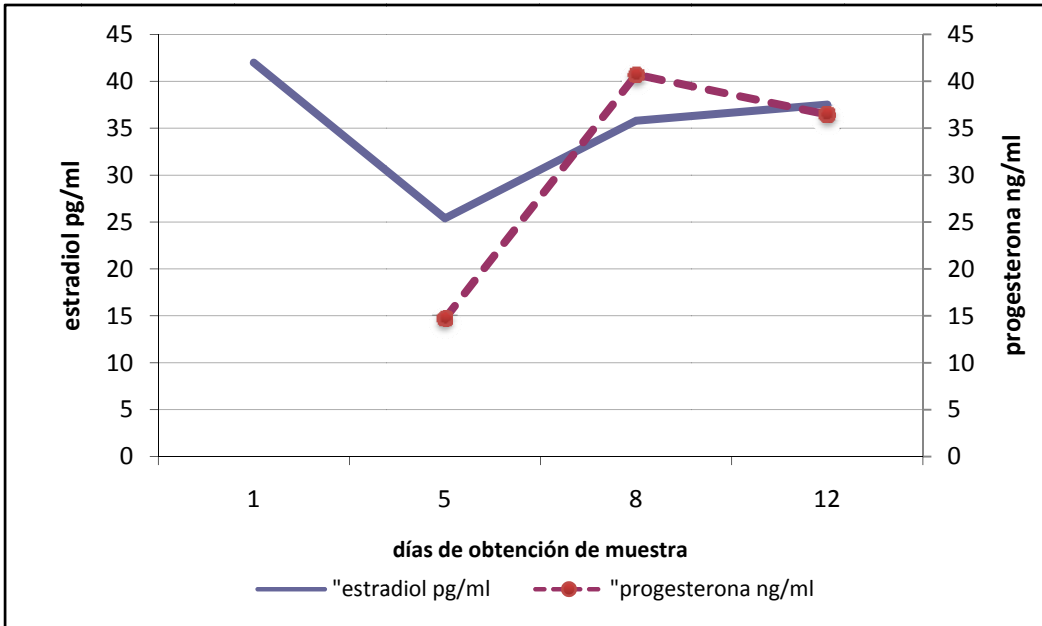
La hembra 7 del delfinario C también mostró un incremento en sus concentraciones de progesterona sérica (40.7 ng/ml máximo), aunque menores a los registrados en las otras dos hembras, y del mismo modo la concentración de estradiol presentó una leve disminución previo al aumento de progesterona (de 41,9 a 25,3 pg/ml) (gráfica 2.3).



Gráfica 2.1 Variación en niveles hormonales en el momento de la ovulación (línea negra) de la hembra 5 de Delfinario C.



Grafica 2.2 Variación de niveles hormonales en el momento ovulación de la hembra 6, en Delfinario C



Grafica 2.3 Eventos hormonales de la hembra 7 en Delfinario C, durante los días de muestreo.

Las imágenes de ultrasonido de los ovarios de todas las hembras de los delfinarios A, B y D, y de la hembra 8, del del finario C, que desde ele punto de vista hormonal se encontraban en anestro, se encontró ausencia de folículos o de estructuras sugestivas de presencia de cuerpo lúteo. En la figura 2.1, se presenta un ejemplo de este tipo de ovarios .

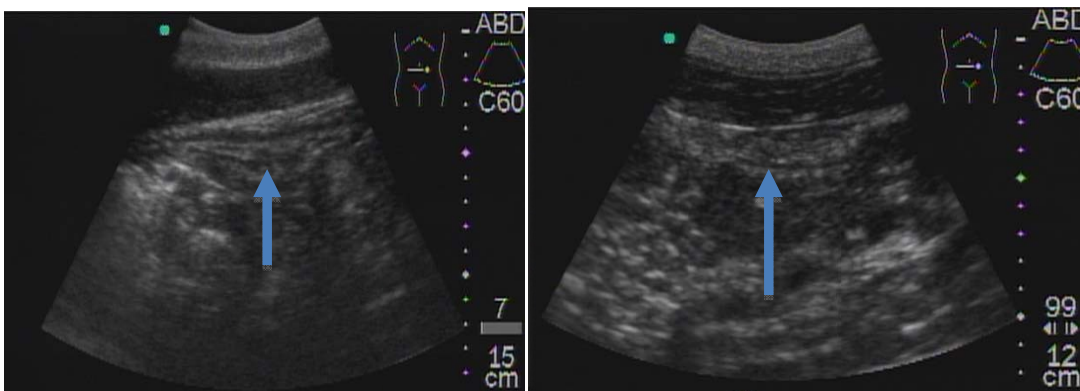


Figura 2.1 Imágenes de ovarios sin actividad

En el caso de las hembras 5 y 6 del delphinario C, que presentaron actividad hormonal ovárica (Cuadro N° 2.2), se logró observar durante el periodo de investigación, eventos ováricos que permitieron darle seguimiento a la ovulación, en las dos hembras se observó el crecimiento de los folículos y la posterior formación del cuerpo hemorrágico y cuerpo lúteo. En la hembra 5 el día 15 de observación se vio un folículo pre-ovulatorio de 2.6 cm, en el ovario derecho (figura 2.2), el día 19 se observó el cuerpo hemorrágico de ese folículo (figura 2.3) y para el día 22 del estudio se logró ver ya el cuerpo lúteo definitivo de gestación (figura 2.4). En la hembra 6 el folículo pre-ovulatorio se vio el día 12 y midió 2.16 cm (figura 2.5), para el día 15 se logró visualizar el cuerpo hemorrágico post-ovulación (figura 2.6) y el día 22 se vio el cuerpo lúteo maduro de gestación (figura 2.7). Todas las imágenes obtenidas coincidieron con la etapa de l ciclo en que se encontraban las hembras desde el punto de vista hormonal.

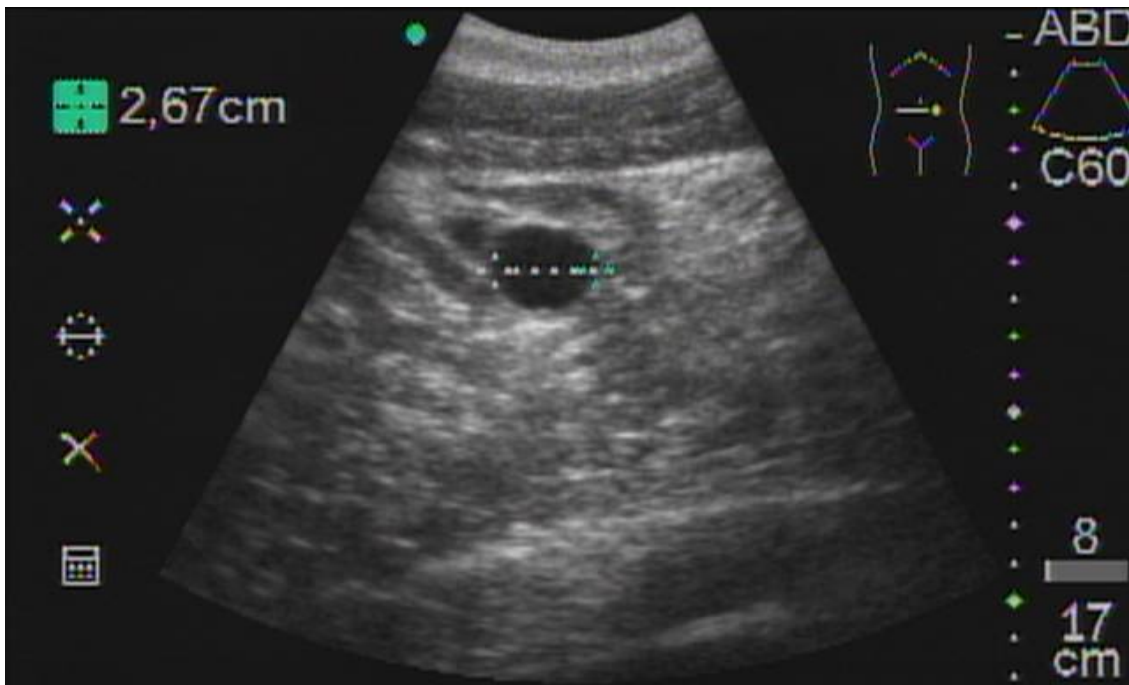


Figura 2.2 Folículo pre-ovulatorio de 2.6 cm de diámetro presente en el ovario derecho de la Hembra 5 del delphinario C en el día 15 del periodo de muestreo.

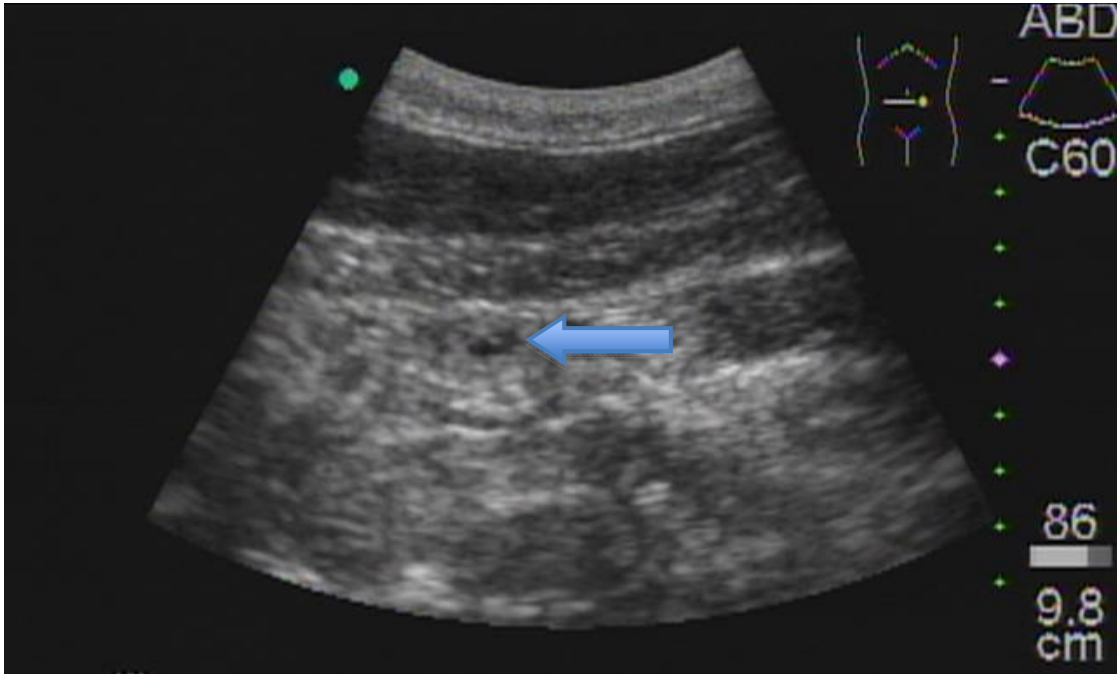


Figura 2.3 Cuerpo hemorrágico en el ovario derecho de la hembra 5 del delfinario C en el día 19 del periodo de muestreo.

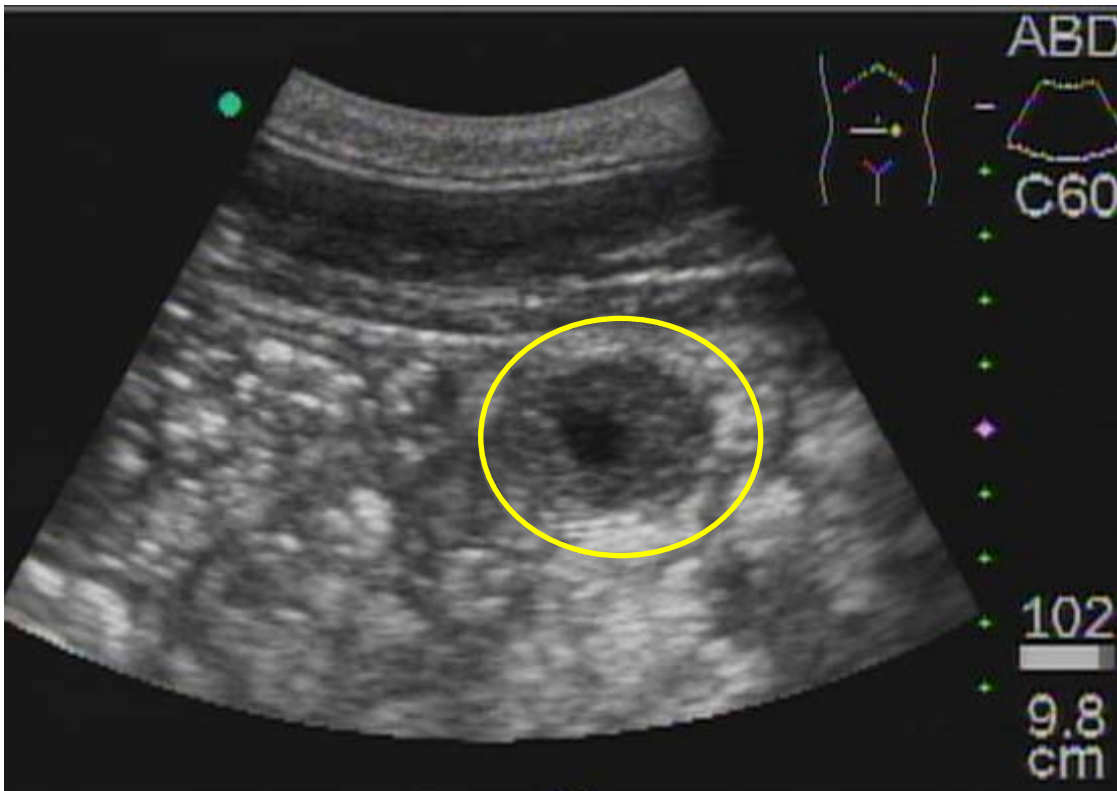


Figura 2.4 Cuerpo lúteo temprano en el ovario derecho de la Hembra 5 del delfinario C en el día 22 de muestreo.

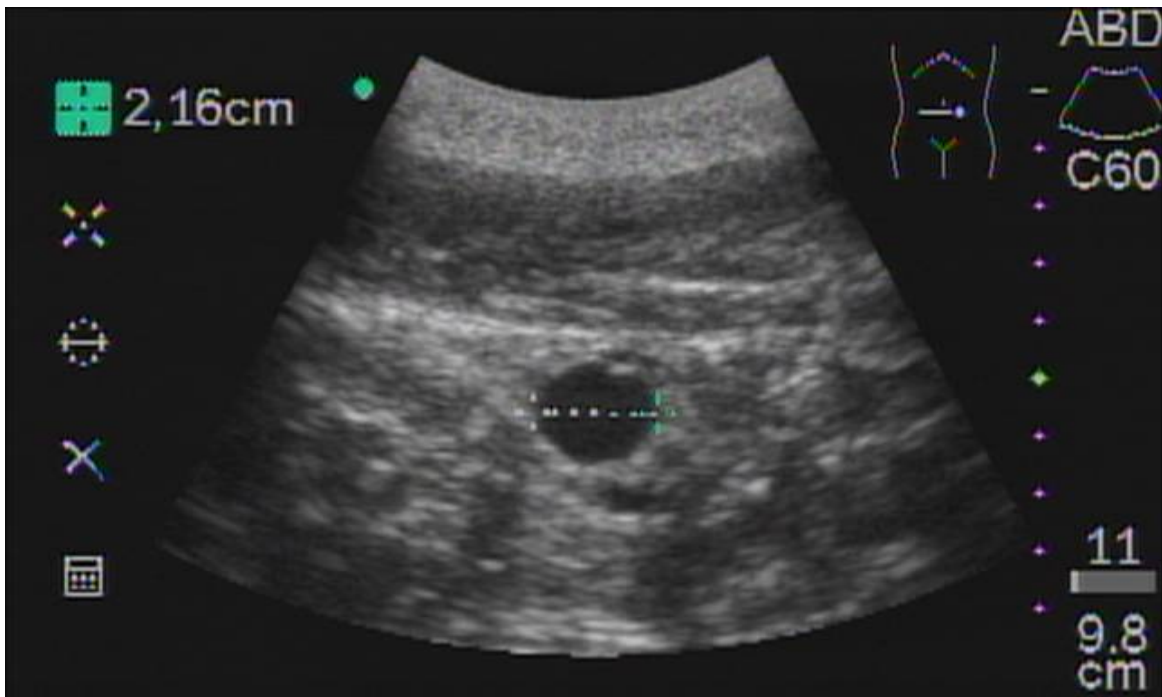


Figura 2.5 Folículo Pre-ovulatorio de 2.16 cm del ovario izquierdo en la Hembra 6 del delfinario C.

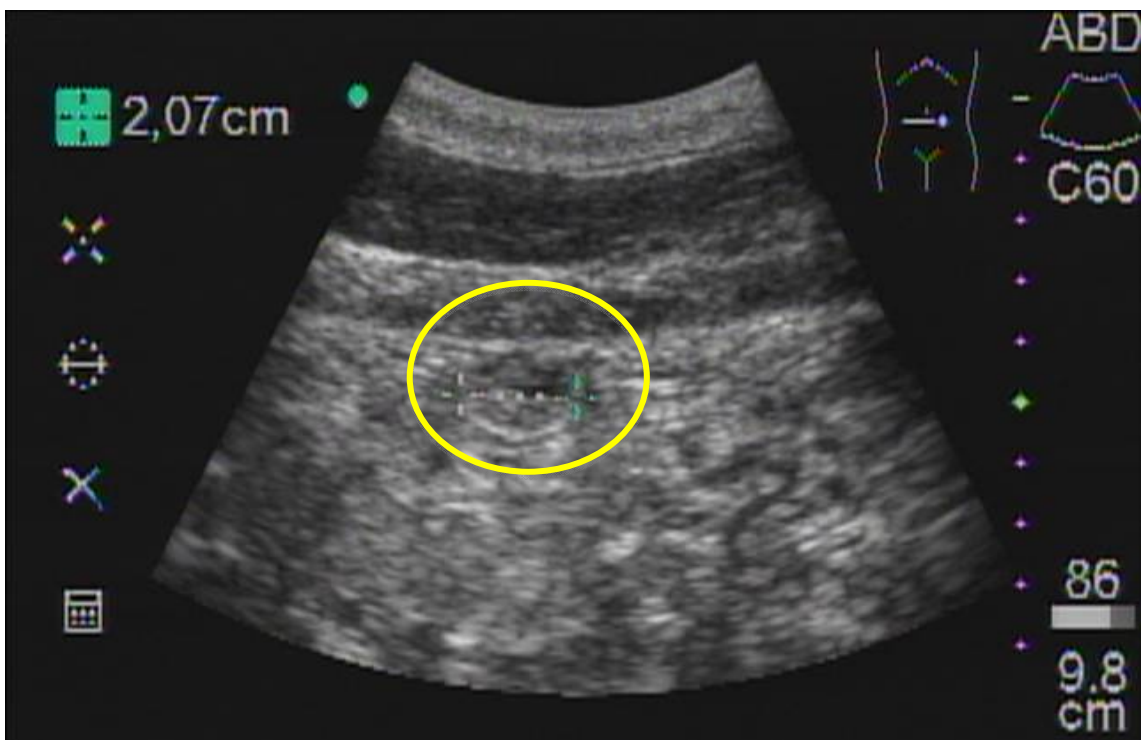


Figura 2.6 Cuerpo hemorrágico en la hembra 6 del delfinario C

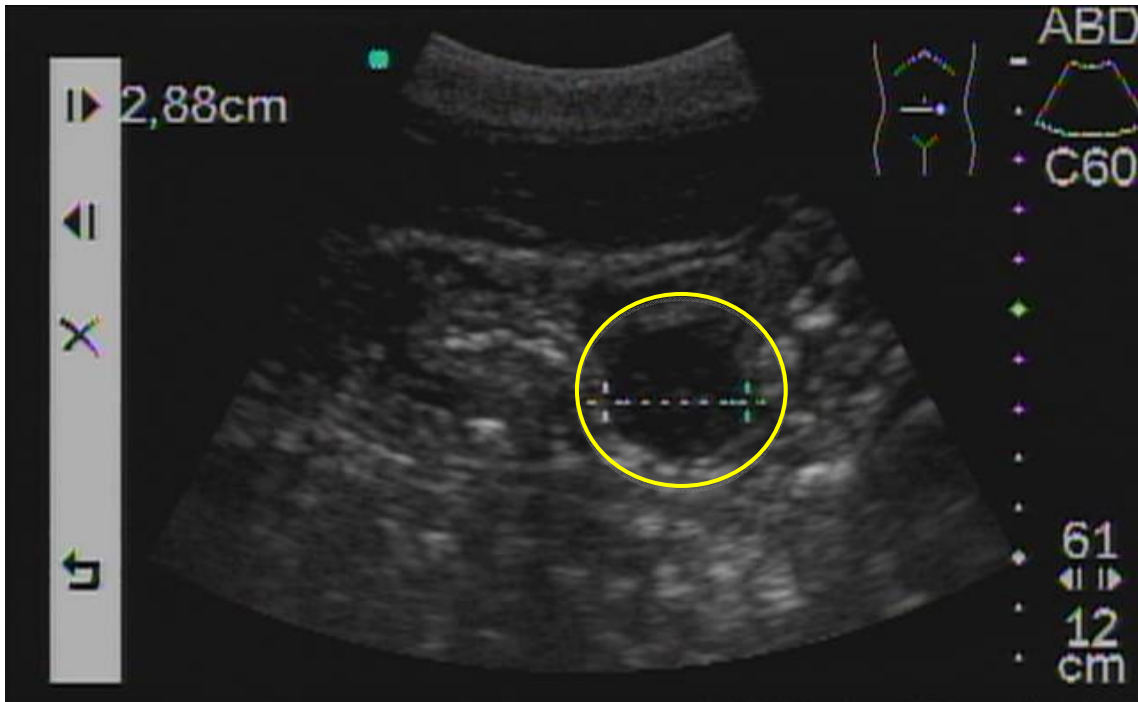
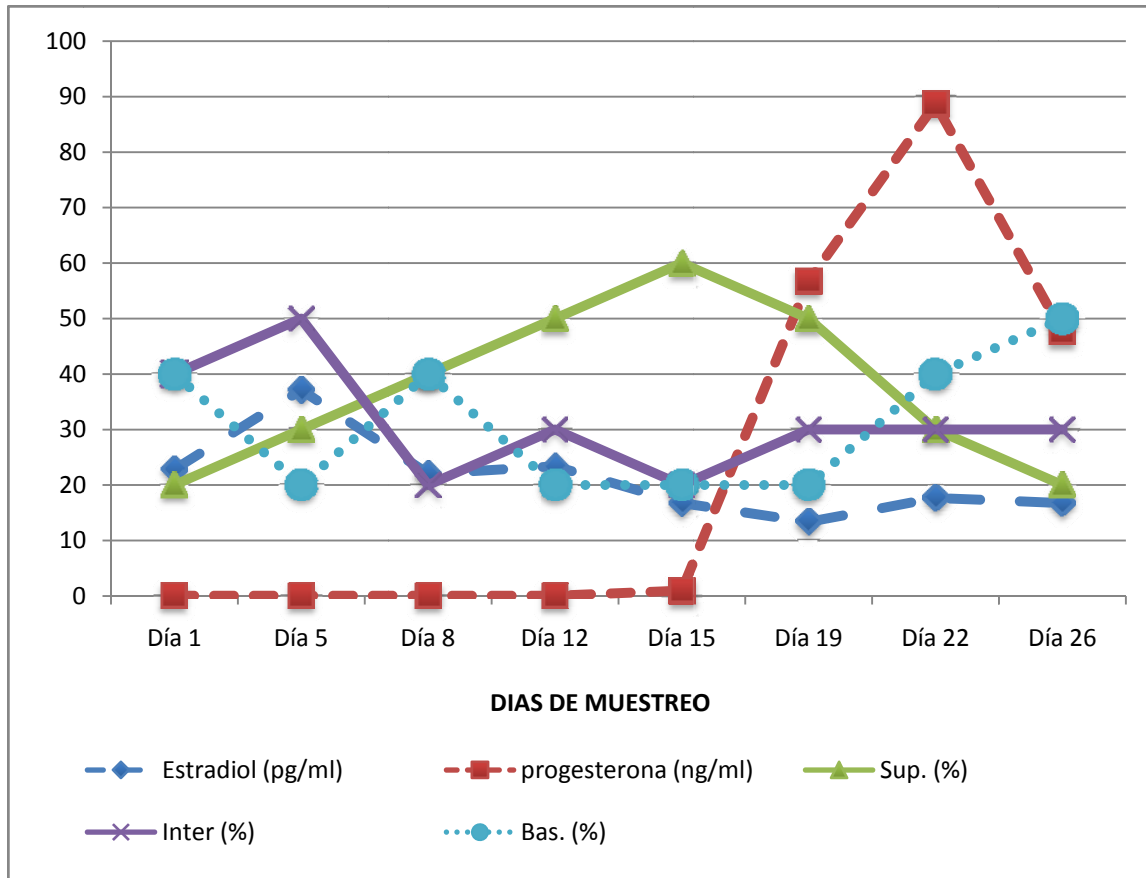


Figura 2.7 Cuerpo lúteo temprano de la hembra 6 del delfinario C.

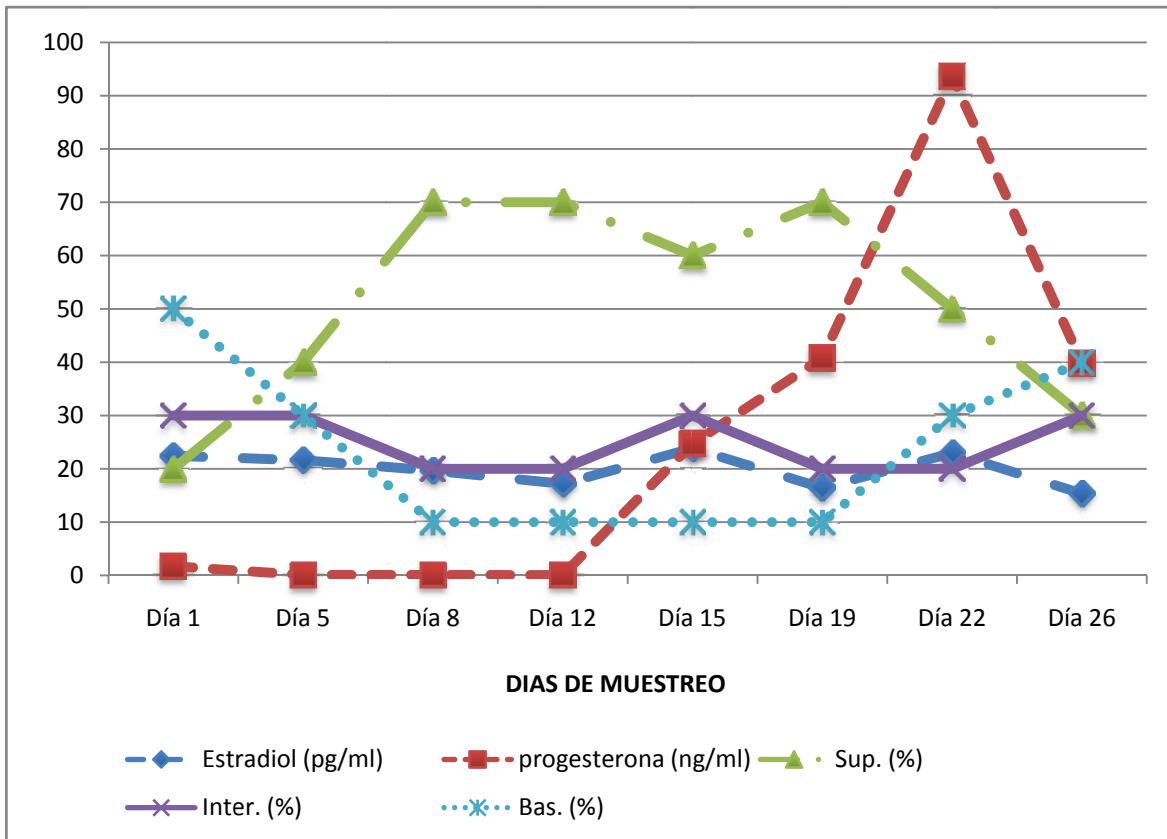
Citología vaginal

Las 17 hembras estudiadas permitieron de forma voluntaria realizarles el muestreo de citología vaginal de manera voluntaria, dos veces por semana, obteniendo un total de 136 muestras. De los análisis al microscopio con un aumento de 10x, se observó una predominancia de las células basales e intermedias, en las muestras de los delfinarios A, B y D, lo que indicó anestro o inactividad ovárica, mismo que se pudo comprobar con las imágenes de ultrasonido y la cuantificación de hormonas sexuales séricas. Las hembras del delfinario **A** presentaron un promedio de 36 % de células basales, 47% de células intermedias y 17% de células superficiales o cornificadas. En el delfinario **B** las hembras presentaron un promedio de 42% de células basales, 38% de células intermedias y 20% de células superficiales. En el delfinario **D** el promedio de las proporciones celulares de las citologías vaginales fue 43% basales, 37% intermedias y 20% de células superficiales.

En contrastes, en las hembras 5 y 6 del delfinario **C** la citología permitió identificar los ciclos ováricos durante el periodo de estudio, lo que se corroboró la información obtenida por medio de las imágenes de ultrasonido y de las concentraciones séricas de hormonas esferoidales. En ambos casos las citologías vaginales obtenidas presentaron un aumento de las células superficiales y una disminución de las células basales durante los días previos a la ovulación, al haber concentraciones elevadas de progesterona las proporciones de células superficiales fueron disminuyendo de manera gradual y aumentando las basales, como se observa en el cuadro 2.2 y graficas 2.4 y 2.5.



Graficas 2.4 Concentraciones de estradiol y progesterona, así como el porcentaje de células superficiales, intermedias y basales en la citología vaginal en diferentes días de muestreo en la hembra 5.



Graficas 2.5 Concentraciones de estradiol y progesterona, así como el porcentaje de células superficiales, intermedias y basales en la citología vaginal en diferentes días de muestreo en la hembra 6.

Discusión

Desde la década de los 70's se ha estudiado la biología reproductiva del del fín nariz de botella (Kirby *et al.*, 1978; Richkind and Ridgway, 1975; Sawyer-Steffan, J. E. *et al.*, 1983; Yoshio ka *et al.*, 1986), definiendo por medio del análisis de progesterona y estradiol que los ciclos reproductivos de las hembras de la especie tienen una duración de 17 a 42 días. Cuando las hembras están ciclando pueden presentar hasta 7 ciclos ováricos al año. En otras ocasiones las hembras pueden presentar anes tros prolon gados de uno o do s años. L as razo nes para est os patrones de ovulación irregular y periodos de anestro son inciertas (Benirschke *et*

al.,1980; Cornell *et al.*, 1977; Cornell *et al.*, 1987; Kirby & Ridgway, 1984; Schroeder, 1990; West, K. L. *et al.*, 1999)

Urian *et al.*,(1996) reportaron que las temporadas de reproducción de los *T. truncatus* en cautiverio muestran grandes variaciones con respecto a las encontradas en los animales silvestres. Sin embargo, también informó que los animales nacidos en vida libre, a pesar de largos períodos de tiempo en cautividad, mostraron un patrón de actividad reproductiva similar a la de su población de origen.

Anteriormente se observó que los niveles basales de progesterona y estradiol en hembras adultas en cautiverio son bajos, con una media de 0.28 ± 0.02 ng/ml (progesterona) y de 25 ± 1 pg/ml (estradiol) (Swayer-Steffan *et al.*, 1983), los que son muy semejante a los resultados obtenidos en este trabajo, en las hembras que tenían inactividad ovárica.

En el delfinario C, se encontró que las hembras tenían actividad ovárica cíclica, por lo que en ciertos momentos tuvieron una mucho mayor concentración de progesterona sérica, lo que se relacionó con la presencia ultrasonográfica de un cuerpo lúteo funcional, en las hembras 5 y 6. Estos resultados coinciden con los resultados encontrados por Swayer-Steffan *et al.*, (1983) en hembras que ovularon. Ellos observaron que no existen variaciones estacionales en las hembras en cautiverio, con excepción de 5 individuos (del total de su estudio) que presentaron una ovulación primaveral, de acuerdo a sus niveles de progesterona sérica.

Las concentraciones bajas de estradiol obtenidas en las hembras estudiadas, son semejantes a las reportadas anteriormente, por diferentes autores (Kirby, 1990; Yoshioka *et al.*, 1986). Esto se podría atribuir, también a la frecuencia de muestreo, ya que en otras especies esta hormona presenta cantidades circulantes diferentes, lo que se puede explicar por las fluctuaciones en su secreción durante

el día, por lo que en otras especies de mamíferos los periodos de evaluación y las frecuencias de muestras son de 24 hrs. para abarcar la mayor cantidad de puntos de observación (Pauerstein *et al.*, 1978). Lamentablemente esto no se puede llevar a cabo en los delfines debido al riesgo de provocar flebitis en el animal, por el medio acuoso donde viven y su compleja red de vasos sanguíneos caudales.

Los resultados obtenidos con las hembras de los delfinarios A, B y D indican que no existió actividad ovárica durante los periodos de observación, aun cuando se ha descrito a la especie como poliestrónica continua (Swayer-Steffan *et al.*, 1983). Existen referencias que indican que la continuidad de los ciclos varía entre individuos o de acuerdo a sus edades. También se han reportado periodos irregulares en poblaciones cautivas naturales, llegando a presentarse periodos anéstricos de 1 a 8 meses de duración, lo que también se ha observado en hembras que se mantienen separadas de los machos durante 1 a 27 meses (Brook, 1997, 2000, 2001). Además de todos los factores estudiados Leatherwood y Reeves (1990) y Perrin y Reilly (1984) consideran que diversos factores intrínsecos pueden influir sobre la presentación del anestro.

En el caso de las hembras 5 y 6 del delfinario C que ovularon y quedaron gestantes, los resultados de estradiol obtenidos coinciden con los reportados por Yoshioka *et al.*, (1986), ya que encontraron rangos de 23 pg/ml durante los ocho primeros días posteriores a la ovulación, muy cercanos a los observados en el presente estudio (cuadro 2.3), aunque los mismos autores reportaron que los niveles pre-ovulatorio de estradiol son mucho mayores (125 a 200 pg/ml) a los que se obtuvieron de las hembras en este estudio. Otros autores que utilizan la ultrasonografía y las determinaciones hormonales para seguir los ciclos ováricos de otras especies de delfines como los Índico Pacíficos o *Tursiops aduncus*, encontraron que los perfiles estrogénicos séricos son erráticos y no útiles para la predicción de la ovulación (Brook 2000), ya que los niveles obtenidos por ellos fueron menores y no se correlacionaron con los eventos vistos en las imágenes y

los reportados, durante la fase folicular $< 13.6-31.36$ pg/ml, en fase lutea < 13.6 pg/ml, y en anestro $< 13.6-20.73$ pg/ml (Brook, 1997, 2000, 2001; Kirby, 1990). Esto se puede atribuir al número y la frecuencia de los muestreos, que no llegan a ser suficientes para reflejar los verdaderos niveles de estradiol en sangre.

Tal como lo describen otros autores (Kirby, 1984; Kirby & Ridgway, 1984; Sawyer-Steffan & Kirby, 1980; Sawyer-Steffan *et al.*, 1983; Schroeder, 1990; Yoshioka *et al.*, 1986, Brook 2004) los niveles de progesterona obtenidos antes de la ovulación en las hembras 5 y 6 del delfinario C, presentaron patrones irregulares, pero todas las concentraciones reportadas al igual que las obtenidas en éste estudio fueron menores a 1.0 ng/ml en las fases anéstricas, en las fases foliculares 0.09 a 0.65 ng/ml y mayores a 3 ng/ml en las fases luteas indicando la ovulación. En otro estudio Brook correlacionó las observaciones morfológicas en tiempo real con ultrasonido de las etapas ováricas con las concentraciones séricas de progesterona y estradiol en las diferentes fases, obteniendo niveles de progesterona entre 0.2 y 0.9 ng/ml en anestro y < 0.2 hasta 18.5 ng/ml durante el estro. Varios autores indican que los niveles de estradiol no varían entre el anestro y estro, mismo que reportaron otros autores (Kirby, 1990; Kirby & Ridgway, 1984; Sawyer-Steffan & Kirby, 1980; Sawyer-Steffan *et al.*, 1983; Yoshioka *et al.*, 1986), ya que se han encontrado niveles de entre 8.4 y 106.3 pg/ml en anestro y entre 11.2 y 379.2 pg/ml durante el estro.

Las imágenes ultrasonográficas obtenidas son una herramienta muy útil para la descripción de los ciclos ováricos como ya fue descrito por Brook (1997, 2000, 2001) y Robeck *et al.*, (1998). Las imágenes ováricas en tiempo real de las hembras que ovularon durante el periodo de observación del presente, coincide con lo reportado por dichos autores, donde los diámetro de los folículos pre-ovulatorios fueron de 20.1 ± 1.10 mm (rango de 18-22 mm; n=8), antes de la ovulación, y los cuerpos lúteos medidos tuvieron un diámetro máximo de 20.5 mm (rangos de 18.5 a 22.5 mm; n=5) antes de su regresión. Ellos encontraron un

intervalo inter ovulación de 30 días, lo que en este estudio no se pudo comprobar debido al tiempo de evaluación en cada locación.

En relación con las proporciones celulares encontradas en las citologías vaginales se observa una relación semejante a las encontradas en otras especies, donde las capas celulares de la mucosa vaginal se ven influenciadas por los efectos de las concentraciones séricas de estrógenos. Así las proporciones de células superficiales aumentan a medida que se acerca la ovulación, con una respectiva disminución de la cantidad de células basales. Este tipo de evaluaciones del ciclo ovárico se han utilizado anteriormente en esta especie por Sánchez et al (2005) con una proporción de 60 a 80% de células superficiales durante los periodos fértiles, y por Muraco et al (2004) quienes reportaron hasta el 100% de células superficiales en ese mismo periodo; en ambos casos reportaron al igual que en este estudio, que las concentraciones de estradiol se ven incrementadas al mismo tiempo que las proporciones de células superficiales, y una disminución de esta hormona conjuntamente con el incremento de la progesterona sérica una vez alcanzado el pico máximo de ese tipo celular. Los resultados obtenidos en este estudio además coinciden con las imágenes de tiempo real de los ovarios, lo que permite relacionar y comprobar que la mayor proporción de células superficiales se obtiene al acercarse la ovulación y una vez ocurrido este evento disminuyen rápidamente para incrementarse las cantidades de células basales.

Estudio 3.

Influencia de la estabilidad social sobre el índice de agresión de dos grupos de delfines en cautiverio

Vivir en grupos y cooperar con otros individuos del grupo tiene potenciales beneficios, como la reducción del riesgo de los predadores, debido al aumento de la probabilidad de detectarlos o ahuyentarlos (Pulliam, 1973), el aumento en la capacidad de defensa contra otros miembros de la misma especie (Parcker *et al.*, 1990), el aumento en la eficiencia de captura o búsqueda de presas (Götmark *et al.*, 1986), la reducción de los costos de cuidados de las crías debido a la protección y alimentación cooperativa (Brown 1987). La existencia de una jerarquía dentro de los grupos, con individuos dominantes y subordinados, hace que los costos y beneficios de la vida en grupos no sean similares para todos los miembros del grupo. Las jerarquías de dominancia existen en muchos artrópodos y vertebrados que viven en grupos permanentes o semipermanentes (Drickamer & Vessey, 1992). En estos casos los animales dominantes ganan acceso a recursos más fácilmente que los subordinados (Smith, 1981; Le Boeuf & Reiter, 1988; Drickamer & Vessey, 1992). Diversos estudios en aves y mamíferos muestran que en general los individuos dominantes están bien alimentados y sanos, mientras que los subordinados están malnutridos y enfermos, sufriendo una mayor mortalidad (Drickamer & Vessey, 1992). Se dice que un animal es dominante cuando controla la conducta de otro, el subordinado (Scott, 1966). En tal sentido, uno puede predecir el resultado de una interacción competitiva entre un individuo dominante y uno subordinado. Existe una gran variación en cuanto a la intensidad de la dominancia y la frecuencia de las inversiones de la dominancia (Drickamer & Vessey, 1992). La dominancia despótica se da cuando un individuo domina a varios subordinados entre los cuales no existe jerarquía. Otra posibilidad es que exista una dominancia lineal, donde un individuo domina a otro y este a su vez domina al siguiente y así sucesivamente. Otras formas más complejas de dominancia incluyen la dominancia irregular o la dominancia por coalición.

Los delfines son especies altamente sociables y consecuentemente sensibles al estrés social. La estructura grupal en vida libre está caracterizada por una fluida asociación entre el tamaño grupal y los cambios regulares de los miembros, sin embargo las relaciones sociales fuertes son de largo plazo entre los individuos que la constituyen (Wursig and Wursig, 1979; Wells *et al.*, 1987; Smolker *et al.*, 1992). En los animales en cautiverio la existencia de un grupo social inadecuado, los cambios sociales abruptos y la subordinación se asocian con una alta incidencia de enfermedades, comportamientos sociales aberrantes, agresiones, y un pobre éxito en la crianza de las crías (Caldwell and Caldwell, 1977, Wood, 1977, Sweeney, 1990). Un grupo puede ser de tamaño óptimo, aún satisfacer algunas de las necesidades sociales, reproductivas o psicológicas de un individuo si la estructura y composición no son adecuados, como por ejemplo los calitricidos, que son mantenidos en grupos solo de hembras, hacen que las hembras subordinadas bloqueen su reproducción (Baker *et al.*, 2002; Dietz, 2004),

Algunos animales de granja reaccionan aversivamente ante individuos no familiares, lo que aumenta las agresiones y evasiones cuando son introducidos nuevos miembros al grupo social. Los niveles altos de encuentros, peleas y desplazamientos son indicadores de un estrés social dentro del grupo (cerdos, Andersen *et al.*, 1999; ovejas, Boe *et al.*, 2006; cabras, Jorgensen *et al.*, 2006.) Las consecuencias posibles de las tensiones sociales en este tipo de animales son el bajo acceso a fuentes de agua, alimento y áreas atractivas para el descanso debido al tiempo empleado en las actividades agonistas, lo que disminuye el tiempo disponible para la alimentación y descanso (Andersen *et al.*, 1999; Boe *et al.*, 2006.). Esto resultaría en una disminución de la ingesta de alimentos y una tasa menor de crecimiento (Stookey and Gonyou, 1994), supresión de la respuesta inmune (Tuchscherer *et al.*, 1998; De Groot *et al.*, 2001) reducción de la producción de leche (Hasegawa *et al.*, 1997; Fernandez *et al.*, 1997) y una disminución del éxito reproductivo (Mendl *et al.*, 1992; Bakken *et al.*, 1993).

House *et al.*, (1982) reportaron que la pérdida de soporte social lleva a una fuerte respuesta de estrés e incrementa el riesgo de mortalidad. El apoyo social toma la forma de compañerismo, interacción afiliativa, o apoyo físico en las interacciones de dominancia. La flexibilidad para la creación de los grupos sociales en cautiverio no solo es necesario en cuanto al número de individuos, sino que también es un método para introducir individuos nuevos. Un factor estresor potencial puede ser identificado o minimizado con una cuidadosa planeación, introduciendo individuos con familiaridades específicas (Lindburg *et al.*, 1997; Stoinski *et al.*, 2004; Pullen, 2005). Los métodos de introducción de individuos pueden alterar la estabilidad social a largo plazo, por ejemplo en los grupos de machos de gorilas (Stoinski *et al.*, 2004). Todas estas conductas se han observado en sociedades de delfines a través del establecimiento de un vínculo social de largo plazo (Würsig and Würsig, 1979; Wells, 1991), comportamientos táctiles (Samuels *et al.*, 1989; Connor *et al.*, 2000; Samuels and Tyack, 2000) y la formación de alianzas (Connor *et al.*, 1999; Connor, 2000). Todas las inestabilidades en las relaciones a menudo conducen a incrementos de estrés y agresión social en los grupos (Von Holst, 1998). Para los delfines en cautiverio, la inestabilidad en las relaciones sociales ocurre cuando son ingresados animales nuevos o cuando los individuos reaccionan y necesitan reorganizar las posiciones y las estructuras sociales. En ambos casos el resultado son agresiones, enfermedades, y mortalidad entre la población, llegando incluso a una práctica común en los delfinarios, que es retirar al macho y reestructurar las relaciones sociales (Caldwell and Caldwell, 1977; Samuels and Grifford, 1997).

Muchos cetáceos y en especial los odontocetos, viven en grupos con estructuras sociales caracterizadas por tener asociaciones de largo plazo entre sus individuos (Tyack, 1986). Por ejemplo, hay estudios longitudinales de delfines que revelan patrones complejos de relaciones a largo plazo (Wells *et al.*, 1987; Wells, 1991; Connor *et al.*, 1992; Smolker *et al.*, 1992). Los machos adultos forman uniones estables con uno o dos machos durante muchos años, y estas relaciones tienden a ser cooperativas entre los machos unidos y antagonistas con alguna otra unidad

de machos. Las asociaciones de hembras adultas también poseen una red trabajo pero mas amplia c on mas individuos pero cerrada, así como relaciones de largo o plazo con hembras específicas incluso de lineras familiares matriarcales.

Las relaciones de dominancia entre individuos se analizan mediante el uso de matrices sociométricas o de interacciones (Lehner, 1996), donde se anotan en forma binomial el número de interacciones entre individuos (agresiones o desplazamientos activos). En cada interacción agresiva un individuo es anotado como ganador (si agrede o desplaza a otro) o como perdedor (si es desplazado o agredido por otro). El resultado es una matriz de interacciones diádicas, donde las columnas indican los individuos perdedores y las filas a los vencedores, un individuo es considerado dominante sobre otro si gana significativamente más veces en las interacciones entre ellos (test binomial).

Objetivo

Identificar el efecto de la estabilidad de la estructura social de dos grupos de delfines en cautiverio, sobre la dinámica de la interacción social en dos ambientes físicos diferentes, mediante las interacciones sociales de las poblaciones.

Metodología

Se realizaron observaciones focales, de 10 minutos por cada individuo, en sesiones de 4 horas por día, durante dos semanas hasta completar dos periodos de 24 hrs., en dos delfinarios diferentes con la misma composición grupal Delfinario A, ubicado en el sur este de México y Delfinario B, en las afueras de la ciudad de Madrid. Ambas poblaciones están constituidas por un macho y cuatro hembras, todos los animales tenían un rango de edades similar y tiempo en cautiverio similares (Cuadro N° 1). Sin embargo, el grupo del delfinario B lleva más de quince años juntos (grupo social estable), en cambio el grupo del delfinario A tenía dos meses de constituido, al iniciar el estudio (grupo social en formación), ya que la empresa tiene la política de reagrupar frecuentemente a sus poblaciones de delfines.

Con base en las interacciones observadas en las dos instalaciones se hicieron matrices de acciones recibidas y realizadas, para identificar el tipo de dominancia que existe en cada lugar y calcular los índices de dominancia de cada individuo a través del índice de agresividad de ambos grupos (Martin and Bateson, 1986) observando el efecto que tiene la estabilidad grupal sobre este índice. Las agresiones fueron tipificadas por las amenazas, intentos de infligir daño, mientras que sumisión fue tipificada por comportamientos asociados con evasión, retirada y escape. Un delfín fue identificado como dominante en una pareja cuando este ganó la mayoría de los enfrentamientos entre ambos (75 a 100%).

Se definió como interacción social cuando dos delfines estuvieron a menos de un metro de distancia entre ellos y realizaban uno o más comportamientos agresivos en esa distancia. El criterio de 1 metro se basó en los patrones de asociación preferenciales que fueron discernibles a esa distancia pero no de dos metros. Se consideró que ocurría el inicio de otro comportamiento o nueva interacción fue por un cambio de patrones o un quiebre de 10 segundos en la secuencia de comportamiento.

Se calculó la tasa o índice de agresiones en las dos poblaciones usando los datos obtenidos de las observaciones, como número de interacciones agonistas por minuto, calculando los promedios por día de cada población (Samuels A. and Gifford T, 1997). Se analizaron las interacciones de toda la población, entre el macho de cada población y sus respectivas hembras, y entre las hembras de cada población.

Análisis estadístico

Se calcularon los índices de agresión (Chambers, 1988), obtiene calculando siguiente fórmula: $IA = (a_i / S_i) \cdot 100$. Siendo a_i el número de interacciones de agresión y S_i el número total de interacciones observadas

Se compararon los índices de agresión de todos los animales de los dos grupos, los índices de agresión de cada macho de cada grupo con sus hembras, y los índices de las hembras entre ellas dentro de cada grupo; todas las comparaciones se realizaron a través de la prueba de Mann-Whitney

Resultados

Ambos machos fueron consistentemente dominantes sobre cada una de las hembras que componen su población. En el delfinario A, el macho participó en el 95% de las interacciones agonistas de la población, en cambio el macho del delfinario B sólo participó en el 67% del total de las interacciones agonistas de la población.

Las tasas de comportamientos agonistas o agresivos entre toda la población (todos contra todos) en el delfinario A fue de 0.64 comportamientos agresivos por minuto, que fue significativamente mayor que el índice de agresiones del delfinario B, 0.33 agresiones por minuto ($U=0$, $P=0.0027$). Con esto se espera conocer el efecto que tiene la estabilidad social de la población sobre el índice de agresiones, en ambas poblaciones.

Las agresiones de cada macho hacia las hembras de la población, son las interacciones agresivas más comunes en la mayoría de los delfinarios. Al comparar los índices de agresiones ocurridas entre el macho y las hembras del delfinario A, se observaron 0.608 interacciones por minuto, lo que fue estadísticamente mayor que lo ocurrido en el delfinario B, 0.21 agresiones por minuto (Mann-Whitney $U=81$; $P<0.003$).

En el caso de las agresiones ocurridas entre las hembras del delfinario A fue 0.036 interacciones por minuto y entre las hembras del delfinario B fue de 0.0015 interacciones agresivas por minuto, siendo estadísticamente significativa la

diferencia entre ambas poblaciones, indicando la mayor cantidad de agresiones en el delfinario A ($U=11.5$; $P<0.002$)

Discusión

Debido a los manejos del delfinario A sus poblaciones siempre son inestables, y a que van cambiando los animales dependiendo de las necesidades de la empresa, mientras que la población del delfinario B lleva 15 años juntos en la misma instalación sin incluir nuevos animales, excepto las crías que nacen en el mismo lugar y al destete son trasladadas a otras instalaciones. Esto sugiere que existe una diferencia clara en la estabilidad social de ambos grupos.

Al observar y cuantificar las interacciones agonistas de las poblaciones se logra observar, que los animales socialmente más estables, presentan menor proporción de comportamientos agonistas, tal como informaron Granquist *et al.*, (2008), en caballos, en los que se detectó un aumento en la tasa de agresiones en los grupos temporales de caballos en comparación con los grupos permanentes. En otras especies de animales domésticos (cerdos, ovejas, y cabras) se ha informado que la inestabilidad social debido a reagrupación es llega a afectar los niveles de estrés, debido al aumento de los niveles de encuentros, peleas o desplazamientos y agresiones dentro del grupo (Andersen *et al.*, 1999; Boe *et al.*, 2006; Joergensen *et al.*, 2006; Andersen *et al.*, 2008). En cabras lecheras incluso baja la cantidad de leche producida después de cada reagrupación (Fernández *et al.*, 2007), mientras que en el caso de animales productores de carne las reagrupaciones continuas provocan aumento en las agresiones (Raussi *et al.*, 2005). En el caso de las cabras las sucesivas reagrupaciones aumentan la frecuencia de los comportamientos agonistas (Andersen *et al.*, 2008).

Aunque los delfines tienen complejas relaciones sociales (Wells *et al.*, 1987; Smolker *et al.*, 1992; Connor *et al.*, 1996) que frecuentemente resultan en

antagonismos (Ostman 1991, Samuels and Gifford 1997), hay pocos estudios cuantitativos de afiliación y agresión en delfines. Muchos autores tienden a tratar brevemente los conflictos de los delfines o a interpretar los hallazgos en términos de esta asociación con la tasa de dominancia que ocurre fuera del conflicto, por ejemplo los comportamientos pos-conflictos durante las reconciliaciones (McBride and Hebb 1948, Norris 1967, Pryor 1975, Lockyer 1990, Ostman 1991).

De acuerdo a investigaciones anteriores, para los delfines en cautiverio la inestabilidad social se expresa cuando nuevos animales son introducidos a una población, llevando a la desorganización del grupo, algo semejante a lo visto en vida libre cuando los machos juveniles alcanzan la madurez sexual e intentan escalar en la jerarquía social (Connor and Smolker, 1995, Wapples and Gales, 2002), lo que concuerda con lo reportado por Manteca and Deag (1993b), que sugieren que en los grupos de animales con lazos sociales más fuertes, los efectos de estresores ambientales disminuyen, lo mismo describen Galhardo et al. (1996) en las poblaciones de delfines cautivos que ellos estudiaron, recalcando que estas uniones contribuyen al bienestar de los animales.

La dominancia de los machos sobre las hembras es comúnmente reportada entre las especies dimórficas, en las que los machos son el sexo más grande (ejemplo, baboons, Hausfater, 1975, citado por Samuels, 1999). Entonces, la dominancia de los machos en los delfines estaría relacionado al mayor tamaño corporal y mayor masa corporal de los machos maduros sobre las hembras, lo que fue documentado en *Tursiops truncatus* en vida libre en Sarasota, Florida, USA (Read et al., 1993; Tolley et al., 1995). En las colonias de delfines en vida libre, los machos dominantes fueron claramente los individuos más grandes (Tayler and Saayman, 1972 citado por Samuels, 1999). En los dos grupos de delfines evaluados en el presente estudio los machos son considerablemente más grandes en tamaño que las hembras. Las interacciones agresivas observadas en la población del delfinario A, fueron mucho más frecuentes al inicio del periodo de observación, cuando llevaban menor tiempo de sociabilización, para poco a poco

ir reduciéndose conforme las jerarquías se iban estableciendo. Algo similar se ha observado en grupos de delfines socialmente estables, cuando se les agregan nuevos individuos que resulta en forma inmediata en un aumento significativo en las agresiones y disminuían con el tiempo (Sammuels 1999).

La mayor cantidad de conocimiento acerca de las relaciones de dominancia que existe de esta especie derivan de estudios en cautiverio. Poca o nula es la confirmación acerca de las relaciones de dominancia en las colonias de delfines silvestres, llevando a la especulación de que este tipo de comportamiento y relaciones dominantes son producto del cautiverio de la especie, lo que en vida libre se vería como una separación física espacial (Shane *et al.*, 1986). La falta de verificación de esta información no es sorpresa, ya que se puede atribuir a la escasez de estudios de campo que se refieren a este tipo de interacciones sociales. Aunque las segregaciones espaciales de grupos específicos del mismo sexo o edades semejantes entre las comunidades de delfines silvestres (Wells *et al.*, 1987), permiten no excluir las relaciones de dominancia entre los individuos con quienes interactúan regularmente.

Estudio 4

Análisis de estrategias individuales de las conductas entre las instalaciones abiertas y cerradas.

En los principios de la etología se asumía que existirían grados de similitud en la conducta de los individuos de una misma especie (Manteca, 1991). En la actualidad, después de muchas investigaciones (Galindo and Broom, 2000; Galindo, 1994; Mendl *et al.*, 1992; Sapolsky and Ray, 1989) no se puede asumir que todos los grupos de animales son homogéneos. Las diferencias individuales en un grupo social y la manera en que estas se relacionan con los procesos ontogénicos es de gran importancia (Algers, 1993). Cuando se estudia el bienestar animal, el conocer las diferencias individuales en un grupo social es de gran valor como una ayuda para el entendimiento de la manera en que los animales intentan adaptarse al ambiente (Broom and Johnson, 1993). Bajo el mismo ambiente físico y social algunos individuos son más exitosos que otros en lograr el control de los factores ambientales (Galindo, 1994). Las diferencias en las estrategias de comportamiento pueden relacionarse con los estados fisiológicos de los animales (Bohus *et al.*, 1987) y con la susceptibilidad a las enfermedades (Hart, 1990), en un estudio de Mendl *et al.*, (1992) se muestra la correlación entre las estrategias de comportamiento y la actividad adrenal en cerdas preñadas, sugiriendo los autores que en términos de consecuencia para los estados fisiológicos y de salud, las estrategias que los individuos tienen en respuesta al ambiente social son probablemente más importantes que el estado o rango social que el animal ocupa.

Objetivo

Identificar las diferencias individuales en el comportamiento de los delfines en los distintos tipos de ambientes físicos y sociales, y relacionarlos con la concentración de cortisol salival de los mismos individuos.

Materiales y Métodos.

Los datos obtenidos con las observaciones ya descritas en los estudios 1 y 2, se analizaron entre sí por medio del análisis de factores por componentes principales, que es un análisis multivariado usado para resumir y analizar las interacciones entre grandes cantidades de variables y explicar estas variables en términos de entendimiento común (factor). Se analizaron las variables sociales e individuales de los animales, con características comunes de comportamiento, en relación a los individuos involucrados en los tipos de interacciones que fueron identificadas. Se utilizó un Análisis de Kaiser para crear los factores de acuerdo a la varianza común de las variables. También se utilizó la prueba de Bartlett de esfericidad, usado para la elección correcta de las variables. Esta prueba estadística hipotetiza que la matriz original de correlación obtenida de las variables, son independientes. El rechazo de la hipótesis es una indicación de que los datos son apropiados para el análisis de factor.

Cumpliendo ese criterio se seleccionaron 8 comportamientos o variables:

Bc: Buceo: El animal nada en diferentes dirección bajo el agua.

BcGr: Buceo Grupal: Los animales nadan en diferentes direcciones bajo en agua, en grupos.

BcSr Buceo Sincronizado: Al menos dos animales nadan sincronizando sus movimientos, incluso su frecuencia respiratoria.

Bcc: Buceo en Círculos Cerrados: El animal nada con un patrón en círculos, sin un objetivo aparente y desconectado del medio, en contra del sentido de las manecillas del reloj

BcRj Buceo en círculos a favor de las manecillas del reloj: El animal nada con un patrón en círculos, sin un objetivo aparente y desconectado del medio, a favor del sentido de las manecillas del reloj

Fv: Flotación vertical: El animal se queda estático o con movimientos muy lentos, en una posición vertical con respecto a la superficie del agua.

Fh: Flotación Horizontal: El animal flota o se mueve muy lentamente, en una posición horizontal con respecto a la superficie del agua.

Ns: Nado superficial: El animal nada con al menos una parte de su cuerpo fuera de la superficie del agua.

El análisis de Factor tiene diferentes etapas, de las cuales la primera es la determinación de cuales de las variables seleccionadas fueron las adecuadas para el método, identificando la independencia entre las variables. El segundo paso es la extracción del factor, usando el método de análisis de imagen de Kaiser.

Además de los factores propiamente dichos, el análisis de factores produce puntajes para cada factor. Estas son mediciones compuestas de cada factor representado en cada sujeto (delfín). El puntaje del factor representa el grado por el cual cada uno de los puntajes altos en las variables carga a un factor. Así, un individuo con altos puntajes para una variable tendrá alta carga para un factor, y obtendrá un puntaje del factor alto para ese factor. El puntaje del factor, por lo tanto, muestra el grado por el cual un individuo posee una característica particular representada por el factor.

Se utilizó una Correlación de Spearman, para ver si existe alguna relación entre los puntajes de los factores de cada delfín y las mediciones de cortisol salival, durante el periodo de estudio.

Resultados

Se utilizaron dos factores, que fueron obtenidos por medio del análisis de Kaiser, los que fueron posteriormente utilizados para análisis subsecuentes.

Factor 1

El factor uno fue representado por dos de las ocho variables que se utilizaron (cuadro n°4.1); Estas variables fueron negativamente significativas, vale decir que las cargas de esas variables se alejan del factor, en este caso fueron Buceo en Círculos Cerrados y Flotación Horizontal. Cada una de estas variables tuvo una carga negativa significativamente alta en el factor (Carga $> \pm 0.5$). Por el tipo de comportamiento a las que estas variables se alejan (Nado en círculos y flotación horizontal) se puede identificar al factor como “Nados continuo y lineal”.

Factor 2

Este factor fue representado por 3 de las 8 variables utilizadas (cuadro n° 4.1); las variables que obtuvieron una carga negativa significativamente mayor ($> \pm 0.5$) fueron, Buceo, Buceo Grupal y Buceo Sincronizado. Por ser una carga negativa, la característica del factor se aleja de los comportamientos que lo representan vale decir que no nadan de manera continua, por lo que este factor se identifico como “Nado no lineal o intermitente”.

Cuadro n° 4.1 Factores obtenidos después del análisis, y los coeficientes de los puntajes de los factores para cada variable

	factor 1	factor 2
Buceo lineal	0.130	-0.870
Buceo Grupal	0.033	-0.862
Buceo Sincronizado	-0.418	-0.596
Buceo en Círculos cerrados	-0.685	0.324
Buceo a favor del reloj	-0.412 0.478	
Flotación vertical	-0.429 0.238	
Flotación horizontal	-0.871	0.026
Nado superficial	0.450 0.186	

Los puntajes de los factores que están en negritas indican que las variables tuvieron una carga significativa en el factor (carga significativa $\Rightarrow \pm 0.5$)

Una vez calculados los puntajes de cada factor para las variables, se calcularon los puntajes de los factores para cada individuo (cuadro n°4.2). Esto indicó que existe una diferencia individual de las respuestas de los delfines frente a estos dos factores, y que además se puede expresar una diferencia de los individuos entre los diferentes tipos de instalaciones en que habitan, lo que se ve en las altas cargas numéricas de los factores de la población de las instalaciones abiertas, en el factor uno, lo que indica que se acerca más a lo que representa este factor; en comparación con la población de las instalaciones cerradas que presenta cargas negativas significativamente altas, que indican que los individuos se alejan de lo que significa el factor uno. Se realizó una prueba de Mann-Whitney entre las cargas individuales en los dos tipos de instalaciones para el factor 1, indicando una diferencia significativa entre ellas ($U=9.000$; $P=0.0008$). En el caso del factor dos no existió diferencia significativa entre las poblaciones ($P>0.05$).

Cuadro n° 4.2 Valores individuales para cada factor y concentración de cortisol salival de cada individuo (nmol/Lt)

Tipo de delfinario	ID de cada Delfín	factor 1 Nado en círculo y estacionario	factor 2 Nado lineal continuo	Concentración de cortisol salival nmol/L
Abierto	1	0.476	-3.943	0.415
Abierto	2	2.063	0.247	0.369
Abierto	3	1.081	0.508	0.285
Abierto	4	0.402	0.925	0.267
Abierto	5	1.229	1.008	0.104
Abierto	6	0.821	0.482	0.092
Abierto	7	1.003	-0.163	0.093
Abierto	8	0.861	0.699	0.089
Abierto	9	0.387	-0.556	0.080
Abierto	10	0.165	0.133	0.073
Abierto	11	0.216	-0.473	0.074
Abierto	12	0.805	-0.154	0.084
Abierto	13	0.422	0.403	0.093
Abierto	14	-1.648	1.074	0.078
Cerrado	15	-0.505	-0.097	0.621
Cerrado	16	-0.898	-0.039	2.180
Cerrado	17	-1.001	0.563	0.867
Cerrado	18	-0.721	-0.035	0.447

Cerrado	19	-0.825	0.541	0.808
Cerrado	20	-1.045	-0.171	0.484
Cerrado	21	-1.044	-0.971	0.687
Cerrado	22	-1.634	-0.109	0.624
Cerrado	23	-0.612	0.127	0.170

Puntaje individual del factor= la suma de: (puntaje de individual del delfin, multiplicado por la carga de la variable/ valor propio del factor)

También se realizó una Correlación de Spearman entre los valores individuales de los factores y la concentración de cortisol salival, encontrándose una correlación negativa altamente significativa entre el factor 1 y la actividad adrenocortical expresada en cortisol salival ($R_s = -0.921$; $P < 0.0001$), lo que indica una relación inversa con las cargas del factor 1.

Discusión

Desde los años setentas se han realizado estudios de las diferencias individuales dentro de la misma especie, basándose en el estrés y la teoría de la adaptación que sugiere que los individuos varían en sus respuestas fisiológicas y de comportamiento frente a los cambios de situaciones (Maynard Smith, 1976; Henry and Stephens, 1977; Benus, *et al*, 1991; Jensen, 1994).

El análisis de factor es se ha utilizado para identificar variaciones o diferencias individuales entre animales (Stevenson-Hinde, 1980; Lyons, 1989; citados por Galindo, 1994), muchos de estos estudios se han llevado a cabo en cerdos (Lawrence, *et al.*, 1991; Terlouw, *et al.*, 1991a, 1991b; Mendl, *et al.*, 1992; Hensing, *et al.*, 1993) y en vacas (Manteca and Deag, 1993a; Galindo, 1994; Galindo and Broom, 2000). Los factores han permitido una interpretación más real de las características individuales del comportamiento animal, ya que evitan la categorización arbitraria de los datos por suposiciones de las personas (Jensen, 1994). Esto también entrega datos más significativos del comportamiento social de los animales que una simple clasificación de los individuos como dominante o

subordinado, de los individuos, basado en las interacciones de competencia (Stevenson-Hinde, 1980).

El primer factor seleccionado involucró las variables de comportamientos descritos por otros autores como comportamientos aberrantes o incluso estereotipados: Nado en Círculos y Flotación Horizontal (Mason, 1991; Gyax, 1993). Al ser negativa la carga del factor hacia las variables, los animales que presentaron una alta carga individual a este, se alejan de esos comportamientos aberrantes. En este caso los animales de las instalaciones abiertas presentaron altas cargas positivas para ese factor, en cambio los animales de las poblaciones de las instalaciones cerradas, presentaron cargas negativas para el mismo factor, lo que indicó que estos animales se alejan de lo que el factor representa, vale decir que se acercan a las variables de las que el factor se aleja, vale decir, los animales de las instalaciones cerradas se acercan más a los nados en círculos y flotación horizontal. Además las cargas de ambas poblaciones fueron significativamente diferentes entre sí, para el mismo factor, lo que coincidió con lo encontrado en el estudio 1.

El segundo factor estuvo compuesto por comportamientos de nado en diferentes direcciones, sin un patrón determinado, y con animales solitarios o en grupo, y de igual manera que el factor uno, sus cargas para las variables fueron negativas, por lo que se alejan de las características que lo identifican, en este caso las cargas de los animales para este factor, fueron mayormente negativas para los animales de las instalaciones cerradas, y las positivas en su mayoría para los animales de las instalaciones abiertas, aunque no existía diferencia estadísticamente significativa, que diferenciara ambas poblaciones.

Estos resultados son semejante al estudio 1 de esta investigación, y permite comprobar que los animales de áreas más restringidas en ambientes artificiales y con una pobre estimulación ambiental, presentan comportamientos, que tienden a ser repetitivos y/o estacionario, lo que coincide con lo reportado por Bassos y

Wells (1996), quienes encontraron que los comportamientos más comunes en albercas, en dos delfines que ellos estudiaron, fueron nadar en círculo en contra de las manecillas del reloj, y flotación o comportamientos sin movimiento. Esta diferencia se puede considerar como una forma de adaptación al cautiverio de acuerdo a la forma y tamaño de las albercas. Las albercas, lo que podrían influir en el tipo e intensidad de los giros (Sobel et al, 1994). También puede influir la ambientación de los encierros, ya que las albercas cerradas, no tienen ninguna estimulación ambiental natural, a diferencia de los encierros naturales.

La correlación entre los valores individuales de los factores con las concentraciones de cortisol salival de los mismos, demostró la relación negativa entre el factor 1 (Nado lineal y continuo) con las concentraciones de la hormona, observándose que a mayores cargas para este factor, menor es la concentración salival de cortisol y viceversa, lo que vuelve a concordar con los resultados anteriormente obtenidos, donde los animales de los delfinarios de instalaciones cerradas y de pobre estimulación, presentaron mayores concentraciones de cortisol salival. Este mismo efecto se ha observado en *Elaphurus davidianus* que fueron cambiados de ambientes desde un encierro abierto natural a corrales muy pequeños y estabulados, modificando su comportamiento hacia agresiones y tiempo sin descanso, lo que coincidió con aumentos en la concentración de cortisol fecal con respecto al encierro anterior (Chunwang et al., 2007).

En este estudio se muestran las individualidades de las respuestas de los animales frente a los diferentes ambientes físicos y sociales; con las cargas individuales de los factores se observó, que cada animal intenta adaptarse al ambiente de diferentes maneras, desde variaciones de comportamiento hasta mecanismos adaptativos fisiológicos, producto de numerosas factores individuales (características genéticas, experiencias pasadas, estado de salud, etc). El entendimiento de esto contribuirá a definir caracteres o temperamentos individuales y, además, será de gran ayuda para solucionar muchos problemas de bienestar animal (Manteca and Deag, 1993a).

Muchas más investigaciones son necesarias en función de entender los aspectos funcionales que controlan las bases del desarrollo de esta variación individual (Mendl, *et al.*, 1992; Crockem, 2005).

DISCUSIÓN GENERAL

Bienestar, comportamiento y actividad adrenal

Para la evaluación del bienestar animal se ha propuesto el uso de diversos indicadores que permitan hacer mediciones objetivas del nivel en el que se encuentra un animal, para poder identificar aquellas condiciones que tienen un impacto negativo. Su aplicación en diferentes circunstancias y el grado de sensibilidad que cada uno de ellos tiene para diversos estímulos aún está evaluándose; pero además es importante reconocer que el bienestar animal es un estado dinámico que puede aumentar o disminuir por efecto de una infinidad de condiciones (Broom y Johnson, 1993, Dantzer, 1994).

El comportamiento es uno de los indicadores propuestos para medir el nivel de bienestar ya que se considera que los animales pueden responder a ciertas circunstancias modificando su comportamiento. Esto generalmente ocurre cuando las condiciones de cautiverio son menos complejas que las silvestres, cuando el animal no tiene control sobre ellas, o cuando tiene una alta motivación para presentar ciertas conductas, pero no tiene la posibilidad de satisfacerlas biológicamente, por estar en ambiente inapropiado (Dantzer 1986; Broom, 1988; Carlstead, 1996; Hughes y Duncan, 1988; Mason, 1991, Houpt 1991).

En vida libre los delfines exhiben una gama de comportamientos, que en cautiverio no podrían desarrollar (e.g. captura de alimento), ya que el comportamiento de cualquier especie silvestre es el resultado de muchas generaciones de selección natural y adaptaciones ambientales específicas, y la capacidad de una especie para responder con conductas de su repertorio natural depende de una compleja interacción de factores del desarrollo, experiencia y herencia (Carlstead, 1996). Durante este proceso la mayoría de los animales se enfrentan a diversos factores que modulan las habilidades cognitivas de cada especie (Mendl, 1999; Duncan and Petherick, 1991). En cautiverio estas habilidades les permiten adaptarse a las

condiciones que se enfrentan, dependiendo de los factores genéticos, experiencias vividas y grado de semejanza del albergue con su entorno natural (Carlstead, 1996). En el caso de los delphinidos por muy grande que sea el encierro en que habitan, nunca será lo suficiente para que ellos puedan exhibir los comportamientos propios de la especie (Miguel, 2004). En estos estudios se logró comparar las pautas de comportamientos sociales e individuales, de delfines albergados en instalaciones naturales o como algunos clasifican, en Semi-Cautiverio, con animales albergados en piscinas o ambientes estériles, durante dos periodos de 24 horas continuas. Los resultados indican diferencias significativas entre las poblaciones, especialmente en el tipo de nado o patrón de nado de acuerdo a la complejidad de los ambientes de cada lugar, así los animales que habitan albercas cerradas, utilizan una mayor proporción de su tiempo total en nadar en círculos cerrados, a diferencia de los animales de los albergues más complejos, los que nadan en diferentes direcciones sin un patrón aparente, de manera individual o en parejas; este patrón de nado en círculos cerrados sin un sentido aparente, de manera continua y desconectados del medio, algunos autores lo han descrito como un comportamiento estereotipado, aunque también se le asocia a un patrón de nado con la función de recorrer mayores distancias de manera más fluida y más rápidas (Gygax 1993; Mason 1991). Esta diferencia significativa también se encontró en los comportamientos de descanso o de flotación horizontal y flotación vertical, de manera independiente en cada uno; ya que los animales de las instalaciones cerradas dedican una mayor proporción de su tiempo en comportamientos de descanso o sin movimientos. Sin embargo, algunos autores consideran que la interpretación de la presencia de estereotipias o comportamientos aberrantes a sus pautas de comportamientos naturales, como un indicador de nivel bajo de bienestar no está justificada. Barnett y Hemsworth (1990) argumentan que debido a que las estereotipias están asociadas con aparentes cambios fisiológicos adaptativos “la realización de estas conductas puede ser un mecanismo que le ayude al animal a adaptarse exitosamente al conflicto o amenaza”. En este contexto, el término exitoso se refiere a aquellos aspectos del bienestar animal que están relacionados con la supervivencia física

del individuo. Así mismo, Wiepkema (1987) interpreta el desarrollo de estas conductas como una forma de "hábito" que es inducido por el alto grado de predicción de los ambientes simples, concibiendo a la estereotipia como un equivalente funcional de las formas normales de control conductual y que su presencia puede deberse a un mecanismo que le ayuda al animal a manejar los cambios ambientales. De igual manera, Mason (1991) sugiere que conforme una estereotipia se establece en un animal, ésta va perdiendo la sensibilidad con la que refleja los estados asociados con un nivel reducido de bienestar y que las consecuencias negativas de este tipo de conductas han podido ser demostrado en muy pocos casos (Barnett y Hemsworth 1990).

Cada individuo se adapta a las condiciones del cautiverio de manera distinta, pero los ambientes físicos y sociales son los que moldean las características de esa adaptación, de tal manera que el comportamiento y el mecanismo de adaptación son el resultado de numerosos factores individuales (e.g. características genéticas, estado de salud, etc.), considerando la imposibilidad de replicar el ambiente natural de una animal de manera artificial, este factor pasa a jugar un papel fundamental en el bienestar de los animales, así, Terlouw *et al.*, (1991) demostraron que con la restricción del descanso y alimentación restringida en cerdos, se crean situaciones típicas del cautiverio, que muchas veces toman el control del individuo creando una barrera, en los animales que habitan en ambientes cerrados y monótonos, tiene serios efectos directos sobre el bienestar de los mismos. El patrón de actividad de una especie es considerado como una adaptación a los estímulos del ambiente y es un elemento importante para entender el comportamiento (Beltrán y Delibes, 1994). Si se pudieran identificar los límites de cambios (porcentaje de modificación del tiempo total) que se pueden hacer sobre cada actividad sin afectar el bienestar del animal, las modificaciones en los patrones de actividad contribuirían para tener éxito en el manejo en cautiverio de estas especies (Kleiman 1994a). De igual manera, la identificación de estos límites permitiría establecer que los esfuerzos que van más allá para modificarlos cuando los animales son mantenidos en cautiverio podrían ser no

solo inútiles, sino contrarios a lo natural (Mellen, 1989). Muchos estudios revelan que los animales silvestres desarrollan diferentes patrones de comportamiento cuando son transferidos a encierros restringidos, especialmente cuando son ambientes estériles o muy diferentes a su hábitat natural (Martin and Bateson, 1993; Carlstead, 1996). Similares resultados a los obtenidos acá, han sido reportados para otras especies (*Macaca nemestrina*, Crockett *et al.*, 2000; *Diceros bicornis*, Carlstead, *et al.*, 1996; carnívoros silvestres, Clubb and Mason, 2003; ungulados, Del Thompson, 1989).

Las actividades involucradas en el juego tienen una importancia particular en el bienestar de los animales, en especial en los delfines en cautiverio (Galhardo *et al.*, 1996). Jugar es una importante condición para el bienestar, puede incluso constituir una prioridad cuando un animal no necesita esforzarse por sobrevivir, como ocurre en cautiverio (Wemelsfelder, 1993). En este estudio no se consideró la pauta de comportamiento del juego, como una variable, pero al realizar las observaciones en campo, se pudo constatar que el Nado Superficial, era la mayoría de las veces para interactuar con las olas que se formaban, por lo que este comportamiento se incrementaba en los días de mucho viento, también se observó un incremento de la presentación de este comportamiento los días de lluvia, donde los animales nadaban en la superficie, jugando con la lluvia y las olas que se formaban producto del mal tiempo que había en ese momento. Esto conlleva que la diferencia estadísticamente significativa de esta variable, entre las instalaciones abiertas versus las cerradas, nos pueda indicar que los animales que habitan instalaciones abiertas juegan más que los que habitan instalaciones cerradas, algo que otros autores han reportado como comportamientos a los que los delfines cautivos le dedican gran cantidad del tiempo total (McBride and Kritzler, 1951; Caldwell and Caldwell, 1972). El juego es considerado como un comportamiento de lujo en el repertorio de los animales (O'Grady, 1994) y llega a ser considerado un indicador de bienestar de los animales (Fagen and Fagen, 1990).

Las diferencias estadísticamente significativas en el comportamiento y la actividad adrenal de las poblaciones estudiadas, se pueden atribuir a las interacciones con el medio natural, en las que habitan los animales del delfinario C y D, ya que los mamíferos reaccionan a los ambientes cautivos modulando su comportamiento como respuesta a la actividad adrenocortical (Carslthead, 1996; Wells *et al.*, 2004; Cockrem, 2005; Carslthead and Brown, 2005). La activación del eje Hipotálamo-Hipofisis-Adrenal (HHA) se considera asociada al estrés fisiológico (Sapolsky, 1992; DeVries, 2002). Estos resultados sugieren que los delfines mantenidos en las instalaciones cerradas mantienen más activo el eje HHA en comparación con los que habitan en instalaciones abiertas o más naturales. Incrementos del cortisol influyen sobre el comportamiento y funciones fisiológicas en los mamíferos (Wingfield and Romero, 1999; Möstl and Palme, 2002). Aún cuando los niveles de corticosteroides han sido ampliamente utilizados para medir el nivel de bienestar (Dantzer y Mormede 1983), la interpretación de los resultados siempre han sido cuestionados (Rushen 1991, Mason y Mendl 1993, Dantzer 1994) ya que existen diversas condiciones que pueden provocar cambios (Manteca 1998). Rushen (1991) considera que es poco apropiado interpretar los resultados de un experimento en términos de bienestar animal cuando no conocemos cual es el nivel de corticosteroides que lleva a problemas inmunológicos o reproductivos, y también desconocemos si el promedio del nivel diario de estos esteroides o algunos aspectos de los pulsos de secreción son más importantes para las consecuencias metabólicas, inmunes o reproductivas. Tampoco conocemos cuales otros mecanismos fisiológicos pueden estar mediando el efecto del estrés sobre la función inmunológica o reproductiva, ni cómo afecta esto a largo plazo sobre el funcionamiento del eje HHA. Sólo en el trabajo de Barnett y Hemsworth (1990) se ha sugerido que los efectos nocivos se presentan cuando ocurre un aumento de corticosteroides mayor al 40% del nivel basal pero incluso esto puede variar dependiendo del tipo de estímulo y cómo es percibido por cada uno de los animales.

Antes de asumir que una medición elevada de corticosteroides puede ser usada como medición de estrés, es necesario establecer que este cambio se relaciona con un significativo en el nivel de bienestar del animal. Con base en lo anterior, los resultados de esta comparación tendrán que corroborarse utilizando algunos otros indicadores de bienestar (Moberg, 1987; Barnett y Hemsworth, 1990; Clark *et al.*, 1997). No es posible asegurar que los animales en ambientes cerrados tienen un nivel menor de bienestar que aquellos de ambientes abiertos, pero la comparación de todas las poblaciones indican que si existen una menor actividad adrenal en las poblaciones que habitan en ambientes más naturales, en los de ambientes cerrados.

La relación entre comportamiento y el estrés en los ambientes cautivos es una medida importante que refleja la influencia del estrés sobre los animales (Lindburg and Fitch-Snyder, 1994; Carlstead, 1996). Sin duda, el tipo de ambiente y la densidad de los animales, son dos de los factores más importantes que actúan sobre las elevaciones de las concentraciones de las hormonas adrenocorticales, las que influyen sobre las respuestas de comportamientos, baja probabilidad de sobrevivencia, y disminuye la capacidad de reproducción en los animales en cautiverio (Koontz and Roush, 1996; Cassinello and Pieters, 2000; Crockett *et al.*, 2000; Clubb and Mason, 2003; Wells *et al.*, 2004; Weingrill *et al.*, 2004; Carlstead and Brown, 2005). Además los cambios en la secreción de cortisol adrenocortical refleja las reacciones del animal al estrés del cautiverio (Möstl and Palme, 2002).

Diferencias Individuales

En los inicios del desarrollo de la etología se consideraba que todos los miembros de una especie se comportarían de la misma manera, con algunas diferencias de acuerdo a su edad y sexo. En la actualidad se considera que la mayoría de las diferencias que se observan entre individuos tienen un significado adaptativo, y la identificación de formas alternativas o estrategias alternativas es cada vez más común (Jensen, 1994). En los estudios con animales domésticos se ha evaluado

el efecto de estas diferencias sobre la producción o el nivel de bienestar (Broom 1998, Manteca 1994); pero las variaciones individuales han recibido poca atención en el área de la conservación de los animales de zoológico (Gold y Maple, 1994; Wielebnowsky, 1999).

Existen diversas causas para explicar las variaciones individuales, entre las que destacan efectos genéticos, el papel de la madre, las experiencias tempranas y los eventos negativos (Manteca, 1991). En consecuencia, esto podría reflejarse sobre la forma en que cada individuo enfrenta los estímulos del ambiente e incluso, las manipulaciones realizadas en el enriquecimiento ambiental. Los resultados del análisis de factores de este estudio (Estudio 4), arrojaron la existencia de variaciones individuales entre los individuos de cada población, y que a su vez corroboraban los resultados obtenidos con las observaciones y las diferencias estadísticas del estudio 1, en lo referido a las diferencias en las pautas de comportamiento, especialmente en la población del delfinario B, y frente al factor más representativo de los nados o comportamientos aberrantes, descritos por otros autores (Mason, 1991; Gygas, 1993). Los estudios de bienestar animal medidos solamente por las pautas de comportamientos, no permitirían o no tendrían un peso importante en sus resultados si no fueran corroborados con alguna variable fisiológica. Por esto, los perfiles adrenocorticales y su relación con el comportamiento deben ser evaluados considerando las diferencias entre individuos para poder cuantificar el impacto real de las diferencias en los ambientes físicos y sociales de los animales mantenidos en cautiverio. Al correlacionar los puntajes individuales de los factores de las variables de comportamiento con la actividad adrenal se encontró una correlación negativa con el factor de mayor carga, lo que permite considerar que los animales de las poblaciones de ambientes cerrados o estériles presentan un grado menor de bienestar que los animales que habitan ambientes más naturales, que los primeros tienden a acercarse a las variables de nados considerados aberrantes o estereotipados. Finalmente, el comportamiento de los animales mantenidos en ambientes empobrecidos muestra cierto grado de fijación, incluyendo las

estereotipias, lo que hace el retorno a la flexibilidad conductual muy difícil, si no es que imposible (Mason 1991, Wemelsfelder, 1993).

Desde un punto de vista del bienestar animal, la composición del grupo social es muy importante, muchos de los patrones de comportamiento social se desarrollan por estas complejas relaciones entre los individuos de las poblaciones, las que llegan a ser realmente relevantes para la integridad del individuo (Galhardo *et al.*, 1996). Los resultados obtenidos nos indican que la estabilidad social está relacionada directamente con la cantidad de comportamientos agresivos o agonistas que se presentan. Esto también se ha visto en otras especies, en especial en animales domésticos, donde se ha estudiado sobre los efectos de esto sobre su producción. La inestabilidad en los grupos puede afectar los niveles de estrés de los animales, y al igual que los resultados obtenidos, se reflejó en altos niveles de agresiones (Andersen *et al.*, 1999; Boe *et al.*, 2006; Joergensen *et al.*, 2006; Andersen *et al.*, 2008), y el factor común de los estudios realizados que produce este tipo de aumentos en la tasa de agresiones, fue encontrado en la temporalidad de los grupos, producto de los cambios estructurales de los animales hechos por el hombre, al mover individuos de un grupo a otro, provocando la necesidad de la creación de nuevos lazos sociales y nuevas jerarquías, en cada movimiento (Grandquist *et al.*, 2008).

Sugerencias de investigaciones futuras

Falta mucho por conocer acerca de las formas en la que los animales se enfrentan a las condiciones adversas en el ambiente social y físico; todos los animales intentan adaptarse al ambiente de diferentes maneras, aún cuando cada individuo tiene a su disposición el mismo repertorio de respuestas biológicas para manejar los estímulos del ambiente, cada uno puede utilizar un tipo distinto, que depende de diferentes factores individuales como la experiencia previa, genética, edad o estado fisiológico o de salud (Rushen, 1991; Manteca and Deag, 1993a). El

entendimiento de esto contribuirá a definir los temperamentos individuales, siendo una herramienta de gran ayuda para solucionar muchos problemas de bienestar.

Algo importante a considerar en el futuro de las investigaciones sobre bienestar es la búsqueda del nivel de cambio que pone en riesgo el bienestar de los animales. Aunque la respuesta esté más relacionada con la individualidad más que algo relacionado por las especies. Y esto debe ser tomado en cuenta antes de que se presenten estados patológicos o pre-patológicos, que ya reflejen el bajo nivel de bienestar de las poblaciones. Lo importante sería poder identificar las condiciones que tienen un impacto negativo antes de que lleguen a provocar estrés crónico en el animal y amenazan el bienestar del mismo. La identificación oportuna de los estados pre-patológicos representa todavía un reto, particularmente en fauna silvestre (Moberg, 1987; Barnett y Hemsworth, 1990; Rushen, 1991; Manteca, 1998). Si las altas tasas de mortalidad o incidencias de enfermedades pueden indicar claramente un pobre nivel de bienestar, la ausencia de estos no necesariamente indica que los animales están en las condiciones más favorables. Existen un sin fin de situaciones sutiles que pueden causar pobres niveles de bienestar sin llegar a provocar un estado de enfermedad (e.g. aburrimiento, presiones sociales, preferencias por algún tipo de alimento, etc.). Estos factores pueden ser observados y mejorados con anticipación a los problemas de salud o bienestar, si es que se realizan observaciones continuas de los comportamientos diarios de los animales, ya que se logra a tener un diagnóstico continuo de las adaptaciones de los individuos a su ambiente.

Para la propagación de los animales en cautiverio, es importante el entendimiento de los efectos del cautiverio en el comportamiento y los mecanismos endocrinos.

LITERATURA CITADA

1. Algers, B. Nursing in pigs: communicating needs and distributing resources. *Journal of Animal Science* 1993. 71, 2826–283
2. Andersen, I.L., Boe, K., and Kristiansen A.L. 1999. The influence of different feeding arrangements and food type on competitions at feeding in pregnant swos. *Applied Animal Behaviopur Science* 65; 91 – 104. 1999
3. Andersen, I. L., Roussel, S., Ropstad, E., Braastad, B. O., Steinheim., G., Janczak, AM., Joergensen, GM., Boe, KE. Social instability increases aggression in groups of diary goats, but with minor consequences for the goats' growth, kid production and development. *Applied Animal Behaviour Science* 2008. 114 (1-2): 132-148
4. Asa C et al., Assisted Reproductive technology: A practical look at the methods and their potential applications to captive breeding programs. Saint Louis Zoo, Department of animal science, Purdue University. 2000.
5. Asper, E. D., D. A. Duffield, N. Demeo-Ediger and E. D. Shell 1990 Marine mammals in zoos, aquaria and marine zoological parks in North America: 1985 census report. *International Zoo Yearbook* 29:179-187.
6. Bakken, M., Moe, R., Smith, A. Radiotelemetry; a method of evaluation stress and learning abilities in the silver fox (*Vulpes vulpes*). In: *Proceedings, ISAE, Third Joint Meeting*. 1993. 591–594.
7. Baker AJ, Bales KL, Dietz JM. Mating system and group dynamics in lion tamarins. In: Kleiman DG and Rylands AB, editors. *Lion Tamarins: Biology and Conservation*. Washington, D.C.: Smithsonian Institution Press. 2002. pp 188-212.
8. Balm PHM. Stress Physiology in Animals. In: Usherwood PNR, Roberts JA, editors. *Sheffield Biological Science*. Sheffield Academic Press: CRC Press. 1991.
9. Barnett JL and Hemsworth PH. The validity of physiological and behavioural measures of animal welfare. *Appl Anim Behav Sci* 1990; 25:177-187.
10. Bassos MK, Wells RS. Effect of pool features on the behavior of two bottlenose dolphins. *Marine Mammal Science* 1996; 12: 321-324.
11. Beltran J, Delibes M. Environmental determinants of circadian activity of free ranging Iberian lynxes. *J Mamal* 1994; 75, 382-393.
12. Benus RF, Bohus B, Koolhaas JM, van Oortmerssen GA. Heritable variation in aggression as a reflection of individual coping strategies. *Experientia* 1991. 47:1008-1019.
13. Berridge C.W., Dunn A.J. Restranint-stress-induced changes in exploratory behaviour appear to be mediated by norepinephrinestimulated release of CRF. *Journal of Neurocience* 1989; 9: 3513-3521.
14. Bibbo M. and Wied, GL. Hormonal cytology. In: Bibbo M, ed. *Comprehensive Cytopathology*. Philadelphia, Pa: WB Saunders; 1991:85–114.
15. Boe, KE., Berg, S., Andersen, IL: Resting behaviour and displacements in ewes-effects of reducing lying space. *Applied Animal Behaviour Science* 2006. 98; 249 – 259.
16. Bohus, B., Benus, R.F., Fokkema, D.S., Koolhaas, J.M., Nyakas, C., Van Oortmerssen, G.A., Prins, A.J.A., De Ruiter, A.J.H., Scheurink, A.W., Steffens,

- A.B. Neuroendocrine states and behavioral and physiological stress responses. *Progress in Brain Research* 1987. 72: 57-70.
17. Brook, F. M. The use of diagnostic ultrasound in assessment of the reproductive status of the bottlenose dolphin, *Tursiops truncatus aduncus*, in captivity and applications in management of a controlled breeding programme. Ph.D. dissertation, The Hong Kong Polytechnic University, Hong Kong. 1997.
 18. Brook FM, Kinoshita R, Brown B, Metreweli C. Ultrasonographic imaging of the testis and epididymis of the bottlenose dolphin, *Tursiops truncatus aduncus*. *J Reprod Fertil* 2000; 119:233-24
 19. Brook FM. Ultrasonographic imaging of the reproductive organs of the female bottlenose dolphin, *Tursiops truncatus aduncus*. *Reproduction* 2001; 121: 419-428.
 20. Broom DM. The scientific assessment of animal welfare. *Appl Anim Behav Sci* 1988; 20:5-19.
 21. Broom DM and Johnson KG. *Stress and animal welfare*. Grate Britain, Chapman & Hall, 1993.
 22. Brown JL. *Helping and comunal breeding in birds: Ecology and evolution*. Princeton University Press. 1987
 23. Brown JL, Wasser SK, Wild DE, Graham LH. Comparative Aspects of Steroid Hormone Metabolism and Ovarian Activity In Felids Measured Non invasively In Feces. *Biol Reprod* 1994; 51: 776-786.
 24. Brownie AC. The metabolism of adrenal cortical steroids. In: *The adrenal gland*. Raven Press LTD 1992. pp 209-224.
 25. Caldwell, M. C. and Caldwell, D. K. *The world of the bottlenose dolphin*. J.B. Lippincott Co. Philadelphia, 1972.
 26. Caldwell, D. K. & Caldwell, M. C. Cetaceans. In T. A. Sebeok (Eds.), *How Animals Communicate*. Bloomington: Indiana University Press. 1977. 794-808
 27. Carlstead K, Seidensticker J. Seasonal variation in stereotypic pacing in black bear (*Ursus americanus*). *Behavioural Processes* 1991a; 25: 155- 161.
 28. Carlstead K. Husbandry of the Fennec fox, *Fennecus zerda*: Environmental conditions influencing stereotypic behaviour. *International zoo Yearbook* 1991b; 30: 202-207.
 29. Carlstead K, Brown JL, Seidendticker J. Behavioral and adrenocortical response to environmental changes in leopard cat (*Felis bengalensis*). *Zoo Biology* 1993; 12; 321- 331.
 30. Carstead K. Effects of captivity on behavior of wild mammals. In Kleinman DG, Allen ME, Thompson KV, Lumpkin S, editors. *Wild mammals in captivity*. Chicago Press 1996; 317 – 333.
 31. Carlstead K. Determining the causes of stereotypic behaviors in zoo carnivores. In: *Second Nature*. (eds) Shepherdson D.J, Mellen J.D, Hutchins M. Smithsonian Institution Press 1998; pp 172-201.
 32. Carlstead, K. and Brown, J.L. Relationships between patterns of fecal corticoid excretion and behavior, reproduction, and environmental factors in captive black (*Diceros bicornis*) and white (*Ceratotherium simum*) rhinoceros. *Zoo Biology*, 2005 24 (2): 215-232.

33. Cassinello J. and Pieters I. Multi-male captive groups of endangered dama gazelle: social rank, aggression, and enclosure effects. *Zoo Biology* 2000. 19: 121-129
34. Chrousos GP, Torpy DJ, Gold PW. Interactions between the hypothalamic - pituitary- adrenal axis and the female reproductive system: Clinical implications. *Ann Intern Med* 1998; 129: 229 - 240.
35. Church D.B, Nicholson A.I, Ilkiw J.E, Emslic D.R. 1994. Effect of nonadrenal illness, anaesthesia and surgery on plasma cortisol concentrations in dogs. *Research in Veterinary Science*. 56: 129-131.
36. Clark JD, Rager DR, Calpin JP. Animal well-being III: Specific assesment criteria. *Laboratory animal Science* 1997; 47: 586-596.
37. Clubb, R., and Mason G. Captivity effects on wide-ranging carnivores. *Nature* 2003. 425 (2):473-474.
38. Cockrem JF. Conservation and behavioral neuroendocrinology. *Horm Behav*. 2005; 48(4):492-501
39. Combs GF. *The Vitamins: Fundamental aspects in nutrition and health*. New York: Academic Press 1992.
40. Connor RC. Group living in whales and dolphins. In: Mann JM, Connor RC, Tyack PL, Whitehead H, editors. *Cetacean societies: field studies of dolphins and whales*. Chicago: University of Chicago Press. 2000. 199–218.
41. Connor, R.C., Smolker R.A., Richards A.F. Two levels of alliance formation among male bottlenose dolphins (*Tursiops* sp.). *Proceedings of the Royal Society of London Biological Sciences, Series B* 1992. 89(3): 987-990.
42. Connor R.C. and Smolker RA. Seasonal changes in the stability of male-male bonds in Indian Ocean bottlenose dolphins (*Tursiops* sp.). *Aquatic Mammals* 1995. 21(3): 213-216.
43. Connor, R. C., Richards, A. F., Smolker, R. A. & Mann, J. Patterns of female attractiveness in Indian Ocean bottle- nose dolphins. *Behaviour* 1996. 133, 37-69.
44. Connor RC, Heithaus MR, Barrre LM. Superalliance of bottlenose dolphins. *Nature* 1999. 397: 571–2.
45. Creel S. Social dominance and stress hormones. *Trends in Ecology and Evolution* 2001; 16(9): 491-497.
46. Crissey SD and Wells R. Serum alfa and gama tocopherols, retinol, retinyl palmitote, and carotenoid concentrations in captive and free-ranging bottlesnose dolphins (*Tursiops truncatus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B* 1999: 124; 391-396.
47. Crocket CM.. Psychological well-being of captive nonhuman primates. In: *Second Nature*. (eds) Shepherdson DJ, Mellen JD, Hutchins M. Smithsonian Institution Press 1998; pp 131-132.
48. Crockett, C. M., Shimoji, M., Bowden, D. M. 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*, 2000. 52, 63-80.
49. Cronin GM, Barnett JL. An association between plasma corticosteroids and performance of stereotype behaviours of tethered sows. In: Barnett JL. et al., *Manipulating Pig Production*. Australian Pig Science Association 1987; pp 26.

50. Dantzer R: Behavioral, physiological and functional aspects of stereotyped behavior: a review and a re-interpretation. *J Anim Sci* 1986; 62:1776-1786.
51. Dantzer R: Animal welfare methodology and criteria. *Rev Sci Tech. off Int Epiz* 1994; 13(1):291-302.
52. Dantzer R. and Mormede P. Stress in farm animals: a need for reevaluation. *J Anim Sci* 1983; 57(1):6-18.
53. Dawkins M. From an animal's point of view: Motivation, fitness, and animal welfare. *Behavioural and Brain Sciences*, 1990. 13: 1-61.
54. De Groot K. Etología y manejo de delfines. *Memorias del curso: Veterinaria En Animales de Zoológico 23-25 de marzo de 2001. Barcelona, España 2001: 4-22.*
55. DeVries AC, Gupta T, Cardillo S, Cho M, Carter CS. Corticotropinreleasing factor induces social preferences in male prairie voles. *Psychoneuroendocrinology* 2002. 27:705–14.
56. Del Thompson, V., Behavioural response of 12 ungulate species in captivity to the presence of humans. *Zoo Biology*, 1989. 8 (3), 275-297.
57. Dierauf LA. *CRC Handbook of marine mammals medicine: health, Disease and Rehabilitation*; CRC Press, USA 1990.
58. Dietz, J.M. Kinship structure and reproductive skew in cooperative breeding primates. In: *Kinship and Behavior in Primates*. B. Chapais and C. Berman (editors). Oxford U. Press, New York. 2004. pp 233-241
59. Drickamer, L.C. and S.H. Vessey. *Animal Behavior: Mechanisms, Ecology and Evolution*. Dubuque, Iowa: W.C. Brown. 3rd edition. 1992.
60. Duffield, D. A. and R. S. Wells 1991 Bottlenose dolphins: Comparison of census data from dolphins in captivity with a wild population. *International Marine Animal Trainers Association 1990 Conference, IMATA Soundings, Spring 1991 pp. 11-15.*
61. Duncan, I. J. H., and Petherick J. C. The implications of cognitive processes for animal welfare. *J. Anim. Sci.* 1991. 69:5017–5022.
62. Fagen, R. and Fagen, J. Play behaviour of brown bears (*Ursus arctos*) and human presence at pack creek, Admiralty Island, Alaska. *International Conference on Bear Research & Management 1990. 8:315-319*
63. Fernández, M. A., Alvarez, L. and Zarco, L.,. Regrouping in lactating goats increases aggression and decreases milk production. *Small Rum. Res.* 2007. 70, 228-232.
64. Fowler, M. E.; *Stress. In Zoo and Wild Animal Medicine 2nd editions*. Fowler ME; editor. WB Saunders Co. Philadelphia, Pennsylvania 1986; 33 – 35.
65. Fox SM, Mellor DJ, Firth EC, Hodge H, Lawoko CRO. Changes in plasma cortisol concentrations before, during and after analgesia, anaesthesia and anaesthesia plus ovariohysterectomy in bitches. *Research an Veterinary Science* 1994; 57: 110-118.
66. Frisch RE. Fatness and fertility. *Scientific American* 1988. 258; 88-95.
67. Gailey-Phipps J and Slade W. Survey on nutrition of penguins. *J Am Vet Med assoc* 1982. 181; 1305-1309.
68. Galhardo L, Appleby MC, Waran NK, Dos Santos ME. Spontaneous activities of captive performing bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *Animal Welfare* 1996; 5: 373-389.

69. Galindo F. The relationships between behaviour and the occurrence of lameness in dairy cows. Thesis for Doctor of Philosophy degree, to the University of Cambridge. October, 1994.
70. Galindo FA, DM Broom. A note on possible link between behaviour and the occurrence of lameness in dairy cows. *Appl Anim Behav Sci* 2000. 67, 335-340.
71. Garnier F, Benoit E, Virat M, Ochoa R, Delatour P. Adrenal cortical response in clinically normal dogs before and after adaptation to a housing environment. *Laboratory Animals* 1990. 24: 40-43.
72. Gold KC. and Maple TL. Personality assessment in the gorilla and its utility as a management tool. *Zoo Biol* 1994; 13:509-522.
73. Götmark F., Winkler, DW. Andersson, M. Flock-feeding on fish schools increase individual success in gulls. *Nature* 1986. 319; 589 – 591.
74. Granquist SM., Sigurjónsdóttir H., Thórhallsdóttir AG. Social structure and interactions within groups of horses containing a stallion .International Equine Science Meeting 2008 University of Regensburg, Germany. 2008
75. Gygax L. Spatial movement patterns and behaviour of two captive bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) absence of stereotyped behaviour or lack of definition?. *Applied Animal Behavior Science* 1993. 38: 337 – 344.
76. Hart BL. Behavioral adaptations to pathogens and parasites: five strategies. *Neuroscience and biobehavioral reviews* 1990. 132; 578-580.
77. Hasegawa, N., Nishiwaki, A., Sugawara, K., Ito I. The effects of social exchange between groups of lactating primiparous heifers on milk production, dominance order, behavior and adrenocortical response. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 1997. 51:15–27.
78. Hennessy MB, Davis HN, Williams MT, Mellott C, Douglas CE. Plasma cortisol levels of dogs at a country animal shelter 1997; 62: 485-490.
79. Henry, J.P. and Stephens, P.M. *Stress, Health and the Social Environment: A Sociobiologic Approach to Medicine*. New York: Springer-Verlag. 1977.
80. Hessing, M.J.C., Hagelsø, A.M., van Beek, J.A.M., Wiepkema, P.R., Schouten, W.G.P., Krukow, R. Individual behavioural characteristics in pigs. *Appl. Anim. Behav. Sci.* , 1993. 37: 285-295.
81. Hodges JK. Determining and manipulating female reproductive parameters. In Kleinman DG, Allen ME, Thompson KV, Lumpkin S, editors. *Wild mammals in captivity*. Chicago Press 1996; 418 – 428.
82. Houp KM. Animal behaviour and animal welfare. *J Am Vet Med Assoc* 1991: 198; 1335-1360.
83. House, J. S., Robbins, C. and Metzner, H. L. The association for social relationships and activities with mortality. *American Journal of Epidemiology*, 1982. 116, 123-140
84. Hughes BO, Duncan IJH. The notion of ethological “need” models of motivation and animal welfare. *Anim Behav* 1988; 36:1696-1707.
85. Hulse GK, Coleman GJ. The role of endogenous opioids in the blockade of the reproduction functions in the rat following exposure to acute stress. *Pharmacol Biochem Behav* 1983; 19: 795 – 799.
86. Jacobs M, Lightman SL. Studies in the opioid control of anterior pituitary hormones. *J Physiol (Lond.)* 1980; 300: 53 – 60.

87. Jensen, P. Fighting between unacquainted pigs - effects of age and of individual reaction pattern. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 1994. 41: 37-52.
88. Johnson EO, Kamilaris TC, Chrousos GP, Gold PW. Mechanisms of stress: a dynamic overview of hormonal and behavioural homeostasis. *Neuroscience and Biobehavioural Reviews* 1992; 16: 115-130.
89. Joergensen, GHM., Andersen IL., Boe, KE. Feed intake and social interactions in diary goats, the effects of feeding space and type of roughage. *Applied Animal Behaviour Science* 2006. 104; 239 – 251.
90. Jurke MH, Czekala NM, Lindburg DG, Millard SE. Fecal corticoid measurement in cheetahs (*Acinonyx jubatus*). *Zoo biology* 1997; 16: 133-147.
91. Kastelein RA et al., Food consumption, food passage time, and body measurements of captive Atlantic bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *Aquatic Mammals* 2003: 29; 53-66.
92. Kastelein RA et al., Food intake and body measurements of Atlantic bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in captivity. *Mar Environ Res* 2002: 53; 199-218.
93. Kelly KW. Stress and immune function: a bibliographic review. *Ann Rech Vét* 1980: 11; 445-478.
94. Kenney RD. Bottlenose dolphin off the northeastern United States. In "The Bottlenose Dolphin" Leatherwood L and Reeves RR, editors Academic Press, INC, San Diego California. 1989.
95. Kirby VL and Ridgway SH: Hormonal evidence for spontaneous ovulation of captive dolphin, *Tursiops truncatus* and *Delphinus delphis*. *Rep Int Whak Comm* 1984 (Special Issue 6): 459-464.
96. Kleiman DG. Animal behavior studies and zoo propagation programs. *Zoo Biol* 1994a; 13:411-412.
97. Knol BW. Stress and the endocrine hypothalamus-pituitary-testis system: a review. *The veterinary Quarterly* 1991; 13(2): 104-114
98. Koontz, F.W. and R. Roush. Communication and social behavior. In *Wild mammals in captivity: Principles and techniques*, eds. D.G. Kleiman, M.E. Allen, K.V. Thompson and S. Lumpkin,. Chicago, IL: University of Chicago Press. 1996. pp 334-343
99. Koolhaas JM and van Oortmerssen GA. Individual differences in disease susceptibility as a possible factor in the population dynamics of rats and mice. *Netherlands Journal of Zoology* 1988: 38; 111-122.
100. Kostal L, Savory CJ, Hughes BO. Diurnal and individual variation in behaviour of restricted-fed broiler breeders. *Applied Animal Behaviour Science* 1992; 32: 361-374.
101. Ladewig J, de Passille AM, Rushen J, Schouten W, Terlow EMC, vonBorell E. Stress and the Physiological Correlates of Stereotypic Behaviour. In: *Stereotypic Animal Behaviour: Fundamentals and Applications to Welfare*. (eds.) Alistair B.L. and Rushen J. CAB INTERNATIONAL 1993; pp 97-118.
102. Ladewig J. Chronic Intermittent Stress: A Model for the Study of Long-Term Stressors. In: *Biology of Animal Stress*. (eds) Moberg G.P, Mench J.A. CAB International 2000; pp 159-186.
103. Lawrence, A.B., Terlouw, E.M.C., Illius, A.W. Individual differences in behavioural responses of pigs exposed to non-social and social challenges. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 1991. 30: 73-86.

104. Le Boeuf, B. J. Male-male competition and reproductive success in elephant seals. *Amer. Zool.* 1974. 14:163-176.
105. Le Boeuf, B.J., Reiter J. Lifetime reproductive success in northern elephant seals. In: *Reproductive success*. Ed. TH. Clutton-Brock, Chicago University Press. 1988.
106. LeVasseur KW. Dolphin captivity Paper. In: *Scientific challenges to current husbandry and management practice at dolphin holding facilities*. 2000.
107. Lehner, P. *Handbook of ethological methods*. Cambridge. University Press. 1996
108. Lindburg DG. and Fitch-Snyder H. Use of behavior to evaluate reproductive problems in captive mammals. *Zoo Biol* 1994; 13:433-445.
109. Lindburg, D.G., Laderosa, J., Gledhill, L., Steady-state propagation of captive lion-tailed macaques in North American zoos: a conservation strategy. In: Wallis, J. Ed.), *Primate Conservation: The Role of Zoological Parks*. The American Society of Primatologists 1997. 130–149.
110. Lockyer C. Reviews of incidents involving wild, social dolphins, worldwide. In S. Leatherwood and R. R. Reeves, Eds. *The bottlenose dolphin*. Academia Press, London. 1990. pp 337-353
111. Manteca J: Individual variation in behaviour with particular reference to domestic animals. Dissertation M Sc in Applied animal behaviour and animal welfare, The University of Edimburgh, Scotland, 1991.
112. Manteca X. Fly snapping syndrome in dogs *The Veterinary quarterly*. /1994; 16 (4) Suppl 1:49.
113. Manteca X. and Deag J.M. Individual differences in temperament of domestic animal: a review of methodology. *Animal Welfare* 2; 247 – 268. 1993a
114. Manteca X. and Deag J.M. Social roles in cattle: a plea for interchanges of ideas between primatologists and applied ethologists. *Animal Welfare* 2; 339 – 346. 1993b
115. Manteca X: Neurophysiology and assessment of welfare. *Meat Sci* 1998; 49 (Suppl 1); 205-218.
116. Martin P and Bateson P. *Measuring Behaviour*: Cambridge University Press; Cambridge. 1986
117. Mason G. J. Stereotypes: a critical review. *Animal Behaviour* 1990. 41:1015-1037.
118. Mason G and Mendl M. Why is there no simply way of measuring animal welfare? *Anim Welfare* 1993; (2): 310-319.
119. Mayer S. A Review of the Scientific Justifications for Maintaining Cetaceans in Captivity. A Report for the Whale and Dolphin Conservation Society (WDCS). February 1998
120. Maynard Smith, J. *On Evolution*. Edinburgh University Press 1972.
121. Mazzaro LM et al., Study of vitamin A supplementation in captive northern fur seal (*Callorhinus ursinus*) and its effect on serum vitamin E. *Mar Mamm Sci* 1995; 11; 545-553.
122. McBride, A. F. & Herb, D. O. Behavior of the captive bottlenose dolphins, *Tursiops truncatus*. *Journal of Comparative Physiology and Psychology*, 1948. 41, 111-123.

123. McBride AF, Kritzler H. Observations on pregnancy, parturition and post-natal behavior in bottlenosed dolphin. *J Mammal* 1951. 32:251–66.
124. McBride SD, Cuddelford D. The putative welfare reducing effects of preventing equine stereotyping behaviour. *Animal Welfare* 2001; 10:173- 189.
125. Mellen JD. Reproductive behaviour of small captive exotic cats (*Felis* spp). Thesis for the degree of Doctor of Philosophy, University of California, Davis Ca., USA; 1989.
126. Mendl M, Zanella AJ and Broom DM. Physiological and reproductive correlates of behavioral strategies in female domestic pigs. *Animal Behaviour* 1992: 44; 1107-1121.
127. Mendl M and Deag JM. How useful are the concepts of alternative strategy and coping strategy in applied studies of social behaviour?. *Applied Animal Behaviour* 1995: 44; 119-137.
128. Mendl, M., Performing under pressure: stress and cognitive function. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 1999. 65: 221-244.
129. Miguel C. Medición del comportamiento y cortisol salival de delfines de acuerdo a las actividades que realizan en cautiverio. Tesis de Maestría UNAM. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootécnica 2004; 171 p.
130. Moberg, G.P. Problems in Defining Stress and Distress in Animals. *JAVMA*: 1987. 191, 1207-1211.
131. Moe RO, Bakken M. Effects of handling and physical restraint on rectal temperature, cortisol, glucose and leucocyte counts in the silver fox (*Vulpes vulpes*). *Acta Veterinaria Scandinavica* 1997; 38:29-39.
132. Mooney J. Captive cetaceans: a Handbook for campaigners. A Whale and Dolphin Conservation Society (WDCS) document. Eds: Stroud C, Williams V, Clarke F. United Kingdom 1998.
133. Morrow-Tesch JL, McGlone JJ, Norman RL. Consequences of restraint stress on natural killer cell activity, behavior, and hormone levels in rhesus macaques (*Macaca mulatta*). *Psychoneuroendocrinology* 1993; 18: 383-395.
134. Möstl E. and Palme R. Hormones as indicators of stress *Domestic Animal Endocrinology* 2002. 23; 67–74
135. Munck A, Guyre PM, Holbrook NI. Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relationship to pharmacological actions. *Endocrinology Review* 1984; 5:25-44.
136. Muraco, H., Muraco, M., Blasko, D., Cornell, L., Arn, D., Simon, M. The use of vaginal cytology in the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) to monitor the estrous cycle. *Proceedings of International Association of Aquatic Animal Medicine symposium* 2004.
137. Nelson RJ. *An introduction to behavioral endocrinology* 2nd. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, Massachusetts, USA 2000.
138. Nichols DK et al., Coagulopathy in pink-backed pelicans (*Pelecanus rufescens*) associated with hypervitaminosis E. *J Zoo Wildl Med* 1989: 20; 57-61.
139. Norris, K. S. Aggressive behavior in Cetacea. In C. D. Clemente & D. B. Lindsley Eds., *Aggression and Defense - Neural mechanisms and social patterns*. Berkeley: University of California Press. 1967. pp. 225-241
140. Ödberg F. 1986. The jumping stereotypy in the bank vole (*Clethrionomys glareolus*). *Biology Behaviour*. 11: 130- 143.

141. Ogburn P, Crouse S, Martin S, Houpt K. Comparison of behavioural and physiology responses of dogs wearing two different types of collars. *Applied Animal Behavioural Science* 1998; 61: 133-142.
142. O'Grady, R.J.P.. Bear welfare in captivity – with particular reference to the Asiatic black bear *Selenarctos thibetanus*. In: O'Grady RJP, Hughes DG, editors. *Bears: Their status, conservation and welfare in captivity*. Glasgow: The Zoological Society of Glasgow and the West of Scotland. 1994. pp 43-46
143. Ortiz RM, Worthy GAJ. Effects of capture on adrenal steroid and vasopressin concentrations in free-ranging bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* 2000; 125: 317 – 324.
144. Östman, J. Changes in aggressive and sexual behavior between two male bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in a captive colony. In K. Pryor & K. S. Norris Eds. *Dolphin Societies: Discoveries and Puzzles*. Berkeley, University of California Press. 1991. pp. 305-317
145. Ots I., Horak P. Great tits *Parus major* trade health for reproduction. *Proc R Soc Lond B* 1996; 263: 1443 – 1447.
146. Palme R., Robia C., Baumgartner W., Möstl E. Transport stress in cattle as reflected by an increase in faecal cortisol metabolites. *Vet Rec* 2000; 146: 108 – 109.
147. Parcker, C., Scheel, D., Pusey A.E. Why lions form groups: Food is not enough. *Am. Nature* 1990 136. 1 – 19.
148. Pedernera-Romano, C.; Valdez, R.A.; Singh, S.; Chiappa, X.; Romano, M.C.; Galindo, F.. Salivary cortisol in captive dolphins (*Tursiops truncatus*): a non-invasive technique. *Animal Welfare* 2006; 15, 359-362
149. Pell SM, McGreevy PD. A Study of cortisol and beta-endorphin levels in stereotypic and normal Thoroughbreds. *Applied Animal Behaviour Science* 1999; 64: 81-90.
150. Pifarré M. Métodos de registro conductual como herramienta de diagnóstico y evaluación de un programa de enriquecimiento ambiental. 2002 XIX Simposium anual A.Z.C.A.R.M
151. Poole TB. Meeting a mammals psychological needs. In Shepherdson DJ, Mellen JD, Hutchins M editors. *Second nature, environmental enrichment for captive animals*. Washington Smithsonian Institution Press 1998; 83 – 94.
152. Pryor, K. *Lads before the wind*. Harper and Row, New York, NY. 1975.
153. Pullen, P.K. Preliminary comparisons of male/male interactions within bachelor and breeding groups of western lowland gorillas (*Gorilla gorilla gorilla*). *Appl. Anim. Behav. Sci.* 2005. 90, 143–153.
154. Pulliam, H.R. On the advantages of flocking. *Journal of Theoretical Biology* 1973. 38. 419 – 422.
155. Rasmussen DD, Liu JH, Wolf PL, Yen SS. Endogenous opioid regulation of gonadotropin – releasing hormones release from the human fetal hypothalamus in vitro. *J Clin Endocrinol Metab* 1983; 57: 881 – 884.
156. Raussi, S., Boissy, A., Delval, E., Pradel, P., Kaihilahti, J., Veissier, I. Does repeated regrouping alter the social behaviour of heifers? *Appl. Anim. Behav. Sci.* 2005. 93, 1-12.

157. Read, A. J., Wells, R. S. Hohn, A. A. Scott. M. D. Patterns of growth in wild bottlenose dolphins, *Tursiops truncatus*. *Journal of Zoology*, London. 1993. 231: 107-123
158. Redbo I. Stereotypies and cortisol secretion in heifers subjected to tethering. *Applied Animal Behaviour Science* 1993; 38: 213-225.
159. Riegway S and Reddy M. Residue levels of several organochlorines in *Tursiops truncatus* milk collected at varied stages of lactation. *Mar pollut Bull* 1995; 30; 609-614.
160. Rivier C, Rivier J, Vale W. Stress induced inhibition of reproductive functions: Role of endogenous corticotrophin – releasing factor. *Science* 1986; 231: 607 – 609.
161. Rivier C, Rivest S. Effect of stress on the activity of the hypothalamus -pituitary-gonadal axis: peripheral and central mechanism; a review. *Biol Reprod* 1991; 45: 523 - 532.
162. Robeck TR, Curry BE, McBrain JF, Kraemer DC. Reproductive biology of bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) and potential application of advanced reproductive technologies. *J Zoo and Wildlife Medicine* 1994; 25 (3): 321 – 336.
163. Robeck TR, Steinman KJ, Yoshioka M, Jensen E, O'Brien JK, Katsumata E, Gili C, McBain JF, Sweeney J and Monfort SL. Estrous cycle characterisation and artificial insemination using frozen–thawed spermatozoa in the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). *Reproduction* 2005; 129: 659–674.
164. Romano T.A, Keogh MJ, Jensen E, Miller WG, Van Bonn W and Ridgway SH. Approaches to Understanding the Effects of Stress on Marine Mammal Health. Proceedings of the Florida Marine Mammal Health Conference April 4-7, 2002 Gainesville, Florida
165. Romano TA, et al., Anthropogenic sound and marine mammals health: measures of the nervous and immune systems before and after intense sound exposure. *Can J Fish Aquat Sci* 2004; 61: 1124-1134.
166. Rushen, J: Problems associated with the interpretation of physiological data in the assessment of animal welfare. *App Anim Behav Sci* 1991; 28:381-386.
167. Samuels A, Sevenich M, Gifford T, Sullivan T, Sustman J. Gentle rubbing among bottlenose dolphins. Monterey: Proceedings of the 8th Biennial Conference on the Biology of Marine Mammals. 1989.
168. Samuels A. and Gifford T. A quantitative assessment of dominance relations among bottlenose dolphins. *Mar Mamm Sci* 1997. 13: 70–99
169. Samuels A, Tyack PL. Flukeprints: a history of studying Cetacean societies. In: Mann JM, Connor RC, Tyack PL, Whitehead H, editors. *Cetacean societies: field studies of dolphins and whales*. Chicago: University of Chicago Press. . 2000. 9–44.
170. Sanchez, R., Bossart G.D., Lopez, A., Bernal, J., Herrera J.A. Reproductive activity post-treatment with altrenogest in *Tursiops truncatus* females. Proceedings of International Association of Aquatic Animal Medicine symposium 2005.
171. Sapolsky, R. M., & Ray, J. C. Styles of dominance and their endocrine correlates among wild olive baboons (*Papio anubis*). *American Journal of Primatology* 1989. 18, 1-13

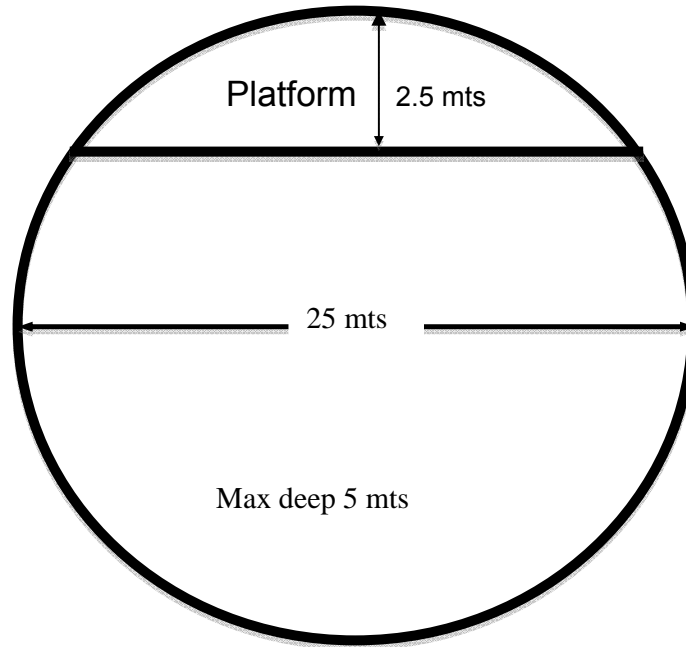
172. Sapolsky RM. Neuroendocrinology of the stress – response. In: Becker JB, Breedlove SM, Crews D editors. Behavior Endocrinology. MIT Press, Cambridge, MA 1992; 287 – 324.
173. Sapolsky RM, Romero LM, Munck AU. How do glucocorticoides influence stress response? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. Endocrine reviews 2000; 21 (1): 55 – 89.
174. Sawyer-Steffan JE et al., Progesterone and estrogens in pregnant and nonpregnant dolphin, *Tursiops truncatus*, and the effects of induces ovulation. Biol Reprod 1983; 28; 897-901.
175. Schroeder JP and Keller KV. Seasonality of serum testosterone levels and sperm density in *Tursiops truncatus*. J Exp Zool 1989; 249; 316-321.
176. Schwacke LH et al., Probabilistic risk assessment of reproductive effects of polychlorinated biphenyls on bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from the Southeast United States Coast. Environ Toxicol Chem 2003; 22; 689-701
177. Scott JP. Agonistic behavior of mice and rats: a review. American Zoologist 1966. 6; 683 – 701.
178. Seidensticker J, Doherty JG. Integrating animal behavior and exhibit desing. In Kleinman DG, Allen ME, Thompson KV, Lumpkin S, editors. Wild mammals in captivity. Chicago Press 1996; 180 - 190.
179. Selye H. The evolution of the stress concept. American Science 1973; 61: 692.
180. Semarnat. Proyecto de recuperación del lobo mexicano. Instituto de Ecología 2000; p 120.
181. Shane, SH., Wells, RS, Worsig B. Ecology, Behavior and Social Organization of the Bottlenose Dolphin: A Review, Marine Mammal Science 1986 2(I), 34-63.
182. Shepherdson DJ, Carlstead K, Mellen JD, Seidensticker J. The influence of food presentation on behavior of small cats in confined environments . Zoo Biology 1993; 12: 203 – 216.
183. Shepherdson DJ. The role of environmental enrichment in the captive breeding and reintroduction of endangered species. In Olney PJS, Mace GM, Feistner ATC editors. Creative conservation; interactive management of wild and captive animales. Chapman & Hall Press 1994; 167 – 177.
184. Small RJ and DeMaster DP. Survival of five species of captive marine mammals. Marine mammal science 1995a; 11 (2): 209 – 226.
185. Small RJ and DeMaster DP. Acclimation to captivity: a quantitative estimate based on survival of bottlenose dolphin and california sea lions. Marine mammal science 1995b; 11 (4): 510 – 519.
186. Smith DG. Te association between rank and reproductive succes of male rhesus monkey. Am. Journal of Primatology 1981. 1: 83 – 90.
187. Smith JD, Allen SW, Quandt JE. Changes in cortisol concentrations in response to stress and postoperative pain in client owned cats and correlation with objective clinical variables. American Journal of Veterinary Research 1999; 60: 432-436.
188. Smolker RA, Richards AF, Connor RC and Pepper JW. Sex differences in patterns of association among Indian Ocean bottlenose dolphins. Behaviour 1992. 123: 38-69.
189. Snow RC et al., Estrogen 2-hydroxylase oxidation and menstrual function among elite oarswomen. J Clin Endocrin Metb 1989; 69; 369-376.

190. Sobel, N., Supin, A. Ya. and Myslobodsky, M. S. Rotational swimming tendencies in the dolphin (*Tursiops truncatus*). Behavioural Brain Research, 1994. 65: 41-45.
191. St Aubin DJ. Dolphin thyroid and adrenal hormones: circulating levels in wild and semidomesticated *Tursiops truncatus*, and influence of sex, age and season. Marine Mammals Science 1996; 12: 1-13.
192. Sthal F and Dörner G. Response of salivary cortisol levels to stress-situations. Endocrinologie 1982; 80: 158-162.
193. Stoinski, T.S., Lukas, K.E., Kuhar, C.W., Maple, T.L. Factors influencing the formation and maintenance of allmale gorilla groups in captivity. Zoo Biol. 2004. 23, 189–203.
194. Stookey, JM. and Gonyou HW. The effects of regrouping on behavioural and production parameters in finishing swine. J. Anim. Sci. 1994. 72: 2804-2811.
195. Storelli MM and Marcotrigiano GO. Environmental contamination in bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*): Relationship between levels of metals, methylmercury, and organochlorine compounds in an adult female, her neonate, and calf. Bull Environ Contam Toxicol 2000: 64; 333-340.
196. Stratakis CA, Chrousos GP. Neuroendocrinology and pathophysiology of the stress system. Ann NY Acad Sci 1995; 771: 1 – 18.
197. Sweeney JC. Marine mammal behavioral diagnostics. In: Dierauf LA, editor. Handbook of marine mammal medicine: health, disease and rehabilitation. Boca Raton: CRC Press.1990. pp 53–72.
198. Tanabes, Tatsukawa R, Maruyama K and Miyazake N. Transplacental transfer of PCBs and chlorinated hydrocarbon pesticides from the adult female striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) to her neonate. Agric Biol Chem 1982: 46; 1249-1254.
199. Terlouw EMC, Lawrence AB, Ladewing J, De Passillee AM, Rushen J, Schouten GP. Relationship between plasma cortisol and stereotypic activities in pigs. Behavioural Processes 1991a; 25: 133-153.
200. Terlouw C, Lawrence AB, Illius AW. Influence of feeding level and physical restriction on development of stereotypies in sows. Animal Behaviour 1991b; 42: 981-991.
201. Theodorum J. Monitoring total androgen concentration in saliva from captive Hawaiian Monk Seal. Marine Mammals Science 1998: 14; 304 – 310.
202. Thomson CA and Geraci JR. Cortisol, aldosterone and leucocytes in the stress response of bottlenose dolphin *Tursiops truncatus*. Can J Fish and Aquat Sci; 1986; 43: 1010-1016.
203. Tiefenbacher S, Novak MA, Jorgensen MJ, Meyer JS. Physiological correlates of self-injurious behavior in captive, sociallyreared rhesus monkeys. Psychoneuroendocrinology 2000; 25: 799-817.
204. Tiefenbacher S, Novak MA, Marinus LM, Chase WK, Miller JA, Meyer JS. Altered hypothalamic-pituitary-adrenocortical function in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) with self-injurious behavior. Psychoneuroendocrinology. 2004; 9: 501-515.
205. Toates F.. Multiple Factors Controlling Behaviour: Implications for Stress and Welfare. In: Biology of Animal Stress. (eds) Moberg G.P, Mench J.A. CAB International 2000; pp 199-227.

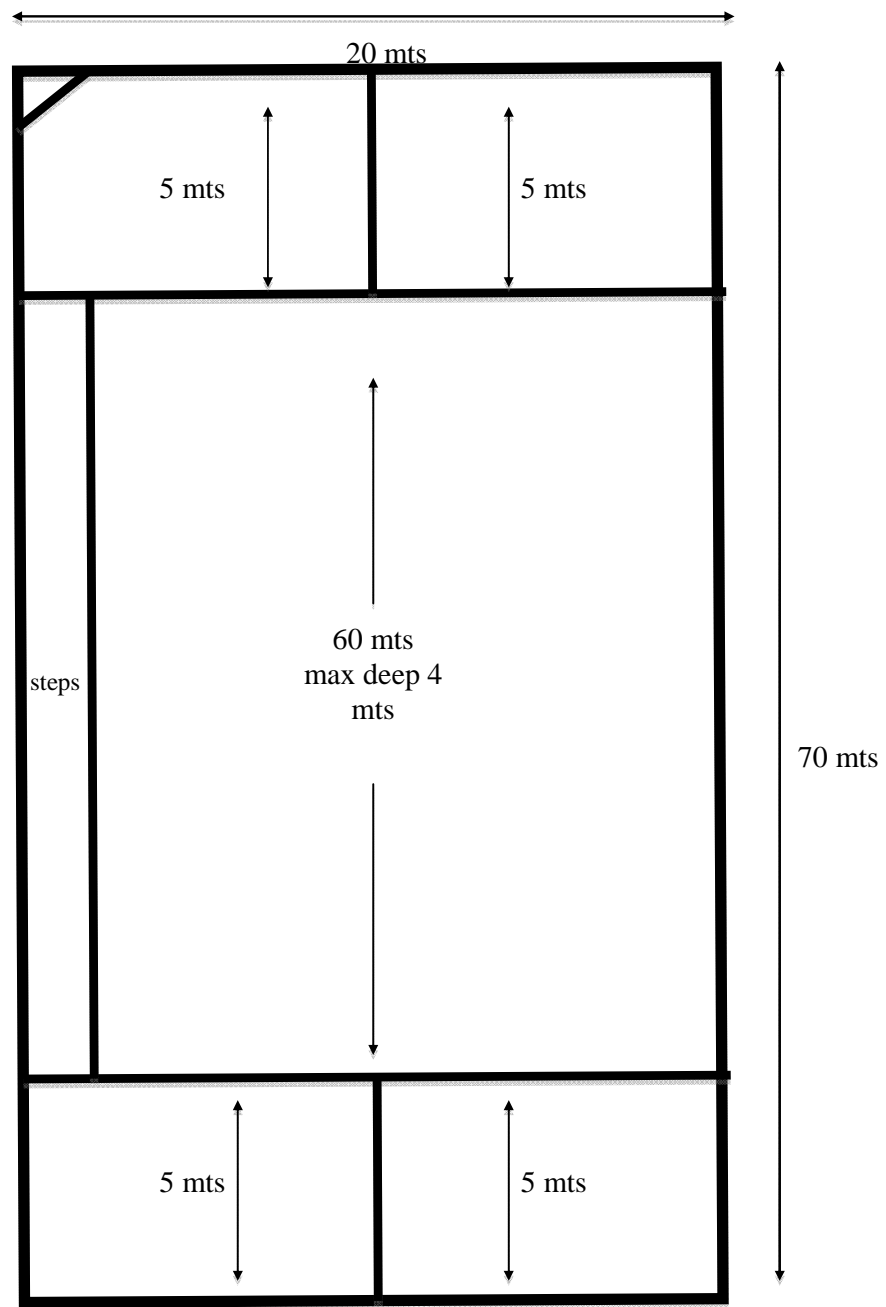
206. Tolley, K. A., Read A. J., Wells R. S., Urian K. W., Scott M. D., Irvine A. B., Hohn A. A. Sexual dimorphism in wildlife bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from Sarasota, Florida. *Journal of Mammalogy* 1995. 76: 1190-1198.
207. Tuchscherer, M., Puppe B., Tuchscherer A., Kanitz E. Effects of social status after mixing on immune, metabolic, and endocrine responses in pig. *Physiol. Behav.* 1998. 64:353-360.
208. Tyack, P. L. Population biology, social behavior and communication in whales and dolphins. *Trends in Ecology and Evolution* 1986. 1 (6): 144-150.
209. Van de Kar LD, Richardson-Morton KD, Rittenhouse PA. Stress: Neuroendocrine and pharmacological mechanism. In: Jasmin G, Cantin M editors. *Stress Revisited: Neuroendocrinology of Stress. Methods and Achievements in Experimental Pathology* 1991; 14: 133 – 173.
210. Vingerhoets AJJM et al., Self reported stressors, symptom complaints and psycho biological functioning II: psychoneuroendocrine variables. *J Psychosom Res* 1996; 40; 191-203.
211. Von Borell E, Hurnik JF. Stereotypic behavior, adrenocortical function, and open field behavior of individually-confined gestating sows. *Physiology and Behaviour* 1990; 49: 709-714.
212. Von der Ohe CG, Servheen C. 2002. Stress and fecal glucocorticoids. *Wildlife Society Bulletin* 2002; 30: 1215-1225.
213. von Holst, D. The concept of stress and its relevance for animal behavior. *Advances of the Study of Behavior*, 1998. 27, 1–131.
214. Wade GN. Energy balance, effects on reproduction. In: Knobill E, Neill JD, editors. *Encyclopaedia of Reproduction*, vol. 1. Academic Press, San Diego 1999; 1091 – 1100.
215. Waples KA and Gales NJ Evaluating and minimising social stress in the care of captive bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *Zoo Biology* 2002.21: 5-26
216. Weaver AC. An ethogram of naturally occurring behaviour of bottlenose dolphins, *Tursiops truncatus*. In southern California Waters. MSc Thesis, University of San Diego. 1987.
217. Weingrill T., Gray D.A, Barrett L., Henzi S.P. Fecal cortisol levels in free-ranging female chacmas baboons: relationship to dominance, reproductive state and environmental factors. *Hormones and Behavior* 2004. 45: 259-269.
218. Welch TH, Kemper-Green CN, Livingston KN. Stress and reproduction. In: Knobill E, Neill JD, editors. *Encyclopaedia of Reproduction*. Academic Press, San Diego 1999; 662 – 674.
219. Wells, R. S.; Scott, M. D. and Irvine, A. B. The social structure of free-ranging bottlenose dolphins. In “*Current Mammalogy*”. H H Genoways, Editors, Plenum Press, New York, 1987. 247-305.
220. Wells, R. S.; Hansen L. J.; Baldrige, A.; Dohl, T. P.; Kelly, D. L. and Defran, R. H. Northward extension of the range of bottlenose dolphins along the California coast. In “*The Bottlenose Dolphin*” Leatherwood L and Reeves RR, editors Academic Press, INC, San diego California. 1989. 421-431.
221. Wells, R. S. and M. D. Scott Estimating bottlenose dolphin population parameters from individual identification and capture-release techniques. In: *Individual Recognition of Cetaceans: Use of Photo- Identification and Other Techniques to Estimate Population Parameters*. Eds. P. S. Hammond, S. A.

- Mizroch and G. P. Donovan. Report of the International Whaling Commission, Special Issue, U. K. 1990. 12; 407-415.
222. Wells, RS. The Role of Long-Term Study in Understanding the Social Structure of a Bottlenose Dolphin Community. In *Dolphin Societies: Discoveries and Puzzles*. Ed. K. Pryor and K.S. Norris, pp. 199-225. Berkeley: University of California Press, 1991.
 223. Wells, R. S. and M. D. Scott. Bottlenose dolphin, *Tursiops truncatus*. In "Handbook of marine mammals". S. H. Ridgway and R. Harrison. Eds Academic Press, 1999. 137-182.
 224. Wells A, Terio KA, Ziccardi MH and Munson L. The stress response to environmental change in captive cheetahs (*Acinonyx jubatus*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 2004. 35(1):8-14
 225. Wemelsfelder F. Animal Boredom - Towards an Empirical Approach of Animal Subjectivity. PhD Thesis, University of Leiden, The Netherlands. 1993
 226. Wielebnowsky NC. Behavioral differences as predictors of breeding status in captive cheetahs. *Zoo Biol* 1999; 18:335-349.
 227. Wiepkema PR: Behavioral aspects of stress. In *Biology of stress in farm animals, an integrative approach*. Wiepkema PR and Adrichem PWM (eds). 1987
 228. Wildt DE, Donoghue AM, Jonhston LA, Schmidt PM, Howard JG. Species and genetic effects on the utility of biotechnology for conservation. *Symp Zool Soc Lond* 1992. 64: 45 – 59.
 229. Wingfield, J.C., and Romero, L.M. Adrenocortical Responses to Stress and Their Modulation in Free-Living Vertebrates. In "Handbook of Physiology, Section 7: Endocrinology, Volume 4: Coping With The Environment" (B.S. McEwen ed.), Oxford University Press, Oxford. Books and Edited Volumes. 1999.
 230. Wingfield J.C. and Ramenofsky M. Hormones and the behavioural ecology of stress. In *Stress physiology in animals*. Balm PHM, Sheffield Academic Press-CRC Press England 1999. 1-41.
 231. Wood FG.. Birth of porpoises at Marineland, Florida, 1939–1969, and comments on problems involved in captive breeding of small Cetacea. In: Ridgway SH, Benivschke K, editors. *Breeding dolphins: present status, suggestions for the future*. Washington, DC: Marine Mammal Commission Report. MMC-76107. 1977. 47–60.
 232. Würsig B. and Würsig M., 1979. Behavior and ecology of the bottlenose dolphin, *Tursiops truncatus*, in the South Atlantic. *Fishery Bulletin*, 77 (2): 399-412.

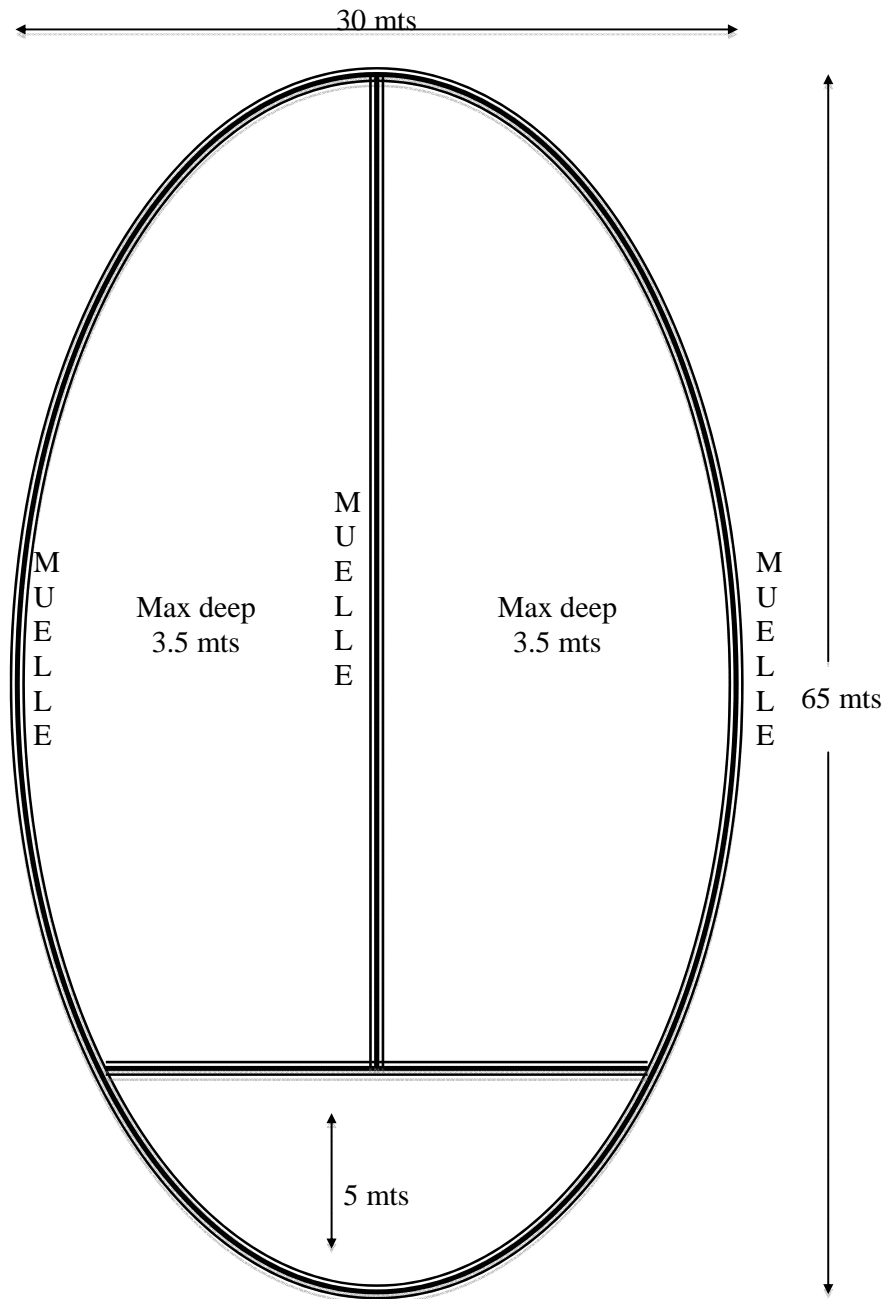
ANEXO 1 Alberca del delfinario A



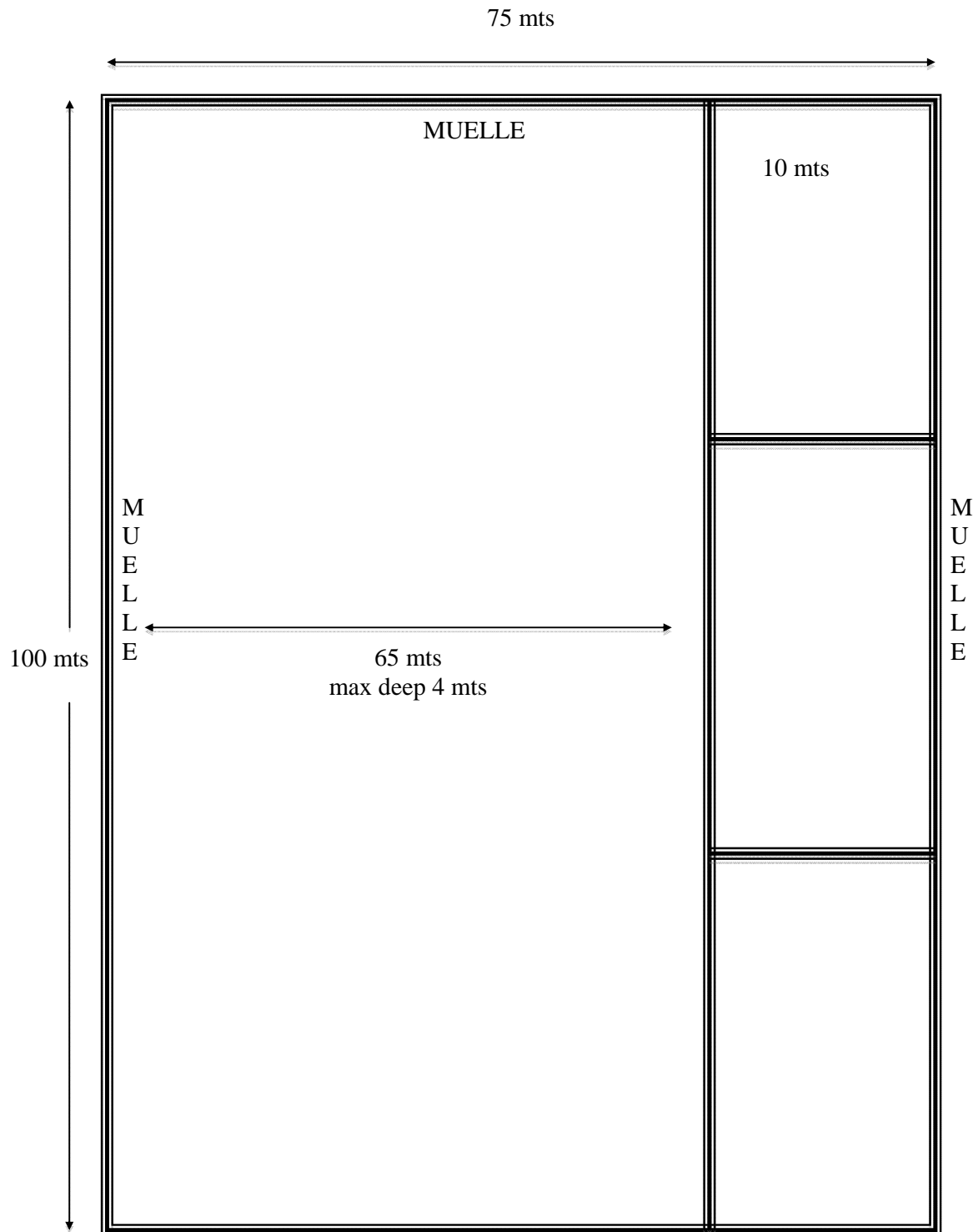
Anexo N° 3 Alberca del delfinario B



Anexo N° 4 Muelle del delfinario C



Anexo° 5 Muelle del delfinario D



ANEXO 4 CATALOGO DE CONDUCTAS DE DELFINES ESTUDIADOS EN ALBERCAS Y EN CORRALES EN EL MAR

CATALOGO DE PAUTAS DE COMPORTAMIENTO DE LOS ANIMALES EN ALBERCA

INDIVIDUAL

- **(180)** GIRO 180°: bajo el agua el delfín gira en 180° cambiando bruscamente la dirección de su nado.
- **(Apcb)** APOYO DE CABEZA: el delfín flotando apoya la cabeza en el borde de la alberca fuera del agua.
- **(Apd)** APOYO EN PARED: el delfín flotando apoya la trompa en la pared, en forma estática por un periodo de tiempo.
- **(Bc)** BUCEO: nado a profundidad, en el fondo de la alberca o media profundidad, en cualquier dirección.
- **(Bccp)** CIRULOS PEQUEÑOS: nado horizontal solo en la mitad de la alberca.
- **(BFH)** BUCEO FIJO HORIZONTAL: el delfín se queda estático en el fondo de la alberca en posición horizontal.
- **(Bv)** BUCEO VENTRAL: nado a profundidad, en el fondo de la alberca o media profundidad, en cualquier dirección, en una posición decúbito dorsal.
- **(Col)** COLETAZOS: un delfín golpea en forma agresiva con su aleta caudal la superficie del agua.
- **(FH)** FLOTACIÓN HORIZONTAL: flota a en la superficie en una posición horizontal, dejándose llevar por el movimiento del agua.
- **(FV)** FLOTACIÓN VERTICAL: el delfín flota en posición vertical con la cabeza hacia la superficie.
- **(FInv)** FLOTACIÓN INVERTIDA: el delfín flota en forma vertical con la cabeza apuntando hacia el fondo de la alberca.
- **(Mst)** MASTURBACIÓN: el macho se masturba con los objetos y juguetes que hay en el agua.
- **(NAV)** NADO A ALTA VELOCIDAD: el animal nada a alta velocidad no comparable al modo de natación normal, y lo realiza abarcando la mayor cantidad de superficie posible en la alberca (por la orilla).
- **(NL)** NADO LATERAL: el delfín nada con una de las aletas pectorales apuntando hacia la superficie.
- **(NS)** NADO SUPERFICIAL: el delfín nada exponiendo la aleta dorsal fuera del agua.
- **(NV)** NADO VENTRAL: el delfín nada horizontalmente con el abdomen hacia la superficie, fuera del agua o sumergido.
- **(Obj)** INTERACCIÓN CON OBJETOS: el delfín interactúa con objetos tales como: boyas, cuerdas, pelotas, gusanos de hule espuma, etc. (puede sumergirlo, morderlos, arrojarlos).
- **(Plat)** SALIDAS A PLATAFORMA: el delfín sale completamente del agua (plataforma o borde de la alberca) en forma voluntaria en su tiempo libre.
- **(Res)** RESOPLIDOS FORZADOS: el animal emite fuertes exhalaciones por el espiráculo.

- **(Rj)** NADO A FAVOR DEL RELOJ: el delfín nada a favor de las manecillas del reloj, en círculos pequeños o grandes.
- **(Rsc)** RASCAR: contacto de cualquier parte del cuerpo (mas comúnmente genitales, pedúnculo, y zona pectoral) con las paredes de la alberca.
- **(RT)** ROTACIÓN FRENTE A UNA BARRERA: el animal rota en su propio eje, frente a una barrera, que generalmente es una compuerta que separa dos holdings, tratando de comunicarse hacia el otro lado.
- **(Sa)** SALIDA ALTA: el delfín saca la mitad del cuerpo fuera del agua mientras nada, semejando un salto.
- **(Salt)** SALTO ALTO: el delfín salta a una altura que supera un cuerpo de él mismo.
- **(Sc)** SALTO CORTO: el delfín salta a baja altura sacando todo el cuerpo o parte de este, fuera del agua, cayendo muy cerca del lugar de salida.
- **(SL)** SALTO LATERAL: el delfín salta a baja altura y regresa al agua lateralmente entrando primero una de las aletas pectorales.
- **(Sr)** SALTO DE REVERSA: el delfín salta sacando todo el cuerpo fuera del agua para caer con la aleta dorsal.
- **(SV)** SALIDA VERTICAL: el delfín saca la mitad del cuerpo en forma vertical del agua, impulsado por su aleta caudal y se regresa en la misma posición.
- **(ZC)** ZAMBULLIDAS CORTAS: el delfín nadando a cualquier velocidad, expone la parte anterior de su cuerpo y se sumerge en forma intempestiva exponiendo el pedúnculo y la aleta caudal.

SOCIAL

- **(BG)** BUCEO GRUPAL: un grupo de delfines (no necesaria toda la población) nadan en la misma dirección y a la misma velocidad, sin un orden jerárquico definido.
- **(BGav)** BUCEO GRUPAL ALTA VELOCIDAD: un grupo de delfines (no necesaria toda la población) nadan en la misma dirección a una velocidad superior a lo normalmente observado, sin un orden jerárquico definido.
- **(BSr)** BUCEO SINCRONIZADO: dos delfines o más nadan en la misma dirección y a la misma velocidad, sincronizando incluso la respiración.
- **(Cop)** COPULA: una pareja de delfines completa la copula.
- **(Cort)** CORTEJO: uno o mas machos rodean a una hembra en celo para tratar de copular, todos los machos estarán con el pene expuesto.
- **(ERD)** ENREDADOS: dos delfines (hembra y macho) bajo el agua enredan sus cuerpos, para aumentando la superficie de contacto (época de celo)
- **(GT)** GOLPE CON TROMPA: un delfín enviste a otro con la punta de la trompa o parte del melón.
- **(Gcc)** GOLPES CON LA ALETA CAUDAL: un delfín golpea a otro con la aleta caudal, en forma de ataque o imprevistamente
- **(M-H)** AFILIACIÓN MADRE-CRÍA: la cría sigue a su madre por cualquier parte que ella nade.
- **(NG)** NADO GRUPAL: más de dos delfines nadan en la misma dirección y a la misma velocidad.

- **(NGav)** NADO GRUPAL ALTA VELOCIDAD: todos los delfines de la alberca nadan en el misma dirección sin un orden, entre ellos, determinado, a una velocidad mucho mayor que la observada normalmente.
- **(NRsc)** NADO RAPIDO SINCRONIZADO: un grupo de delfines nada en forma superficial, a alta velocidad no comparable al modo de natación normal, y lo realiza en toda la alberca
- **(Pagr)** PERSECUCIONES AGRESIVA: uno o más delfines siguen a otro en diferentes direcciones con el fin de agredirlo y no detienen la persecución hasta golpearlo.
- **(PR)** PERSECUCIÓN: un delfín sigue al otro en un nado a media profundidad, en cualquier dirección.
- **(RC)** ROCE: dos delfines se rozan con cualquier parte del cuerpo uno a otro.
- **(SCsr)** SALTO CORTO SINCRONIZADO: dos o más delfines saltan exponiendo la mitad de su cuerpo, en forma sincronizada (salida y entrada al agua).
- **(SEX)** COMPORTAMIENTO SEXUAL: un delfín (macho o hembra) frota la zona genital contra otro individuo, con o sin exteriorización de pene, en el caso de los machos.
- **(Son)** EMISIÓN DE SONIDOS DESDE EL SONAR O DEL RESPIRACULO: un delfín emite sonidos por el respiráculo o por el melón, tratando de socializar o llamar la atención de otro individuo.
- **(Son-H)** EMISIÓN DE SONIDOS ENTRE HOLDING: un delfín emite sonidos frente a una barrera que divide dos holding, comunicándose con otro individuo que esta frente a el.

REDIRECCIÓN

- **(AG)** AUTOGOLPES: el delfín se golpea contra cualquier objeto que haya en la alberca, (plataformas, paredes).
- **(Au)** SALTOS DE AUTOAGRESION: el delfín salta a una altura media para caer en cualquier posición, de manera agresiva auto infligiéndose golpes contra la superficie del agua.

PAUTAS DE COMPORTAMIENTO EN CORRALES EN EL MAR

INDIVIDUALES

- **(Bc)** BUCEO: nado a profundidad, en el fondo de la alberca o media profundidad, en cualquier dirección.
- **(Bccp)** CIRULOS PEQUEÑOS: nado horizontal solo en la mitad de la alberca.
- **(Bv)** BUCEO VENTRAL: nado a profundidad, en el fondo de la alberca o media profundidad, en cualquier dirección, en una posición decúbito dorsal.
- **(FH)** FLOTACIÓN HORIZONTAL: flota a en la superficie en una posición horizontal, dejándose llevar por el movimiento del agua.

- **(FH)** FLOTACIÓN HORIZONTAL VENTRAL: flota a en la superficie en una posición horizontal exponiendo el abdomen a la superficie.
- **(FV)** FLOTACIÓN VERTICAL: el delfín flota en posición vertical con la cabeza hacia la superficie.
- **(FInv)** FLOTACIÓN INVERTIDA: el delfín flota en forma vertical con la cabeza apuntando hacia el fondo de la alberca.
- **(GP)** GOLPES CON ALETAS PECTORALES: el animal golpea la superficie del agua con una de sus aletas pectorales, como llamando la atención de otro individuo.
- **(NAV)** NADO A ALTA VELOCIDAD: el animal nada a alta velocidad no comparable al modo de natación normal, y lo realiza abarcando la mayor cantidad de superficie posible en la alberca (por la orilla).
- **(NL)** NADO LATERAL: el delfín nada con una de las aletas pectorales apuntando hacia la superficie.
- **(NS)** NADO SUPERFICIAL: el delfín nada exponiendo la aleta dorsal fuera del agua.
- **(NV)** NADO VENTRAL: el delfín nada horizontalmente con el abdomen hacia la superficie, fuera del agua o sumergido.
- **(Obj)** INTERACCIÓN CON OBJETOS: el delfín interactúa con objetos tales como: boyas, cuerdas, pelotas, gusanos de hule espuma, etc. (puede sumergirlo, morderlos, arrojarlos).
- **(Res)** RESOPLIDOS FORZADOS: el animal emite fuertes exhalaciones por el espiráculo.
- **(Rj)** NADO A FAVOR DEL RELOJ: el delfín nada a favor de las manecillas del reloj, en círculos pequeños o grandes.
- **(Rsc)** RASCAR: contacto de cualquier parte del cuerpo (mas comúnmente genitales, pedúnculo, y zona pectoral) con las paredes de la alberca.
- **(RT)** ROTACIÓN FRENTE A UNA BARRERA: el animal rota en su propio eje, frente a una barrera, que generalmente es una compuerta que separa dos holdings, tratando de comunicarse hacia el otro lado.
- **(Sa)** SALIDA ALTA: el delfín saca la mitad del cuerpo fuera del agua mientras nada, semejando un salto.
- **(Salt)** SALTO ALTO: el delfín salta a una altura que supera un cuerpo de él mismo.
- **(Sc)** SALTO CORTO: el delfín salta a baja altura sacando todo el cuerpo o parte de este, fuera del agua, cayendo muy cerca del lugar de salida.
- **(SL)** SALTO LATERAL: el delfín salta a baja altura y regresa al agua lateralmente entrando primero una de las aletas pectorales.
- **(SV)** SALIDA VERTICAL: el delfín saca la mitad del cuerpo en forma vertical del agua, impulsado por su aleta caudal y se regresa en la misma posición.

SOCIAL

- **(BG)** BUCEO GRUPAL: un grupo de delfines (no necesaria toda la población) nadan en la misma dirección y a la misma velocidad, sin un orden jerárquico definido.
- **(BGav)** BUCEO GRUPAL ALTA VELOCIDAD: un grupo de delfines (no necesaria toda la población) nadan en la misma dirección a una velocidad superior a lo normalmente observado, sin un orden jerárquico definido.
- **(BSr)** BUCEO SINCRONIZADO: dos delfines o más nadan en la misma dirección y a la misma velocidad, sincronizando incluso la respiración.
- **(Gcc)** GOLPES CON LA ALETA CAUDAL: un delfín golpea a otro con la aleta caudal, en forma de ataque o imprevistamente
- **(Int)** INTIMIDACION: Comportamiento de uno o mas animales hacia otro, intentando agredir sin llegar a concretarlo, marcando dominancia dentro del grupo.
- **(NG)** NADO GRUPAL: más de dos delfines nadan en la misma dirección y a la misma velocidad.
- **(NGav)** NADO GRUPAL ALTA VELOCIDAD: todos los delfines de la alberca nadan en el misma dirección sin un orden, entre ellos, determinado, a una velocidad mucho mayor que la observada normalmente.
- **(NRsc)** NADO RAPIDO SINCRONIZADO: un grupo de delfines nada en forma superficial, a alta velocidad no comparable al modo de natación normal, y lo realiza en toda la alberca
- **(Pagr)** PERSECUCIONES AGRESIVA: uno o más delfines siguen a otro en diferentes direcciones con el fin de agredirlo y no detienen la persecución hasta golpearlo.
- **(PR)** PERSECUCIÓN: un delfín sigue al otro en un nado a media profundidad, en cualquier dirección.
- **(RC)** ROCE: dos delfines se rozan con cualquier parte del cuerpo uno a otro.
- **(SEX)** COMPORTAMIENTO SEXUAL: un delfín (macho o hembra) frota la zona genital contra otro individuo, con o sin exteriorización de pene, en el caso de los machos.
- **(Son)** EMISIÓN DE SONIDOS DESDE EL SONAR O DEL RESPIRACULO: un delfín emite sonidos por el respiráculo o por el melón, tratando de socializar o llamar la atención de otro individuo.
- **(Son-H)** EMISIÓN DE SONIDOS ENTRE HOLDING: un delfín emite sonidos frente a una barrera que divide dos holding, comunicándose con otro individuo que esta frente a el.

REDIRECCIÓN

- **(AG)** AUTOGOLPES: el delfín se golpea contra cualquier objeto que haya en la alberca, (plataformas, paredes).
- **(Au)** SALTOS DE AUTOAGRESION: el delfín salta a una altura media para caer en cualquier posición, de manera agresiva auto infligiéndose golpes contra la superficie del agua.
- **(Col)** COLETAZOS: un delfín golpea en forma agresiva con su aleta caudal la superficie del agua.