

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales

Llamados de alarma como indicadores de estrés en *Cebuella pygmaea*

Lizeth Anabel Estévez Tobar

**Licenciatura en Biología
concentración en Zoología**

Trabajo de integración curricular presentado como requisito
para la obtención del título de
Licenciada en Biología

Quito, 13 de diciembre de 2019

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ
COLEGIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y
AMBIENTALES

HOJA DE CALIFICACIÓN
DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Llamados de alarma como indicadores de estrés en *Cebuella pygmaea*

Lizeth Anabel Estévez Tobar

Calificación:

Nombre del profesor, Título académico

Stella de la Torre, Ph.D.

Firma del profesor:

Quito, 13 de diciembre de 2019

Derechos de Autor

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma del estudiante: _____

Nombres y apellidos: Lizeth Anabel Estévez Tobar

Código: 00135791

Cédula de identidad: 1724680507

Lugar y fecha: Quito, 13 de diciembre de 2019

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, Luis y Dilia, por apoyarme para cumplir este sueño incluso sin entender bien qué es y guiarme en la vida para convertirme en la persona que soy.

A mi hermano, David, por estar a mi lado en todo momento, acompañarme en todas mis aventuras y ser mi amigo y confidente.

A Thais, que estando lejos, fue mi apoyo durante toda la carrera y se enamoró conmigo de esta cosa tan bonita que es la biología.

A Estefanía, Valeria y Johana por ser las mejores amigas que pude encontrar en esta vida sin siquiera buscarlas, por brindarme su apoyo y ayuda incondicional.

A Antonio, por estar siempre a mi lado y hacerme sonreír cuando parecía imposible.

A Josué, Claudia y todos los biólogos que conocí en la carrera y se ganaron un espacio en mi corazón.

A mis *Aldeanos*, aunque llegaron tarde me brindaron la más hermosa y sincera amistad que pude pedir y me dieron el mejor último semestre.

A Alejandra, David, Belén y Paola por acompañarme a la mitad de la selva a ver monos todo el día, por brindarme su sincera amistad, risas e incontables buenos momentos.

A mi directora, Stella, por permitirme formar parte de esta investigación, brindarme todo su apoyo en el desarrollo de este trabajo y darme la oportunidad de enamorarme aún más de estos monos espectaculares.

A César Piaguaje y a Sacha Lodge por abrirme sus puertas y darme la oportunidad de realizar mi investigación en estas hermosas localidades.

RESUMEN

El leoncillo *Cebuella pygmaea* es un primate altamente susceptible a cambios ambientales por su especificidad de hábitat y alimento. Las alteraciones en su ambiente son una posible causa de estrés. Dados los potenciales efectos negativos que esta respuesta fisiológica tiene sobre la reproducción y el desarrollo de los individuos, en nuestro estudio evaluamos un método no invasivo para estimar el estrés utilizando como indicador la tasa de llamadas de alarma, un tipo de vocalización que los leoncillos emiten al detectar una amenaza. Entre junio y agosto de 2019, estudiamos dos grupos de leoncillos en hábitats diferentemente afectados por actividades humanas, la Reserva Privada Sacha Lodge y la comunidad Secoya de Sehuaya. Utilizamos muestreos focales de todos los individuos de cada grupo a diferentes horas del día para registrar el número de llamadas de alarma, así como la duración del comportamiento de vigilia. Registramos también el número de llamadas de alarma emitidas por hora por todo el grupo. Comparamos las tasas normalizadas de llamadas de alarma entre grupos, clases de edad y hora del día, así como las proporciones normalizadas del tiempo de vigilancia con ANOVAs multifactoriales. Realizamos también una correlación entre la proporción de tiempo de vigilia y la tasa de llamados de alarma. No encontramos diferencias significativas en la tasa de llamadas de alarma entre grupos ni clases de edad, pero sí entre horas del día, las tasas más altas de llamadas de alarma se registraron al medio día. La correlación entre la proporción del tiempo de vigilancia y la tasa de llamadas de alarma fue positiva, relativamente alta y significativa, sugiriendo que la tasa de llamadas de alarma podría ser usada como un indicador del nivel de estrés si los leoncillos que están más estresados pasan más tiempo vigilantes. Esto debe ser confirmado con futuras mediciones de cortisol fecal en estos dos grupos. Permiso de investigación 016-19 IC-FAU-DNB/MA para Stella de la Torre

Palabras clave: estrés, llamadas de alarma, leoncillos, Amazonía, Callitrichidae

ABSTRACT

The pygmy marmoset *Cebuella pygmaea* is a primate highly susceptible to environmental changes due to its habitat and food specificity. Changes in its habitat could be causes of stress. Given the potential negative effects this physiological answer has over the reproduction and development of the individuals, in our study we evaluated a non-invasive method for estimating stress using the alarm call rate, a vocalization pygmy marmosets use when they detect a threat as a proxy. Between June and August 2019, we studied two groups of pygmy marmosets in habitats differently affected by human activities, the Sacha Lodge Private Reserve and the Secoya community of Sehuaya. We used focal sampling of all individuals from each group during different daytimes to register the number of alarm calls, as well as duration of vigilant behavior. We also registered the number of alarm calls emitted each hour by the entire group. We compared the normalized alarm call rates between groups, age classes and times of day, as well as the normalized proportions of the vigil time with multifactorial ANOVAs. We also carried out a correlation between the vigil time proportion and the alarm call rate. We didn't find significant differences in the alarm call rate between groups or age classes but we found differences between times of day, where the highest alarm call rate was found at midday hours. The correlation between the vigil time proportion and the alarm call rate was positive, relatively high and significant, suggesting that the alarm call rate could be used as a stress level indicator if pygmy marmosets that are more stressed spend more time vigilant. This needs confirmation with future measurements of fecal cortisol for both groups. Research permit 016-19 IC-FAU-DNB/MA to Stella de la Torre.

Palabras clave: stress, alarm call, pygmy marmosets, Amazon, Callitrichidae

TABLA DE CONTENIDO

Introducción.....	10
<i>Objetivos.....</i>	<i>14</i>
<i>Área de Estudio.....</i>	<i>15</i>
<i>Metodología de la investigación.....</i>	<i>16</i>
<i>Análisis Estadístico.....</i>	<i>18</i>
Resultados	19
Discusión	20
Conclusiones.....	23
Recomendaciones.....	24
Referencias Bibliográficas	25
Anexo A: Tablas.....	29
Anexo B: Figuras	30

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición de los grupos estudiados	29
Tabla 2. Horas de muestreo para cada grupo por periodo del día	29

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.Ubicación de los grupos de estudio SA1 y SE1.	30
Figura 2.Tasa de llamados de alarma por hora registrados por periodo del día en cada grupo.	31
Figura 3. Correlación entre la proporción de tiempo de vigilia y la tasa de llamados de alarma registrados por minuto.	31

INTRODUCCIÓN

El leoncillo *Cebuella pygmaea* es un primate perteneciente a la familia Callitrichidae, siendo el más pequeño del mundo con una longitud de cabeza y cuerpo de entre 12 y 16 centímetros en edad adulta. Su pelaje es amarillo-marrón en la mayoría de su cuerpo, con zonas más claras en las extremidades y la cabeza. Presenta una franja de pelo claro en el puente de la nariz, así como bigotes blancos en banda, que son menos evidentes en subadultos y están ausentes en juveniles e infantiles. Su cola es delgada y fina hacia la punta, con bandas negras no tan notorias (de la Torre, 2000).

Esta especie se distribuye desde la Amazonía sur de Colombia hasta la cordillera occidental de Madre de Dios al norte de Bolivia (Rylands, Mittermeier, Bezerra, Paim, y Queiroz, 2013). En Ecuador habita bosques húmedos tropicales de la Amazonía en las provincias de Sucumbíos, Napo, Orellana y Pastaza a menos de 400 metros de altitud, aunque pueden encontrarse entre los 187 y 650 metros sobre el nivel del mar (Tirira, 2018). Generalmente prefiere bosques de galería dominados por follaje de bejucos, lianas y una amplia abundancia de epífitas en márgenes de ríos o lagunas. Se pueden acercar a zonas de bosques primarios de tierra firme, bosques secundarios e incluso en fincas con remanentes de bosques a sus alrededores, pero su concentración se da generalmente en zonas de varzea más que en zonas de igapó (de la Torre, Yépez, y Snowdon, 2009).

El área de vida de un grupo de leoncillos puede encontrarse entre las 0.15 y 1.2 hectáreas, constituyéndose generalmente como franjas alargadas de entre 30 y 100 metros de ancho (de la Torre et al., 2009). Generalmente se distribuyen a una distancia mínima de 100 metros de otro grupo (Soini, 1982). Dentro del territorio generalmente se desarrollan por debajo de los 15 metros desplazándose entre las ramas de árboles (Youlatos, 1999) y alimentándose de los exudados que obtienen al morder la corteza de ciertas especies de árboles o lianas haciendo pequeños hoyos poco profundos y redondeados; o de ocasionales

artrópodos pequeños (de la Torre et al., 2009). Esta especie está categorizada como Vulnerable en Ecuador debido a la pérdida de hábitat que ocurre en la Amazonía ecuatoriana, así como por la cacería para el mercado de mascotas todo lo cual ha reducido en gran medida las poblaciones en las dos últimas décadas (de la Torre y Tirira, 2018).

Los leoncillos son primates monógamos que viven en grupos familiares conformados por entre dos y nueve integrantes donde observamos dos padres reproductores y sus hijos de diferentes edades. En estos grupos los subadultos se encuentran inhibidos para reproducirse y participan en una reproducción cooperativa (Mitani y Watts, 1997); es decir, en el cuidado de los infantes y juveniles, que generalmente nacen en partos gemelares (Ziegler, Snowdon, y Bridson, 1990)- Por lo que esta estrategia facilita el cuidado de la madre que puede llegar a reducirse a solamente la lactancia (Townsend, 2001).

Al habitar en bosques con vegetación densa en los que la visibilidad es baja, los individuos del grupo se comunican principalmente mediante diferentes tipos de llamados dentro de su área de vida. Se han encontrado diferencias entre los llamados producidos por cada individuo, es decir diferencias en las “voces” de cada miembro de la población (Snowdon y Cleveland, 1980) así como diferencias entre poblaciones lo que se podría considerar como “dialectos” (de la Torre y Snowdon, 2009). Para esta especie se encuentra descrita una amplia variedad de llamados, entre ellos, los *trills* o trinos son el tipo de llamado más frecuente y son llamados de contacto y ubicación de individuos a distancias moderadas. Por su parte los *J-calls* son llamados de contacto y ubicación que se utilizan dentro del grupo en distancias más amplias, mientras que los *longcalls* o *type B alarm calls* son llamados de localización entre miembros del grupo, probablemente utilizadas al atardecer para reunir al grupo en dirección del árbol de dormida (Pola y Snowdon, 1975). El *babbling* o balbuceo es un tipo de llamado característico de infantes y juveniles y consiste en el uso de diferentes llamadas mezcladas sin un orden fijo por lo que se los considera como llamados de práctica y

de desarrollo de las cuerdas vocales (Snowdon y Elowson, 2001). Las llamadas de alarma son sonidos rápidos producidos por un individuo dentro del grupo ante un estímulo externo generalmente súbito y que potencialmente podría tratarse de una amenaza por parte de un depredador. En esta especie estos llamados pueden ser emitidos en serie o en solitario (Pola y Snowdon, 1975) y comúnmente los individuos que emiten o reciben el llamado se mantiene en un estado de alerta y vigilia, que puede o no ser prolongado (von Borell, Büniger, Schmidt, y Horn, 2009).

Según Moberg (2000) se puede definir al estrés como una respuesta biológica obtenida cuando un individuo percibe una amenaza hacia su homeostasis, donde dicha amenaza lleva el nombre de “estresor”. Cuando la respuesta generada por el individuo amenaza directamente el bienestar de este, se indica que el animal se encuentra en una situación de “angustia” que puede llevar a un estrés agudo o crónico (National Research Council, 2008).

La respuesta al estrés se puede dividir en: el reconocimiento del estresor, la defensa biológica contra el mismo y las consecuencias de la respuesta. Existen cuatro respuestas generales de defensa biológica: comportamental, del sistema nervioso autónomo, endocrinológica e inmune. Estas respuestas pueden presentarse en una combinación que depende del estresor (Moberg 2000).

El estrés crónico se caracteriza por una elevación persistente de glucocorticoides y puede llevar a cambios prolongados en el metabolismo y fisiología de los individuos afectados (Mendoza, Capitanio, y Mason, 2000). La presencia del estrés crónico a su vez puede generar una cadena de respuestas inespecíficas conocidas como el síndrome de adaptación general (GAS, por sus siglas en inglés) que puede dividirse en tres etapas: la reacción de alarma, el estado de resistencia y el estado de agotamiento. Este último comienza

si el estado de resistencia no logra culminar con éxito y consiste en una insuficiencia por parte del cuerpo para hacer frente al estresor (Boonstra, 2013).

Tradicionalmente la respuesta endocrinológica ha sido ampliamente utilizada mediante la medición de hormonas corticoesteroides como el cortisol y se le considera como un método fiable para cuantificar el estrés en animales (Moberg, 2000) debido al papel que estas hormonas juegan al momento de regular aspectos de la respuesta al estresor (Mendoza et al., 2000). La medición se puede hacer mediante dos métodos. Los métodos instantáneos involucran una manipulación de los individuos, que debe durar hasta 3 minutos para evitar alteraciones en los resultados obtenidos, y proveen valores reales al momento de la toma de muestra. Por su parte los métodos integrados son un reflejo del promedio de glucocorticoides que un individuo ha producido en un rango de tiempo específico, y es un método sensible ante situaciones de estrés crónico que presentan niveles de glucocorticoides significativamente mayores. A pesar de la aparente fiabilidad de estos métodos existe una variedad de factores ambientales y fisiológicos que pueden alterar los resultados obtenidos (Dantzer, Fletcher, Boonstra, y Sheriff, 2014), lo que genera la necesidad de otros métodos para medir los niveles de estrés en animales en estado silvestre evitando alteraciones en su comportamiento y fisiología generadas por la manipulación.

Algunas especies, como los leoncillos parecen ser particularmente susceptibles al estrés producido por cambios ambientales producidos por la actividad humana. Particularmente la presencia humana puede afectar el uso del hábitat, así como la manera de relacionarse dentro del grupo (de la Torre, Snowdon, y Bejarano, 2000) lo que a su vez se refleja en una reducción de las poblaciones de leoncillos en áreas con alto impacto humano (de la Torre et al., 2009).

La medición del estrés bajo el que se encuentra una población suele ser una tarea complicada, implique o no una manipulación de los individuos, debido a la susceptibilidad

que los glucocorticoides presentan a alterar sus niveles debido a una amplia variedad de condiciones tanto internas como externas. Los individuos generalmente producen llamados de alarma ante condiciones de estrés, y se ha observado en otros primates y mamíferos que la tasa de producción de estos llamados puede presentar una relación directa con la concentración de glucocorticoides (Blumstein, Patton, y Saltzman, 2005; Boinski, Gross, y Davis, 1999; Cross y Rogers, 2006). Considerando esto, en este estudio evalué si la caracterización de este tipo de llamadas podría ser utilizada como un método no invasivo para generar una aproximación cuantitativa de los niveles de estrés en poblaciones de estos individuos. Como parte de esta caracterización, quise conocer si es que la tasa de llamadas de alarma era diferente entre individuos de distinta edad como se ha reportado en otras especies de mamíferos (Arenz y Leger 2000), y si es que la tasa de llamadas difería entre grupos diferencialmente afectados por actividades humanas.

Objetivos

General:

Aportar al conocimiento disponible respecto a los comportamientos de estrés en
Cebuella pygmaea

Específicos:

- Evaluar si existen diferencias en la frecuencia de llamadas de alarma entre clases de edad
- Evaluar si existen diferencias en la frecuencia de llamadas de alarma entre grupos de leoncillos sometidos a diferentes factores antrópicos.

Área de Estudio

Realicé este estudio con dos grupos de leoncillos ubicados en dos localidades: el primero (SA1) ubicado en la reserva privada Sacha Lodge (00°28'03.7" S, 76°27'38.1" W), en la orilla norte del río Napo y el segundo (SE1) en la comunidad Secoya de Sehuaya (0°17'45.4" S, 76°18'33.3" W) en la orilla sur del río Aguarico. Ambas localidades se encuentran en la provincia de Sucumbíos. La Figura 1 muestra la ubicación de los dos grupos estudiados. Los muestreos se realizaron entre los meses de junio y agosto de 2019. La Tabla 1 muestra la composición de los grupos durante el periodo de muestreo.

Los grupos estudiados se encontraban en hábitats afectados de diferente manera por las actividades humanas. El grupo de la Reserva Privada Sacha Lodge (SA1) ocupa un bosque de galería frondoso y relativamente bien conservado con un flujo moderado-alto de turistas y un manejo de los mismos enfocado a minimizar su impacto sobre el grupo, el cual está habituado a la presencia humana. El turismo en Sacha Lodge consiste en la visita de grupos conformados por un máximo de 8 personas que observan a los leoncillos por aproximadamente 30 minutos a una distancia considerable (aprox. 30 m) del grupo para evitar interferir con las actividades de los monos. Las visitas se dan alrededor de las 4 de la tarde casi a diario, las visitas en horas de la mañana ocurren en muy raras ocasiones. Por otro lado, el grupo de leoncillos en la comunidad Secoya de Sehuaya (SE1) habita un bosque altamente alterado que se distribuye en parches entre asentamientos humanos o sembríos, por lo que los leoncillos perciben constantemente el ruido generado por las actividades humanas pero el contacto directo visual con personas es reducido.

Metodología de la investigación

Observé a los grupos de estudio durante 5 días a la semana por 6 horas diarias entre las 6 am y las 6 pm. Estos muestreos se dieron en tres periodos del día diferentes, realizando dos periodos por día y siguiendo un cronograma para obtener información de todos los periodos. Los periodos se determinaron en: mañana entre las 6h00 y las 10h00, medio día entre las 10h01 y las 14h00 y tarde entre las 14h01 y 18h00.

Durante los muestreos diarios registré el número de llamados de alarma que eran emitidos dentro del grupo durante cada hora a fin de obtener una tasa general de llamadas de alarma por hora de cada grupo. Los muestreos focales los realicé utilizando binoculares para observar a cada uno de los individuos y registrar su comportamiento. Durante cada periodo de muestreo de 3 horas elegí un individuo que se encontrara realizando el comportamiento de interés, es decir llamados de alarma. En cada muestreo focal, registré la edad (adulto, subadulto, juvenil, infante) y, en lo posible, el sexo del individuo seleccionado y procedí a seguir su comportamiento hasta finalizar el periodo de muestreo o hasta que el focal se perdiera de vista durante más de 10 min. Para seleccionar un nuevo focal esperé una hora después de perder al focal anterior. En cada muestreo focal registré la hora de inicio y fin del muestreo, el número de llamados de alarma emitidos por el focal y el tiempo transcurrido entre el primer y el último llamado, así como el tiempo durante el cual el individuo permanecía en vigilancia. Para dar por terminado un registro esperé tres minutos después del último llamado para detener el registro de la duración del comportamiento. Si el individuo emitía algún llamado durante este periodo el registro continuaba, si no lo hacía, daba por terminado el comportamiento y registraba su duración, sin incluir los tres minutos de espera. Además, consideré como estado de vigilia los periodos en los que el individuo observado permanecía en una posición fija y observando su alrededor rápidamente y con atención. Registré el tiempo de vigilia (en seg) dentro del protocolo de la emisión de llamados,

culminando el registro de vigilia cuando el individuo retomaba la actividad que se encontraba realizando antes de darse el evento de alerta.

Finalmente colecté muestras de heces mediante la colocación de redes de malla en la base de árboles a una altura máxima de 50cm. Seleccioné los árboles para poner las redes con base en la observación de la frecuencia con la que los individuos visitaban esos árboles, seleccionando los más visitados. Colecté las muestras revisando las redes cada 15 minutos para evitar que estas fueran utilizadas por escarabajos peloteros. Una vez encontrada una muestra la colocaba en un vial con alcohol al 90% y registraba la hora de colección, el individuo que la produjo, de ser posible, el número de muestra y la fecha de colección. Estas muestras serán posteriormente usadas para realizar un test inmunológico de ELISA para determinar la concentración de cortisol.

Análisis Estadístico

Realicé un ANOVA para comparar la tasa de llamadas de alarma por hora entre grupos y horas del día. Para este análisis inicialmente revisé si los datos cumplían una distribución normal utilizando un test de Shapiro-Wilkin. Al ver que los datos no presentaban una distribución normal procedí a transformar los datos mediante la obtención de la raíz cuadrada, y con estos valores realicé la prueba estadística.

Para el análisis estadístico de los datos de los muestreos focales usé un máximo de tres focales por individuo dentro de un mismo día, estos focales estuvieron separados entre sí por al menos una hora. La depuración la realicé al seleccionar aleatoriamente un muestreo focal entre los que coincidían dentro del rango mínimo de una hora.

Comparé la tasa de llamadas de alarma por minuto de los individuos focales entre clases de edad (adultos y no adultos) mediante un ANOVA. Antes del análisis realicé un test de Shapiro-Wilkin que indicó que los datos no presentaban una distribución normal por lo que transformé los datos mediante la obtención del logaritmo natural negativo de la tasa, valores con los que realicé el test. Finalmente, obtuve las proporciones del tiempo de vigilia de cada muestreo focal y realicé un análisis de correlación de Spearman entre esta variable y la tasa de llamados emitidos. Todos los análisis fueron realizados utilizando el paquete estadístico R.

RESULTADOS

Registré un total de 2574 llamadas de alarma en un total de 128 horas de muestreo para adultos y no adultos de los grupos SA1 y SE1.

No encontré diferencias significativas en la tasa de llamadas de alarma por hora entre grupos ($F=1.694$; $df=1, 44$; $p=0.1999$) pero sí un efecto significativo de la hora del día ($F=3.669$; $df=2, 44$; $p=0.0336$), en los dos grupos la tasa más alta de llamadas de alarma se dio en horas del medio día (10h01 a 14h00). La interacción entre grupo y hora del día no fue significativa ($F=1.065$; $df=2, 44$; $p=0.3534$). Para confirmar esos resultados realicé un test post hoc de Tukey en el que comparé las tasas de llamadas de alarma entre periodos del día y encontré diferencias significativas entre la mañana y el mediodía ($p=0.0308$) y entre el mediodía y la tarde ($p=0.0469$) (Figura 2).

No encontré diferencias significativas entre adultos y subadultos en la tasa de llamados por minuto ($F=0.065$; $df=1, 25$; $p=0.801$). En este análisis no incluí a los juveniles ni a los infantes pues en los focales que hice de los individuos de estas edades no registré llamadas de alarma.

La correlación entre la tasa de llamadas de alarma por minuto y la proporción de tiempo de vigilancia por individuo fue positiva, relativamente alta y significativa ($\rho= 0.712$, $p= 1.603e-06$) (Figura 3).

DISCUSIÓN

Los hábitats usados por los dos grupos de estudio presentan grandes diferencias. La reserva privada Sacha Lodge consiste en un bosque dentro del cual podría habitar una gran variedad de depredadores para los leoncillos (Caine, 1993; Sussman y Kinzey, 1984; Whittaker, 2001; Yáñez-Muñoz, Pozo-Zamora, Sornoza-Molina, y Brito, 2017). Este bosque se encuentra actualmente poco intervenido por actividades humanas, siendo la única el turismo que se da en la zona. Basándome en esto, esperé encontrar una tasa de llamadas de alarma en el grupo de esta localidad más alta en horas de la tarde pues ese era el periodo en el que había mayor presencia de turistas. Sin embargo, lo que encontré fue que la mayor cantidad de llamados de alarma se dio en horas del medio día lo cual sugiere que los leoncillos estarían habituados a las visitas de los turistas.

Por su parte, en el hábitat del grupo SE1 en las orillas del río Aguarico se espera que la diversidad y abundancia de depredadores sean más bajas por lo altamente intervenido que está el sitio (Balée, 2014). A su vez, la alteración de los bosques afectaría también a la disponibilidad de recursos para los leoncillos (de la Torre et al., 2009). Posiblemente el mayor disturbio antropogénico para este grupo es el ruido que producen los motores de canoas que cruzan el río durante todo el día, ya que no existe tráfico de personas en los alrededores del parche de bosque que el grupo habita. Al observar al grupo, los individuos se ponían claramente en alerta cada vez que se escuchaba el paso de un motor, pero el estado de alerta terminaba en cuanto el sonido se alejaba. Con base en la constancia de este ruido esperé que en ese grupo la tasa de llamadas de alarma se mantuviera relativamente constante a lo largo de todo el día. Sin embargo, lo que encontré fue que la tasa fue más alta al medio día.

Considerando las diferencias en las condiciones ambientales en las que se encuentran ambos grupos esperé encontrar una diferencia en los niveles de estrés de los individuos que

se debería reflejar en las tasas de llamadas de alarma. La ausencia de diferencias significativas en las tasas de llamadas de alarma contradijo mis expectativas y genera la necesidad de considerar la reacción comportamental de esta especie ante condiciones de estrés. La habituación fisiológica que se puede dar ante condiciones de estrés crónico y que podría generar la reversión o persistencia de comportamientos (Ruys, Mendoza, Capitano, y Mason, 2004), podría explicar la similitud de comportamientos entre ambos grupos a pesar de las diferencias ambientales.

En general las respuestas a estresores en ambos grupos fueron muy similares, cualquiera que fuera el estresor, un ave volando sobre el grupo, viento fuerte o el ruido de un motor, por ejemplo, por lo menos un individuo del grupo comenzaba a realizar llamadas de alarma. Esto, en ciertas ocasiones conllevaba una respuesta del grupo, con todos los individuos descendiendo en los árboles y permaneciendo alerta. Una vez la situación de estrés terminaba los individuos no tardaban más de un minuto en regresar a sus actividades. El análisis de la concentración de cortisol fecal facilitará una evaluación más profunda del efecto posible de la habituación en los grupos de estudio (Mendoza et al., 2000; Tamashiro, Nguyen, y Sakai, 2005).

La correlación positiva entre la tasa de llamadas de alarma y el comportamiento de vigilancia sugiere que los individuos que se encuentran en un estado de vigilia de forma más frecuente emiten una mayor cantidad de llamadas de alarma. Como expresé anteriormente los llamados de alarma son vocalizaciones que los leoncillos generan ante la presencia de estresores. La correlación positiva que obtuve podría interpretarse como una cadena en la que una mayor cantidad de estresores genera un aumento en la emisión de llamados de alerta junto con una mayor proporción de tiempo en estado de vigilancia como producto de la continua exposición a estresores. La constante exposición a estresores a su vez conllevaría un aumento en los niveles de estrés de los individuos, por lo que se podría plantear una relación

directa entre la tasa de llamadas de alarma, el comportamiento de vigilancia y los niveles de estrés presentes en un individuo o población de leoncillos (Barros, Maior, Huston, y Tomaz, 2008). Esta suposición podría eventualmente probarse al analizar la concentración de glucocorticoides de cada individuo focal y correlacionarla con la información disponible para llamados de alerta y comportamiento de vigilancia.

Por último, la ausencia de diferencias significativas en las tasas de llamadas de alarma entre clases de edad se debe, en parte, al tipo especial de vocalizaciones que emiten los infantes y juveniles (*babbling* o balbuceo) que se podrían resumir como una mezcla de los llamados utilizados por individuos mayores, emitidos fuera de contexto (Snowdon y Elowson, 2001) dificultando la identificación de las llamadas de interés. Adicionalmente, tanto los individuos adultos como los subadultos, que sí emiten llamadas de alarma en el contexto correcto, se encuentran en una madurez vocal similar (Pola y Snowdon, 1975) y es esta madurez vocal similar la que podría explicar la falta de diferencias significativas entre los rangos de edad.

CONCLUSIONES

La medición de estrés mediante indicadores precisos que no involucren la manipulación de individuos facilita el estudio de especies de primates y otros animales que generen algún tipo de vocalización de alerta (Dantzer et al., 2014) debido a que presenta la posibilidad de generar una mayor cantidad de información con una menor probabilidad de generar efectos negativos sobre los individuos estudiados. Particularmente para los leoncillos el análisis del estrés y los comportamientos relacionados al mismo resultan de suma importancia debido a su vulnerabilidad ante alteraciones ambientales antropogénicas. A pesar de que no encontré diferencias significativas dentro de los grupos o entre los mismos en la tasa de llamadas de alarma y en el tiempo de vigilia, la correlación significativa entre estas variables sugiere que estas podrían ser indicadores confiables del nivel de estrés de los individuos y grupos de esta especie. Esto debe ser validado con futuras mediciones de cortisol de las muestras de heces obtenidas de los grupos.

RECOMENDACIONES

Debido a que el tamaño de muestra que utilicé en este estudio no fue grande, es necesario complementar esta información con nuevos datos que puedan apoyar y complementar los resultados que obtuve. Además, este estudio apunta a la necesidad de realizar la medición de glucocorticoides como indicadores de estrés en estos individuos para complementar los resultados y evaluar objetivamente el uso de llamadas de alarma como indicadores del nivel de estrés en esta especie.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arenz CL, Leger DW (2000) Antipredator vigilance of juvenile and adult thirteen-lined ground squirrels and the role of nutritional need. *Animal Behaviour* 59:535–541
- Balée, W. (2014). Historical ecology and the explanation of diversity: Amazonian case studies. En *Applied ecology and human dimensions in biological conservation* (pp. 19-33). Springer.
- Barros, M., Maior, R. S., Huston, J. P., y Tomaz, C. (2008). Predatory stress as an experimental strategy to measure fear and anxiety-related behaviors in non-human primates. *Reviews in the Neurosciences*, 19(2-3), 157-170.
- Blumstein, D. T., Patton, M. L., y Saltzman, W. (2005). Faecal glucocorticoid metabolites and alarm calling in free-living yellow-bellied marmots. *Biology Letters*, 2(1), 29-32.
- Boinski, S., Gross, T. S., y Davis, J. K. (1999). Terrestrial predator alarm vocalizations are a valid monitor of stress in captive brown capuchins (*Cebus apella*). *Zoo Biology*, 18(4), 295-312. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2361\(1999\)18:4<295::AID-ZOO4>3.0.CO;2-5](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2361(1999)18:4<295::AID-ZOO4>3.0.CO;2-5)
- Boonstra, R. (2013). Reality as the leading cause of stress: Rethinking the impact of chronic stress in nature. *Functional Ecology*, 27(1), 11-23.
- Caine, N. (1993). Flexibility and cooperation as unifying themes in *Saguinus* social organization and behaviour: The role of predation pressures. En Rylands A. B. (eds) *Marmosets and Tamarins: Systematics, Ecology and Behaviour*. Oxford Univ. Press.
- Cross, N., y Rogers, L. J. (2006). Mobbing vocalizations as a coping response in the common marmoset. *Hormones and Behavior*, 49(2), 237-245.
- Dantzer, B., Fletcher, Q. E., Boonstra, R., y Sheriff, M. J. (2014). Measures of physiological stress: A transparent or opaque window into the status, management and conservation of species? *Conservation Physiology*, 2(1). <https://doi.org/10.1093/conphys/cou023>

- de la Torre, S. (2000). *Primates de la Amazonía del Ecuador* (Vol. 1). Simbioe.
- de la Torre, S., y Snowdon, C. T. (2009). Dialects in pygmy marmosets? Population variation in call structure. *American Journal of Primatology*, 71(4), 333-342.
<https://doi.org/10.1002/ajp.20657>
- de la Torre, S., Snowdon, C. T., y Bejarano, M. (2000). Effects of human activities on wild pygmy marmosets in Ecuadorian Amazonia. *Biological Conservation*, 94(2), 153-163.
- de la Torre, S., y Tirira, D. G. (2018). Cebuella pygmaea. En *Estado de conservación de los primates del Ecuador* (Publicación especial sobre los mamíferos del Ecuador 12., pp. 25-31). Quito: Grupo de Estudio de Primates del Ecuador / Asociación Ecuatoriana de Mastozoología.
- de la Torre, S., Yépez, P., y Snowdon, C. T. (2009). Conservation Status of Pygmy marmosets (*Cebuella pygmaea*) in Ecuador. En Ford S., Porter L., Davis L. (eds) *The Smallest Anthropoids* (pp. 451-464). Developments in Primatology: Progress and Prospects. Springer, Boston, MA
- Mendoza, S. P., Capitanio, J. P., y Mason, W. A. (2000). Chronic social stress: Studies in non-human primates. *Biology of animal stress: Basic principles and implications for animal welfare*, 227-247.
- Mitani, J. C., y Watts, D. (1997). The Evolution of Non-Maternal Caretaking among Anthropoid Primates: Do Helpers Help? *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 40(4), 213-220. Recuperado de JSTOR.
- Moberg, G. P. (2000). Biological response to stress: Implications for animal welfare. En Moberg, G. P. y Mench, J. A. (eds) *The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare*, 1. CABI. Pp. 21.
- National Research Council. (2008). *Recognition and alleviation of distress in laboratory animals*. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK4027/>

- Pola, Y. V., y Snowdon, C. T. (1975). The vocalizations of pygmy marmosets (*Cebuella pygmaea*). *Animal Behaviour*, 23, 826-842. [https://doi.org/10.1016/0003-3472\(75\)90108-6](https://doi.org/10.1016/0003-3472(75)90108-6)
- Ruys, J. D., Mendoza, S. P., Capitanio, J. P., y Mason, W. A. (2004). Behavioral and physiological adaptation to repeated chair restraint in rhesus macaques. *Physiology y behavior*, 82(2-3), 205-213.
- Rylands, A. B., Mittermeier, R. A., Bezerra, B. M., Paim, F. P., y Queiroz, H. L. (2013). Family Cebidae (squirrel monkeys and capuchins). *Handbook of the Mammals of the World*, 3, 348-413.
- Snowdon, C. T., y Cleveland, J. (1980). Individual recognition of contact calls by pygmy marmosets. *Animal Behaviour*, 28(3), 717-727. [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(80\)80131-X](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(80)80131-X)
- Snowdon, C. T., y Elowson, A. M. (2001). «Babbling» in Pygmy Marmosets: Development after Infancy. *Behaviour*, 138(10), 1235-1248.
- Soini, P. (1982). Ecology and Population Dynamics of the Pygmy Marmoset, *Cebuella pygmaea*. *Folia Primatologica*, 39(1-2), 1-21. <https://doi.org/10.1159/000156066>
- Sussman, R. W., y Kinzey, W. G. (1984). The ecological role of the Callitrichidae: A review. *American Journal of Physical Anthropology*, 64(4), 419-449.
- Tamashiro, K. L., Nguyen, M. M., y Sakai, R. R. (2005). Social stress: From rodents to primates. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 26(1), 27-40.
- Tirira, D. G. (2018). Una revisión sobre la presencia y distribución de la familia Callitrichidae (Primates) en Ecuador. En Urbani B., Kowalewski M., de Cunha R. G. T., de la Torre, S. y Cortés-Ortiz L. (eds) *La primatología en Latinoamérica 2-A Primatología na America Latina 2. Tomo II Costa Rica-Venezuela*, Ediciones IVIC. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC) Caracas, Venezuela. Pp.

427-440.

- Townsend, W. R. (2001). *Callithrix pygmaea*. *Mammalian Species*, 2001(665), 1-6.
[https://doi.org/10.1644/1545-1410\(2001\)665<0001:CP>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1644/1545-1410(2001)665<0001:CP>2.0.CO;2)
- von Borell, E., Bünger, B., Schmidt, T., y Horn, T. (2009). Vocal-type classification as a tool to identify stress in piglets under on-farm conditions. *Animal Welfare* 18(4), 407-410(10).
- Whittaker, A. (2001). Notes on the poorly-known Buckley's Forest Falcon *Micrastur buckleyi* including voice, range and first Brazilian records. *BULLETIN-BRITISH ORNITHOLOGISTS CLUB*, 121(3), 198-207.
- Yáñez-Muñoz, M. H., Pozo-Zamora, G. M., Sornoza-Molina, F., y Brito, M. (2017). Dos nuevos registros de vertebrados en la dieta de *Corallus hortulanus* (Squamata: Boidae) en el noroeste de la Amazonía. *Cuad. herpetol.* 31(1): 1-7.
- Youlatos, D. (1999). Positional behavior of *Cebuella pygmaea* in Yasuni National Park, Ecuador. *Primates*, 40(4), 543-550.
- Ziegler, T. E., Snowdon, C. T., y Bridson, W. E. (1990). Reproductive performance and excretion of urinary estrogens and gonadotropins in the female pygmy marmoset (*Cebuella pygmaea*). *American Journal of Primatology*, 22(3), 191-203.

ANEXO A: TABLAS

Tabla 1. Composición de los grupos estudiados

Grupo	Machos adultos	Hembras adultas	Subadultos	Juveniles	Infantes
SA1	1	1	2	2	2
SE1	1	1	2	2	0

Se muestra la composición total de los grupos para el final de los periodos de muestreo.

Tabla 2. Horas de muestreo para cada grupo por periodo del día

Grupo	Mañana	Mediodía	Tarde	Periodo de estudio
SA1	44	9	21	3 – 20 de junio 2019 6 – 16 de agosto 2019
SE1	23	4	27	4 – 19 de julio de 2019
Total	67	13	48	34 días de estudio entre el 3 de junio y el 16 de agosto de 2019

Se muestra la cantidad total de horas de muestreo empleadas para cada grupo y cada periodo del día.

ANEXO B: FIGURAS

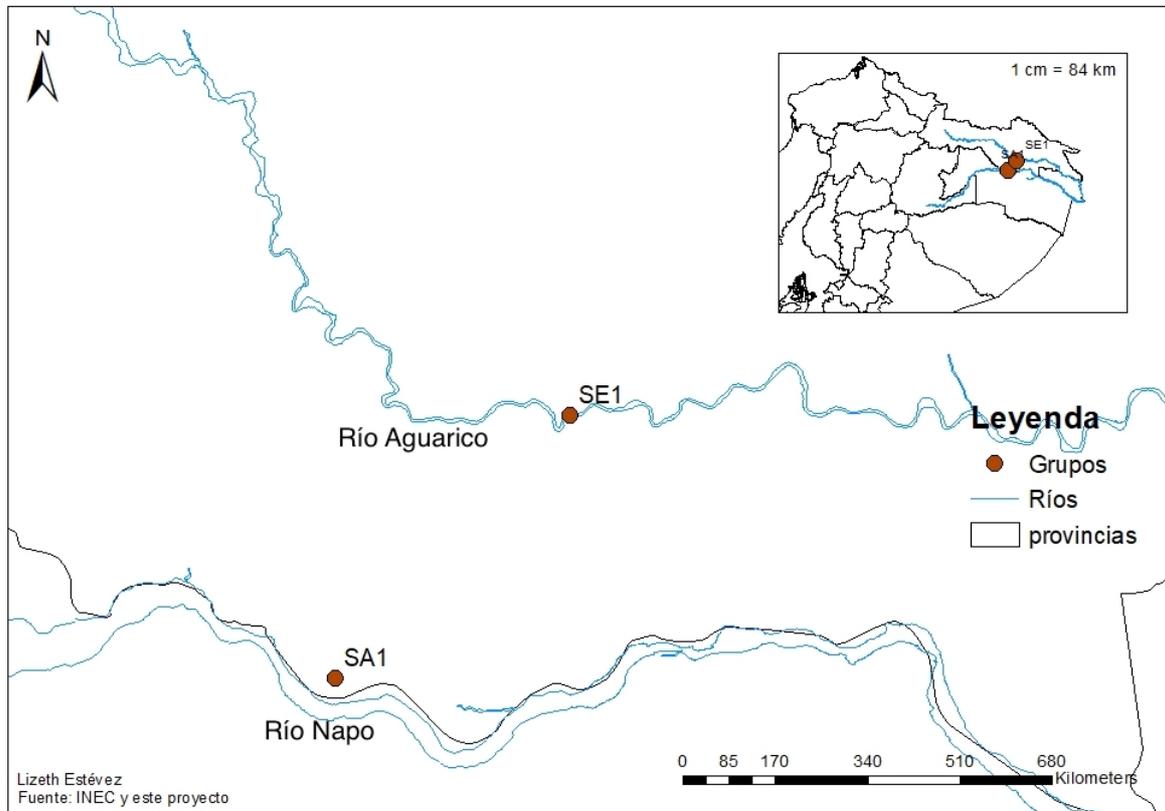


Figura 1. Ubicación de los grupos de estudio SA1 y SE1.

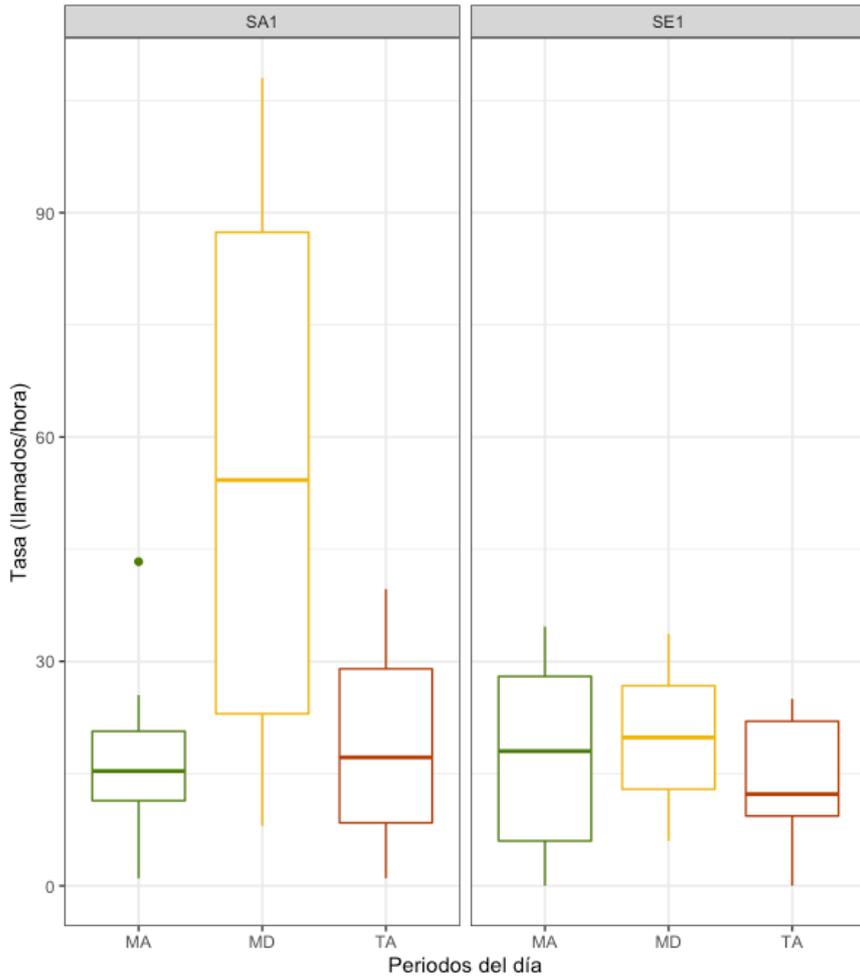


Figura 2. Tasa de llamados de alarma por hora registrados por periodo del día en cada grupo.

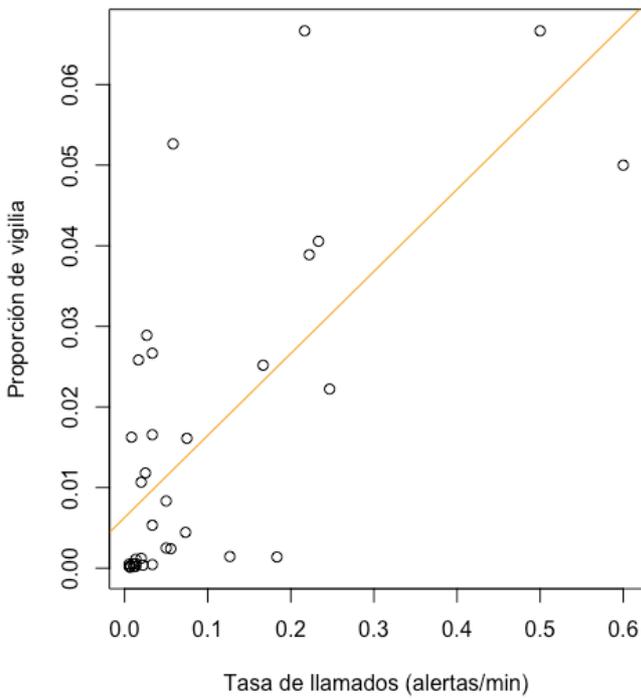


Figura 3. Correlación entre la proporción de tiempo de vigilia y la tasa de llamados de alarma registrados por minuto.