



UNIVERSIDAD REGIONAL AMAZÓNICA IKIAM

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA VIDA

CARRERA INGENIERÍA EN ECOSISTEMAS

**EVALUACIÓN DEL ESTRÉS FISIOLÓGICO DEL MONO
CAPUCHINO DE FRENTE BLANCA (*CEBUS YURACUS*) EN
CONDICIONES DE CAUTIVIDAD Y SEMI-LIBERTAD EN LA
AMAZONÍA ECUATORIANA**

Proyecto de investigación previo a la obtención del Título de:

INGENIERA EN ECOSISTEMAS

AUTOR: RENATA CAROLINA RODRIGUEZ GUTIÉRREZ

TUTOR: PhD. SARA ÁLVAREZ SOLAS

NAPO-ECUADOR

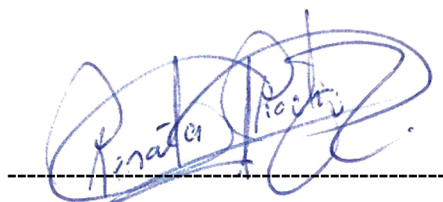
2023

DECLARACIÓN DE DERECHO DE AUTOR, AUTENTICIDAD Y RESPONSABILIDAD

Yo, Renata Carolina Rodríguez Gutiérrez, con documento de identidad N° 1724262140, declaro que los resultados obtenidos en la investigación que presento en este documento final, previo a la obtención del título de Ingeniería en ecosistemas, son absolutamente inéditos, originales, auténticos y personales.

En virtud de lo cual, el contenido, criterios, opiniones, resultados, análisis, interpretaciones, conclusiones, recomendaciones y todos los demás aspectos vertidos en la presente investigación son de mi autoría y de mi absoluta responsabilidad.

Tena, 6 de marzo de 2023



Renata Carolina Rodríguez Gutiérrez

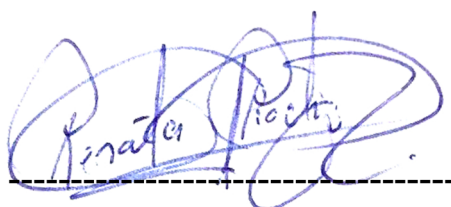
1724262140

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Yo, Renata Carolina Rodríguez Gutiérrez, con documento de identidad N° 1724262140, en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación: EVALUACIÓN DEL ESTRÉS FISIOLÓGICO DEL MONO CAPUCHINO DE FRENTE BLANCA (CEBUS YURACUS) EN CONDICIONES DE CAUTIVIDAD Y SEMI-LIBERTAD EN LA AMAZONÍA ECUATORIANA de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN, reconozco a favor de la Universidad Regional Amazónica Ikiam una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Así mismo autorizo a la Universidad Regional Amazónica Ikiam para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el Repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el Art. 114 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Tena, 6 de marzo del 2023



Renata Carolina Rodríguez Gutiérrez

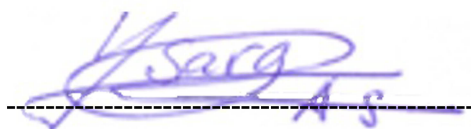
1724262140

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Certifico que el Trabajo de Integración Curricular Titulado: EVALUACIÓN DEL ESTRÉS FISIOLÓGICO DEL MONO CAPUCHINO DE FRENTE BLANCA (CEBUS YURACUS) EN CONDICIONES DE CAUTIVIDAD Y SEMI-LIBERTAD EN LA AMAZONÍA ECUATORIANA, en la modalidad: (artículo), fue realizado por: Renata Carolina Rodríguez Gutiérrez, bajo nuestra dirección.

El mismo ha sido revisado en su totalidad y analizado por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto, cumple con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad Regional Amazónica Ikiam, para su entrega y defensa.

Tena, 6 de marzo de 2023



PhD. Sara Álvarez Solas

C.I: 1756474969

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Amazonía por haberme acogido durante estos años y haberme mostrado un poco acerca de la existencia. De manera muy especial agradezco a mis padres, a mis hermanos y a mi pareja que han sido un pilar de amor y apoyo fundamental durante mi vida y mi carrera, son parte de mi alma.

A mis queridos docentes que me han inspirado cada día y me han enseñado la importancia de la vida y los ecosistemas, un agradecimiento fraterno a mis compañeros y hermanos ecosistemólogos, juntos lucharemos por el planeta. Finalmente agradezco a mi tutora quien me ha enseñado que todo es posible cuando buscas la conservación de la vida.

DEDICATORIA

Dedico esta investigación a los ecosistemas y a la conservación de la vida silvestre, principalmente de los primates que han sido mi inspiración a lo largo de mi carrera universitaria. De manera especial dedico este trabajo a todos mis seres queridos, principalmente a mis padres que me han apoyado indudablemente durante mi formación académica y durante toda mi vida.

Por todas las especies y los ecosistemas que hacen posible la vida en el planeta

Tierra, dedico mi vida a ustedes.

TABLA DE CONTENIDO

CARÁTULA	
DECLARACIÓN DE DERECHO DE AUTOR.....	ii
AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL.....	iii
CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN	
CURRICULAR.....	iv
AGRADECIMIENTOS.....	v
DEDICATORIA.....	vi
TABLA DE CONTENIDO.....	vii
ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE ACRÓNIMOS.....	xi
RESUMEN.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
INTRODUCCIÓN	1
MATERIALES Y MÉTODOS.....	5
Área De Estudio.....	5
Puerto Misahuallí.....	5
Paseo De Los Monos.....	6
Zoológico Del Arca.....	7
Centro De Rescate Amazónico.....	7
Zoológico Tarqui.....	8
Sujetos De Estudio.....	8
Toma De Muestras Y Datos En Campo.....	9
Extracción De Cortisol Fecal.....	10
Análisis Estadístico.....	11
RESULTADOS.....	13
Análisis Cortisol.....	13
Análisis Parasitario.....	15
Indicadores De Bienestar.....	16
DISCUSIÓN.....	18
Análisis Cortisol.....	18
Análisis Parasitario.....	21
Indicadores De Bienestar.....	23
CONCLUSIÓN.....	27

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Condiciones de vida y centros de tenencia de los sujetos de estudio en función de su sexo, categoría de edad, área de vida, número de individuos.....	9
Tabla 2: Definición de comportamientos estereotipados, afiliativos, agonísticos e interacción con el ser humano considerados en el etograma.....	10
Tabla 3: Resultados estadísticos de las diferencias significativas de concentración de cortisol entre las áreas de estudio.....	15

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Mapa localización áreas de estudio.....	5
Figura 2: Concentración de cortisol (ng/mL).....	13
Figura 3: Diferencias significativas de la concentración de cortisol (ng/mL) entre las áreas de estudio.....	14
Figura 4: Parásitos registrados en el estudio.....	15
Figura 5: Correlación entre el nivel de cortisol (ng/mL) y la carga parasitaria (#parásitos/g de muestra) por individuo.....	16
Figura 6: Biplot análisis de componentes principales (PCA).....	17

RESUMEN

La fisiología individual de los primates está regulada por señales ambientales y sociales. Cuando éstos y otros factores provocan condiciones estresantes, la glándula suprarrenal aumenta la producción de glucocorticoides, como el cortisol. El estrés a largo plazo está relacionado con el debilitamiento del sistema inmunológico, así como, elevadas cargas parasitarias y problemas conductuales. Para evaluar el estrés fisiológico del mono capuchino de frente blanca analizamos el comportamiento de 33 individuos ubicados en 6 grupos de primates en las provincias de Napo y Pastaza, en diferentes condiciones de vida (cautividad y semilibertad, tamaño de grupo y cercanía con humanos) a través del método *Ad libitum*, registrando principalmente interacciones sociales y comportamiento anómalos. Adicionalmente, medimos el nivel de cortisol mediante una prueba ELISA, y evaluamos la carga parasitaria con el método formol éter de 94 muestras fecales. Encontramos mayor nivel de cortisol (90.32 ng/mL) y de parásitos en el grupo de primates en semi-libertad que se encuentran dentro del área urbana (Misahuallí) con una alta interacción con turistas y gente local. Por otro lado, registramos un nivel de cortisol significativamente mayor en las hembras del estudio en comparación a los machos (U Mann Whitney; $W = 200$, $p < 0.01$), esto relacionado a las hembras en estado de gestación, nacimiento y cuidado de crías. Adicionalmente, encontramos que el cortisol fue mas elevado en individuos aislados socialmente, más longevos y fisiológicamente deteriorados. Registramos que las interacciones afiliativas actúan en contra de las estereotipias y el cortisol, por lo que el comportamiento social es un indicador de bienestar clave. Este estudio contribuye al Plan de Acción para la conservación de los primates del Ecuador y al Plan de manejo de los monos capuchinos de Misahuallí. Estos resultados nos advierten sobre el manejo que se esta teniendo con las poblaciones cautivas y semi-libres de primates, además del efecto fisiológico que podemos tener los humanos sobre la vida silvestre.

Palabras clave: Cortisol, carga parasitaria, estereotipias, bienestar, cautiverio, conservación, primates.

ABSTRACT

Individual primate physiology is regulated by environmental and social cues. When these and other factors provoke stressful conditions, the adrenal gland increases the production of glucocorticoids, such as cortisol. Long-term stress is associated with a weakened immune system, as well as elevated parasite loads and behavioral problems. To evaluate the physiological stress of white-fronted capuchin monkeys, we analyzed the behavior of 33 individuals located in 6 primate groups in the provinces of Napo and Pastaza, in different living conditions (captivity and semi-freedom, group size and proximity to humans) through the Ad libitum method, registering mainly social interactions and anomalous behavior. Additionally, we measured the cortisol level using an ELISA test, and evaluated the parasite load with the formalin ether method of 94 fecal samples. We found higher levels of cortisol (90.32 ng/mL) and parasites in the group of semi-free-living primates found in the urban area (Misahuallí) with a high interaction with tourists and local people. On the other hand, we registered a significantly higher cortisol level in the females of the study compared to the males (Mann Whitney U; $W= 200$, $p < 0.01$), this related to females in gestation, birth and care of offspring. Additionally, we found that cortisol was higher in socially isolated, longer-lived and physiologically impaired individuals. We registered that affiliative interactions act against stereotypes and cortisol, making social behavior a key indicator of well-being. This study contributes to the Action Plan for the conservation of primates in Ecuador and to the Misahuallí Capuchin Monkey Management Plan. These results warn us about the management of captive and semi-free primate populations, as well as the physiological effect that humans can have on wildlife.

Keywords: Cortisol, parasite load, stereotypes, welfare, captivity, conservation, primates.

Introducción

La pérdida de hábitat junto con el tráfico de vida silvestre, mascotismo y cacería ilegal relega a muchas especies a vivir en áreas fragmentadas, espacios urbanos o llegar a centros de rescate y zoológicos [1, 2]. El aumento de interacción entre humanos y estas especies [3] las conduce a alteraciones comportamentales provocadas por el estrés, que a menudo genera desequilibrios hormonales y facilita la transmisión de enfermedades (virus, bacterias y parásitos), especialmente entre primates humanos y no humanos [4]. Dicho escenario es más frecuente en condiciones de cautividad, donde los primates son uno de los grupos más afectados, presentando altas tasas de mortalidad [5, 6, 7].

La fisiología individual de los primates puede estar regulada por señales ambientales, sociales y fisiológicas como los cambios de hábitat, temperaturas extremas, escasez de recursos, afectaciones a la estructura del grupo [8] y el estado reproductivo [9]. Cuando éstos y otros factores provocan condiciones estresantes, la glándula suprarrenal aumenta la producción de glucocorticoides, como el cortisol [10]. La respuesta al estrés es fisiológicamente costosa, llegando a inhibir el crecimiento, afectar el funcionamiento del sistema inmunológico o inhibir funciones reproductivas [8]. De igual manera el estrés a largo plazo puede estar relacionado con diversas enfermedades, estrés metabólico, problemas conductuales [9], deterioro de la función cognitiva [11]. Así mismo los altos niveles de estrés provocan una mayor susceptibilidad a infecciones parasitarias en respuesta al debilitamiento del sistema inmunológico [12], y recíprocamente éstas pueden generar niveles de estrés muy elevados comprometiendo la nutrición y la respuesta inmunitaria, afectando la supervivencia del individuo [13, 14, 15]. Los grandes incrementos en la carga y riqueza parasitaria pueden llegar a afectar la conservación de muchas especies incluyendo los primates [16, 17], además de influir en la ecología de los mismos, alterando la densidad poblacional [4], la reproducción [18] y el comportamiento [19].

Los parásitos gastrointestinales se encuentran comúnmente en poblaciones de primates tanto cautivas como silvestres [20], pero en cautiverio su afectación suele ser mayor, debido al contacto continuo con los humanos [17, 18]. Por lo que, se ha propuesto al estrés causado por la permanencia en espacios pequeños y el contacto con personas,

como una de las causas de la gran prevalencia de infecciones parasitarias en primates bajo cuidado humano [21]. Actividades como el turismo, además, da lugar a interfaces entre animales y humanos [3], que pueden facilitar la transmisión de parásitos [6, 22, 23].

Por otro lado, los primates no humanos establecen relaciones sociales complejas basadas en interacciones afiliativas, agresivas y sumisas [24]. Las relaciones afiliativas fuertes y duraderas se han asociado con una mayor longevidad, una menor transmisión de enfermedades y mayor natalidad [25]. Por el contrario, los estresores sociales como la agresión y el aislamiento se han asociado con la supresión inmunológica, el deterioro cardiovascular y la supresión reproductiva [26]. Los monos de bajo rango pueden experimentar más estresores diarios que los de alto rango, ya que su acceso a recursos como comida, compañeros sociales y apoyo en conflictos puede ser limitado [27]. Por lo que se considera que el comportamiento social de los primates es un importante indicador de bienestar [28]. Así mismo, la producción de glucocorticoides puede ser desencadenada por factores ambientales y psico-sociales como peleas y subordinación social [13]. En especies de capuchinos como *Cebus apella* en estado silvestre se ha registrado que los cambios en la estructura del grupo y la competencia intra-específica por reproducción dio como resultado una mayor tasa de agresión y un aumento significativo en los niveles de cortisol [29]. Por otro lado, las condiciones ambientales, también pueden tener un efecto sobre el estrés en los primates, en *Alouatta pigra* se ha evidenciado un mayor nivel de cortisol en época seca, cuando existe menor disponibilidad de los recursos, al contrario de la época lluviosa donde hay mas disponibilidad de recursos y se presentaron menos niveles de cortisol, posiblemente por un menor estrés en los monos [30].

Los animales en cautiverio enfrentan varias alteraciones en sus patrones de comportamiento naturales y condiciones ecológicas que pueden aumentar el estrés como las estructuras sociales modificadas [31], el área de vida y la dieta. Se ha registrado que primates en áreas fragmentadas y cautividad representan mayores niveles de cortisol en relación a las poblaciones en bosques conservados [10]. Los primates deben cumplir con ciertos requisitos energéticos, que se reflejen en factores físicos y socio ecológicos, de modo que equilibren su tasa metabólica basal con el gasto de energía [32]. En muchos centros zoológicos no se cumplen dichos requisitos energéticos, por lo que se han implementado diferentes tipos de enriquecimiento

ambiental y alimenticio que promueva la sociabilidad y el bienestar de los primates y actúe en contra de las estereotipias y el estrés [33]. Las estereotipias o comportamientos anómalos son conductas que los animales presentan de forma repetitiva fuera del patrón de su comportamiento natural [34], tales como, caminar de un lado al otro ("*passing*"), la automutilación, el rascado ininterrumpido y frecuente, entre otras. Dichas estereotipias se han relacionado positivamente con el aumento de la concentración de las hormonas del estrés [35]. Está ampliamente aceptado que las estereotipias observadas en animales confinados son una respuesta a la frustración que experimenta el individuo cuando se le priva de oportunidades para realizar comportamientos presentes en libertad [36].

El estudio comportamental es clave para determinar el bienestar, así como evaluar el estilo dinámico de interacción de un animal con su entorno [37]. Se han sugerido múltiples índices que deben implementarse en conjunto para inferir el bienestar [38], que permita construir una imagen clara de cómo el individuo responde e interactúa con su entorno. Honess y Marin (2006) proponen que los índices de evaluación de bienestar deben ser medidas cuantificables y objetivas, que incluyan comparaciones tanto fisiológicas como conductuales [39]. En la mayoría de los mamíferos, incluidos los primates, en situaciones de estrés, se elevan los glucocorticoides siendo el principal el cortisol, por lo que constituye un marcador deseable cuando se busca determinar niveles de bienestar [40].

En el Ecuador existen 23 especies de primates [41], cuya importancia ecológica se refleja en los roles fundamentales que cumplen como dispersores de semillas, polinizadores y dentro de la cadena trófica [42, 43], por lo que su conservación es vital para mantener la estructura y la funcionalidad de los ecosistemas, así como la restauración de los mismos. El mono capuchino de marañón *Cebus yuracus*, habita en las estribaciones orientales de los Andes [44], con un rango altitudinal de 200 a 2515 metros [43, 45]. Es una especie diurna, arborícola y gregaria (de 35 a 54 individuos) [46]. Su dieta es omnívora a base de frutos y semillas, por lo que es común el uso de herramientas para conseguir alimento (objetos del entorno, como piedras o ramas, que son usados para abrir semillas o romper los frutos), puesto que los capuchinos se alimentan de semillas de gran tamaño, como *Oenocarpus bataua* o *Socratea exorrhiza* [46, 47, 48]. También se alimenta de insectos (como avispas), otros artrópodos y pequeños vertebrados [46]. En monos capuchinos los machos presentan mayor rango

de dominancia, a pesar de que ambos sexos presentan cierta jerarquía lineal, en el caso de las hembras se debe a la filopatría femenina que les obliga a mantenerse en el mismo grupo durante toda su vida [47]. Los grupos usualmente ocupan áreas de vida de alrededor de 240 hectáreas [49]. Los monos capuchinos presentan una gran flexibilidad para vivir en hábitats fragmentados [44, 47] y es de las pocas especies registradas bajando al suelo [48]. Lo que la convierte en una especie muy vulnerable a la depredación y captura, facilitando su tráfico ilegal [50]. Su categoría de amenaza subió de casi Amenazado a Vulnerable [51] en la actual edición de la lista roja de los mamíferos del Ecuador. En el ámbito internacional, CITES [52] lo incluye dentro del Apéndice II, según el cual es una especie cuyo comercio debe controlarse a fin de no afectar su supervivencia [47]. En el Ecuador es la segunda especie más traficada luego de *Saimiri cassiquiarensis* para fines de mascotismo [50], obligándola a vivir en mayor contacto con los humanos, siendo de las más ocurrentes en los centros de tenencia como zoológicos o hasta áreas urbanas como en Puerto Misahuallí - Ecuador [17]. A pesar de ser una especie de amplia distribución, no se tienen datos de referencia de los niveles de cortisol en la especie. Sin embargo, es una de las especies más comunes en centros de tenencia de animales [53].

Para que las estrategias de conservación sean eficaces es importante articular acciones dentro de planes estratégicos, como el *Plan de acción para la conservación de los primates del Ecuador* [54], a nivel nacional, o el *Plan de manejo de los monos de Misahuallí*, a nivel local. Estos programas destacan la importancia de los primates y de la elaboración de protocolos de conservación *in situ* y *ex situ*, así como la generación de políticas de manejo a nivel local, nacional y regional. Este estudio plantea el uso de los niveles hormonales de cortisol en heces, la carga parasitaria, la presencia de comportamientos estereotipados o anómalos, la interacción afiliativa, el área de vida, el número de individuos por grupo y el contacto con el ser humano como indicadores del estrés fisiológico y de bienestar en la especie *Cebus yuracus* en diferentes condiciones de semi-libertad y cautividad. Los resultados de esta investigación podrán orientar el manejo de primates en áreas fragmentadas, urbanas y centros de tenencia a través de indicadores de bienestar que junto con el monitoreo y el enriquecimiento ambiental puedan ayudar a combatir el estrés *ex situ*.

Materiales y métodos

Área de estudio

Para la toma de datos de esta investigación se realizó un levantamiento de información para recoger una muestra representativa de monos capuchinos en cautividad y semi-libertad en centros de tenencia de animales en la región Amazónica, provincias de Napo y Pastaza. Algunos de los centros más importantes, con presencia de *Cebus yuracus*, y con buena accesibilidad, fueron el centro de rescate Amazonico, el Paseo de los monos, el zoológico El Arca, y el zoológico Tarqui. Adicionalmente, se incluyó el grupo de monos capuchinos del Puerto Misahuallí que viven en condiciones de semi-libertad en un área urbana (Figura 1).

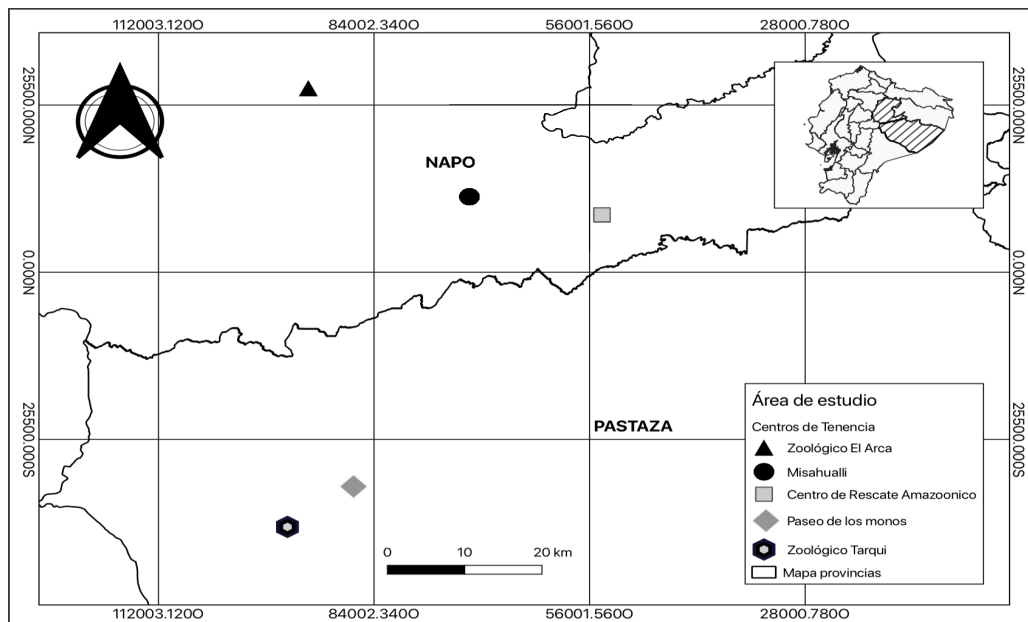


Figura 1. Mapa localización áreas de estudio, provincia de Napo (-0.986282 N, -77.794982 W): Zoológico el Arca, Misahuallí y Centro de Rescate Amazonico. Provincia de Pastaza (-1.504399N, -77.995152 W): Centro de Rescate Paseo de los monos y Zoológico Tarqui.

Elaboración: Rodríguez Renata, 2022.

Puerto Misahuallí

El primer grupo en semi-libertad se encuentra en Puerto Misahuallí en la provincia de Napo (-1.032511N, -77.669576W) con una temperatura media anual de 23.8 °C y una

precipitación media anual de 4330 mm [55]. Misahuallí se caracteriza por ser un área urbana donde vive un grupo de 11 monos capuchinos en semi-libertad, incluida una hembra geronte que vive aislada. El grupo de primates se distribuye por la plaza, la playa y el bosque en aproximadamente 3 hectáreas. Al ser un entorno urbano su área de alimentación natural es limitada. Se los ha registrado ingiriendo snacks, dulces, pan, cloro y otros alimentos fuera de su dieta natural (Cordallini & Álvarez-Solas, datos en preparación). La mala alimentación, junto con electrocuciones, atropellamientos, enfermedades, endogamia y otras problemáticas se han vuelto una amenaza letal para la población de monos (R. Rodríguez, obs. pers; Cordallini et al., datos en preparación). Al ser un entorno semi urbanizado, cuenta con un pequeño fragmento de bosque que llega hasta la playa del río donde los monos forrajea en la búsqueda de insectos y aprovechan los árboles frutales de temporada, aunque la mayor parte del tiempo se los encuentra en la ciudad donde consiguen alimentación artificial fácilmente. Los monos capuchinos son un importante atractivo turístico para la ciudad, siendo su principal ingreso económico. Al interactuar a diario con los turistas y gente local se ha observado un incremento en el aprovisionamiento de alimentos artificiales y a su vez la transmisión de enfermedades [56].

Paseo de los monos

Este centro se localiza en la ciudad del Puyo (-1.485922 N, -77.964325 W) provincia de Pastaza, con una temperatura media anual de 21.1°C y una precipitación media anual de 2233 mm [55]. El centro de rescate tiene un área de 3 hectáreas de bosque, el 70% del área está constituida por amplios recintos donde viven los animales. Dichos recintos cuentan enriquecimiento ambiental de túneles de malla que se conectan con dos extremos de las jaulas alrededor del bosque, en un semicírculo de 15 m. El centro acoge principalmente a monos araña, chorongos y capuchinos, contando con un aproximado de 200 individuos, la mayoría de las jaulas son compartidas entre las diferentes especies de primates. El centro presenta animales en condiciones de semi-libertad como *Cebus yuracus* y *Nasua nasua* que dependen directamente del centro para su alimentación y *Saimiri cassiquiarencis* que viven en grupo libremente. Evaluamos monos capuchinos libres que interactúan directamente con los monos en cautividad, desde dentro y fuera de las jaulas, para alimentarse, jugar, acicalarse o buscar conflicto. Algunos monos capuchinos conviven dentro de las jaulas con especies como *Lagothrix lagotricha*, que representan un mayor rango de jerarquía. El aprovisionamiento de alimentación para los

primates es de dos veces diarias y consta de una dieta variada de (verduras, frutas, granos secos y carne) y un dispensador de agua potabilizada. El centro cuenta con un veterinario provisional que visita el centro cada 15 días. Dentro del centro las visitas de los turistas generalmente no son guiadas ni supervisadas por lo que existe un contacto frecuente entre los monos y los turistas. Por otro lado, los voluntarios del centro provenientes de todo el mundo tienen total acceso a tocar y manipular a los primates que viven en libertad.

Zoológico el Arca

El zoológico el Arca se encuentra en la parroquia de Cotundo (-0.844565, -77.794908) provincia de Napo. Tiene una extensión total de 10 hectáreas. Las jaulas se encuentran rodeadas de bosque nativo y amplios senderos de aproximadamente 3 metros para los turistas. Cuentan con una gran diversidad especies en cautiverio, principalmente de mamíferos y aves, más de 300 especímenes. Entre las especies de primates que habitan en el centro, esta *Ateles belzebuth*, *Cebus yuracus*, *Lagothrix lagotricha* y *Saimiri cassiquiarensis*, estos últimos en libertad, la mayoría de las jaulas están rodeadas de bosque, pero cuentan con espacios reducidos (Tabla 1) y las jaulas son cercanas una de la otra en alrededor de 1 a 3 metros. Los primates son alimentados dos veces al día con frutas y verduras principalmente de la región andina. El centro no cuenta con un veterinario de planta, pero cuenta con un veterinario ocasional que visita el centro una vez cada 3 o 4 meses. El centro recibe frecuentes visitas de turistas, en especial los fines de semana donde se ha registrado alrededor de 80 turistas. El recorrido por el zoológico no es guiado y no cuenta señaléticas para la correcta interacción con los animales, por lo que hemos observado a los turistas tocando y alimentando a los primates.

Centro de rescate Amazonico

Se encuentra en la parroquia del Ahuano (-1.062363 N, -77.525597W) provincia de Napo. El centro cuenta con 20 hectáreas, se encuentra dentro de un área protegida de bosque húmedo tropical. Cuenta con un total de 150 animales, entre ellos 18 primates, *Ateles belzebuth* en libertad, *Lagothrix lagotricha* y *Cebus yuracus*. En este centro los animales son alimentados dos veces al día, con frutos amazónicos, verduras y diversas proteínas como insectos y peces. Los monos capuchinos al estar rodeados de bosque

nativo, capturan y buscan insectos que llegan a la jaula, e interactúan con *Saimiri cassiquiarensis* que viven libres y bajan a las jaulas en busca de comida. El área de los capuchinos cuenta con 6 compartimientos a los que los monos tienen acceso a diferentes tipos de enriquecimientos ambientales, la entrada a esta área está restringida para las visitas turísticas, debido a que uno de los individuos presenta una alta ocurrencia de estereotipias en respuesta a la presencia humana, únicamente llegan los zoocuidadores para alimentar y limpiar. El centro a diferencia de los otros zoológicos, cuenta con visitas guiadas por personal cualificado y capacitado dentro de un programa de educación ambiental donde se socializa la importancia de los animales silvestres para el ecosistema y se sensibiliza sobre las causas de tráfico ilegal por la que muchos animales llegan al centro; los turistas siempre están bajo supervisión y está prohibido tocar o alimentar a los animales. El centro cuenta con un veterinario permanente, además de un fuerte programa de enriquecimiento ambiental y alimenticio.

Zoológico Tarqui

Se encuentra en la parroquia Tarqui (-1.526340 N, -78.001254 W) provincia de Pastaza. Cuenta con 400 individuos distribuidos en dos hectáreas, alimentados una sola vez al día principalmente frutas y verduras. Existe una distancia mínima de 0.5 a 2 metros entre las jaulas de los animales, y hay un número elevado de individuos en alrededor de 30 recintos distribuidos en 2 hectáreas. El recinto de los monos capuchinos cuenta con un área inundada donde los primates acceden a refrescarse. El grupo de los capuchinos incluía a una hembra subadulta que vivía en aislamiento, generalmente era agredida por los machos. Estos primates conviven junto a *Lagothrix lagotricha* y *Ateles belzebuth* y otras especies de capuchinos del género *Cebus* y *Sapajus*, por medio de vocalizaciones. El zoológico no cuenta con un veterinario especializado de vida silvestre. El zoológico recibe visitas frecuentes turísticas de 20 a 100 personas al día, sin acompañamiento de guías, ni señaléticas pertinentes para la correcta interacción con los animales, por lo que es frecuente el contacto directo con los animales, en especial con los primates.

Sujetos de estudio

Estudiamos 33 individuos en diferentes condiciones de cautividad y semi-libertad (Tabla 1).

Tabla 1.- Condiciones de vida y centros de tenencia de los sujetos de estudio en función de su sexo, categoría de edad, área de vida, número de individuos evaluado por grupo y número de individuos en total con los que habitan en los recintos y otras especies con las que interactúa diariamente.

Elaboración: Rodríguez Renata, 2022.

	Semilibertad <i>N</i> = 16			Cautividad <i>N</i> = 17		
Sexo	Puerto Misahuallí	Paseo de los monos	Amazonico	Zoológico Tarqui	Zoológico Arca	Paseo de los monos
Macho	6	3	2	4	4	1
Hembra	5	2	0	2	1	3
Edad						
Adulto	6	1	1	2	3	3
Subadulto	1	1	1	1	0	1
Juvenil	2	2	0	2	1	0
Cría	2	1	0	1	1	0
<i>N total</i> = 33	11	5	2	6	5	4
Área de vida (m ²)	30000	15000	80	72	20	50
Número de individuos	11	7	2	9	5	6
Interacción Interspecífica	<i>Canis lupus familiaris</i>	<i>Nasua nasua</i>	<i>Ateles belzebuth</i>	<i>Lagothrix lagotricha</i>	<i>Ateles belzebuth</i>	<i>Lagothrix lagotricha</i>
		<i>Saimiri cassiquiarensis</i>	<i>Saimiri cassiquiarensis</i>	<i>Ateles belzebuth</i>	<i>Saimiri cassiquiarensis</i>	<i>Nasua nasua</i>

Toma de muestras y datos en campo

Para la recolección de muestras fecales de las poblaciones en cautiverio y semi-libertad obtuvimos el permiso de recolección de muestras biológicas otorgado por el Ministerio de Medio Ambiente, Agua y Transición Ecológica (MAAE-ARSFC-2021-1379). Para la caracterización de las condiciones de vida, registramos datos sobre el área de distribución o tamaño de la instalación, número de individuos por área, disponibilidad de alimentos (tipo y cantidad de alimentos) y estructura del grupo (sexo, dominancia y categorías de edad). Por otro lado, realizamos la identificación previa de cada individuo de estudio en condiciones de semi-libertad y cautiverio.

Las muestras fecales se tomaron en horario matutino de 6:30 a.m. a 12:00 p.m. [10], colectando en lo posible tres muestras por individuo, dos muestras para el análisis de cortisol y una para el análisis coprológico. Las muestras se tomaron inmediatamente después de la deposición, registrando la edad del individuo (cría, juvenil, adulto, subadulto y geronte), diferencia de sexo, grupo, fecha, hora, ubicación, temperatura, clima (soleado, parcialmente nublado, nublado o lluvia) y contacto con primates humanos (alto, medio y bajo). Las muestras se almacenaron en formalina coprológica al 5% y al 10% para muestras de parásitos y en etanol al 96% para muestras hormonales. Ambas muestras se mantuvieron en condiciones de sombra y frío hasta su traslado al laboratorio.

Finalmente, la toma de datos comportamentales se realizó a través del método *Ad libitum* [57] con un promedio de 15 horas de observación por grupo, registrando las conductas estereotipadas y anómalas, relacionadas con el estrés, así como comportamientos afiliativos y agonísticos e interacciones con humanos (Tabla 2). Dichos comportamientos fueron clasificados por frecuencias, del 0 a 0.3 como bajo, 0.4 al 0.7 como medio, y 0.8 a 1 como alto.

Tabla 2. Definición de comportamientos estereotipados, afiliativos, agonísticos e interacción con el ser humano considerados en el etograma.
Elaboración: Rodríguez Renata, 2022.

Comportamiento	Definición
Estereotipias y comportamientos anómalos	Moverse de un lado a otro, abrazarse con la cola, autolesiones o autoagresiones.
Afiliativos	Acicalamiento, juego o cualquier interacción positiva intraespecífica.
Agonístico	Agresión física y verbal, mostrar los dientes, empujar, perseguir, morder.
Interacción con humanos	Contacto directo con turistas, zoocuidadores o voluntarios para alimentación artificial, acicalamiento, juego o conflicto.

Extracción cortisol fecal

Para determinar la concentración de cortisol, realizamos un ELISA de competencia siguiendo el protocolo de extracción de cortisol EIA kit de Oxford Biomedical Research [58] en el laboratorio de Biología molecular y de Biología II de la Universidad Regional Amazónica Ikiam. Iniciamos con el pretratamiento de las muestras fecales secando, pulverizando y añadiendo agua y etanol (1:1) a cada muestra, se mezcló con el vortex y se centrifugó por 25 minutos a 13200 rpm [59]. Dentro de la cámara de flujo laminar tomamos 25 uL del sobrenadante de cada tubo obteniendo un volumen final de 100 uL por muestra. Colocamos los tubos abiertos en una cama de arena a 60°C hasta que la fase acuosa se evapore por completo. Posteriormente al secado colocamos el buffer de extracción y centrifugamos por 8 segundos a 13200 rpm. Luego se realizó una dilución 1:100 de la muestra y el Buffer de Extracción.

Para armar la microplaca del ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) se partió de la curva estándar del kit EIA obtenida a partir de cortisol puro (con anticuerpo de conejo) y Buffer EIA mediante una dilución seriada, realizando una curva de 8 parámetros (0, 0.005, 0.02, 0.1, 0.5, 2, 10, 50) ng /gramo, de acuerdo al protocolo Oxford Biomedical Research [58]. Dentro de la microplaca de 96 pocillos agregamos las muestras y la curva estándar, junto con la dilución de conjugado de hormona Cortisol-HRP en cada celda, todo por duplicado dejándolo incubar a temperatura ambiente por una hora. Posteriormente realizamos tres lavados de la microplaca con el Buffer de lavado. Finalmente, en todas las celdas, incluidas dos celdas en blanco, agregamos el disolvente orgánico (tetrametilbenzidina) TMB que actúa como sustrato para el desarrollo del color, e incubamos a temperatura ambiente durante 30 minutos en un cuarto oscuro. Para la lectura de la placa, agregamos HCl 1N en cada pocillo y obtuvimos las absorbancias a 450 nm en el lector de microplacas GloMax. Para la transformación de las absorbancias a concentraciones de cortisol (ng/mL) a partir de la curva estándar se utilizó el método numérico de 4 parámetros [10].

Análisis coprológico

Todas las muestras se procesaron con el método del formol-éter, seguimos la metodología de Martin y colaboradores (2017) [17]. Trituramos 1 gramo de la muestra fecal en formol y la filtramos, añadimos acetato de etilo y mezclamos la solución en un

vortex. Luego lo centrifugamos durante 10 minutos a 1500 rpm. Retiramos el sobrenadante y tomamos dos gotas de la muestra del fondo colocándolas en un portaobjetos, a una de las gotas añadimos lugol para facilitar la detección de huevos. Utilizamos un microscopio de luz estándar y aumentos de 10X y 40X. La identificación de los parásitos se basó en protocolos estandarizados [17, 60, 61].

Análisis Estadístico

Todos los análisis estadísticos se realizaron mediante el lenguaje de programación R studio [62]. En caso de no cumplir el análisis de normalidad (Prueba Kolmogorov – Smirlov) se aplicaron análisis no paramétricos, utilizados para este tipo de estudios por encontrarnos con un tamaño de la muestra reducido. Para evaluar las diferencias entre las variables hembra y macho, y entre las condiciones de vida semi-libertad y cautividad realizamos una prueba de U Mann-Whitney. Por otro lado, se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis para la comparación de muestras independientes analizando las diferencias en los niveles de cortisol entre los centros de tenencia y las diferencias entre categorías de edad (adulto, subadulto, juvenil e infante), y se realizó un análisis post hoc a través de la prueba de U Mann-Whitney para identificar dónde están esas diferencias. Adicionalmente, realizamos un análisis de correlación de Spearman para identificar el grado de relación entre el cortisol y la carga parasitaria. Para realizar la identificación de variables de bienestar aplicamos un análisis de componentes principales PCA entre los individuos y las variables seleccionadas en relación al bienestar animal [37] como: el área de vida, número de individuos por grupo, carga parasitaria, cortisol, estereotipias e interacción afiliativa y agonística (Tabla 2). Determinamos las dimensiones que tenían una pérdida mínima de información, preferiblemente por encima del 70% de representación, y se usó el valor del coseno cuadrado de las variables para determinar la calidad de representación. Finalmente, dentro del biplot que se obtiene como resultado final, se evaluó la correlación entre las variables, por medio del ángulo entre los vectores. Al trazar una línea perpendicular a los vectores, podemos determinar los individuos que están más influenciados por dichas variables.

Resultados

Análisis cortisol

Las concentraciones de cortisol variaron entre 51.40 ng/mL como valor promedio, con una mínima de (2.8 ng/mL) en un macho juvenil y máximo de (321.3 ng/mL) en una hembra adulta. Observamos valores más altos de cortisol en semi-libertad (69.70 ng/mL) con respecto a los resultados de cautividad (34.18 ng/mL) ($W = 202$, $p < 0.01$; (Figura 2a)). Así mismo, encontramos que las hembras ($N = 13$) presentan valores superiores de cortisol (84.58 ng/mL) con respecto a los machos (29.615 ng/mL) ($N = 20$) ($W = 200$, $p < 0.001$; (Figura 2b)). Cabe resaltar que, dentro del grupo de las hembras, los individuos con mayor nivel de cortisol correspondían a 3 hembras en estado de lactancia, 1 hembra embarazada y 2 hembras aisladas socialmente (Material suplementario, Tabla 1). En la evaluación de las categorías de edad no encontramos diferencias significativas (Kruskal Wallis, $\chi^2 = 5.3686$, $p = 0.1$).

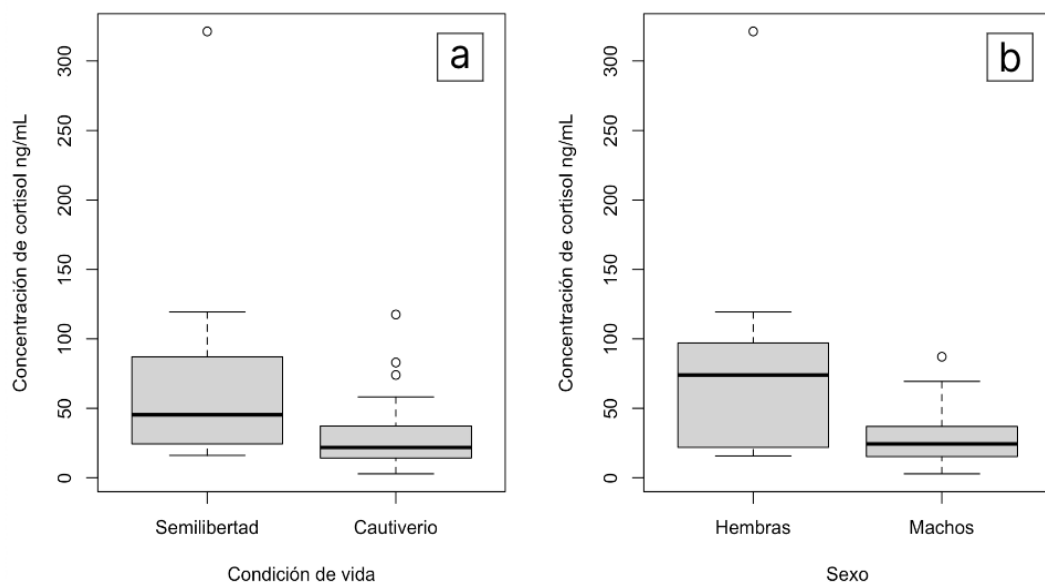


Figura 2. Concentración de cortisol (ng/mL) según las condiciones de vida (a), concentración de cortisol (ng/mL) según el sexo (b). Los círculos de las gráficas representan puntos atípicos.

Elaboración: Rodríguez Renata, 2022.

Específicamente, encontramos diferencias significativas entre los valores de cortisol de los centros de tenencia (Kruskal Wallis, χ^2 14.02; $p < 0.01$), siendo los valores de cortisol más altos en Puerto Misahuallí, el área urbana donde los monos viven libres y tienen una alta interacción con los turistas, seguido por el Zoológico Tarqui, el centro de rescate Paseo de los monos en cautividad, el Zoológico El Arca, el grupo del Paseo de los monos en libertad y Centro de rescate Amazonico, único centro con control de visitantes (Figura 3).

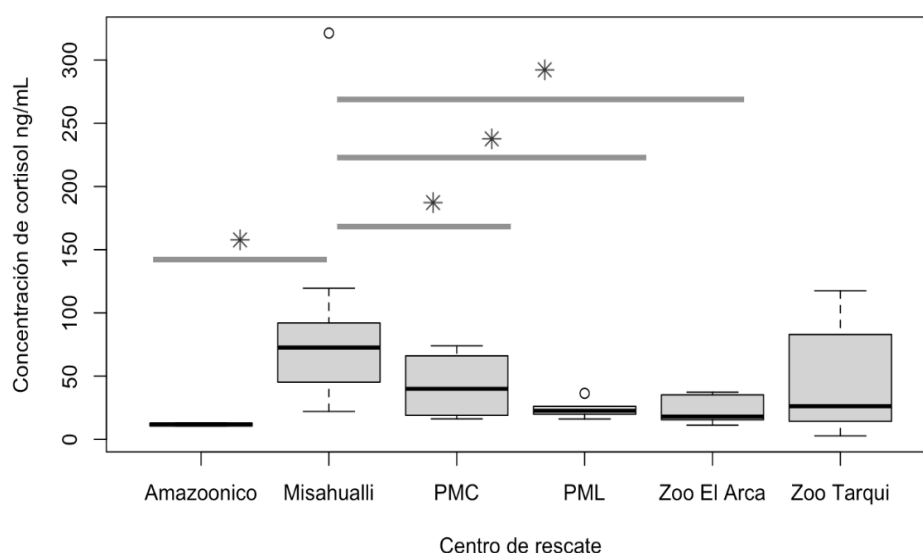


Figura 3. Diferencias significativas de la concentración de cortisol (ng/mL) entre las áreas de estudio. Misahuallí presentó diferencias significativas (representadas con un asterisco y una línea) con todos los centros con excepción del zoológico Tarqui. PMC (Paseo de los Monos en cautiverio), PML (Paseo de los Monos en libertad).

Elaboración: Rodríguez Renata, 2022.

La prueba post hoc (Tabla 3) reveló que estas diferencias se encuentran principalmente entre Misahuallí y todos los centros, exceptuando el Zoológico Tarqui, donde también se registraron altas concentraciones de cortisol. Dicho zoológico no mostró diferencias con los otros centros, probablemente por presentar un individuo con el mínimo valor de cortisol encontrado (Figura 3).

Tabla 3. Resultados estadísticos de las diferencias significativas de concentración de cortisol entre las áreas de estudio.

Elaboración: Rodríguez Renata, 2022.

	Amazonico	Misahualli	PMC	PML	Zoo El Arca
Misahualli	W = 22, p = 0.026	-	-	-	-
PMC	W = 0, p = 0.133	W = 34, p = 0.013	-	-	-
PML	W = 0, p = 0.095	W = 51, p = 0.005	W = 13, p = 0.555	-	-
Zoo El Arca	W = 1, p = 0.133	W = 51, p = 0.005	W = 5, p = 0.285	W = 10, p = 0.690	-
Zoo Tarqui	W = 2, p = 0.286	W = 49, p = 0.121	W = 13, p = 0.914	W = 16, p = 0.930	W = 13, p = 0.792

Análisis Parasitario

Encontramos un total de 322 formas parasitarias, 201 huevos, 117 larvas y 4 adultos, en 25 de 32 muestras fecales recolectadas. Las formas parasitarias pertenecientes a dos familias Strongylidae (36.3%) y Oxyuridae (2.5%) y siete géneros: *Hymenolepis sp* (25.7%), *Trichuris sp* (1.2%), *Strongyloides sp* (20.5%), *Prosthenorchis elegans* (1,6%), *Taenia sp* (1.2%), *Ascaris sp* (5.6%) y *Ancylostoma sp* (5,3%) (Figura 4).

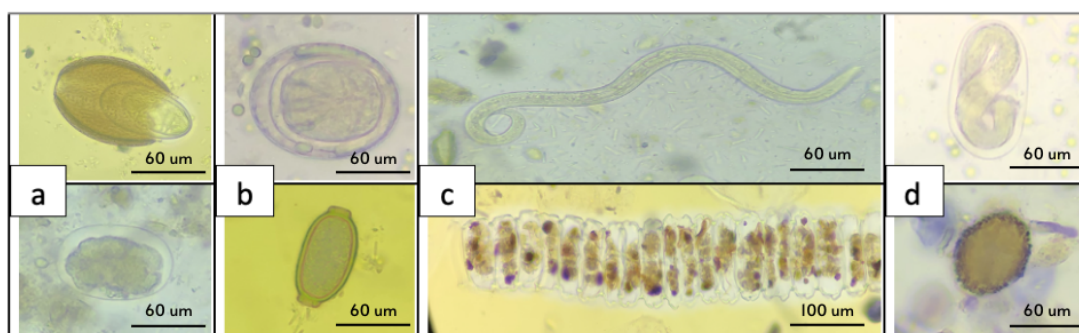


Figura 4. Parásitos registrados en el estudio, de la izquierda a la derecha en cada columna, *Prosthenorchis elegans* y *Ancylostoma sp* (columna a), *Hymenolepis sp* y *Trichuris sp* (columna b), *Strongyloides sp* y *Taenia spp* (columna c), Strongylidae y *Ascaris spp* (columna d).

Elaboración: Rodríguez Renata, 2022. Registramos una correlación de Spearman moderada ($r=0,6$; $p<0,05$) entre el cortisol (ng/mL) y la carga parasitaria (#parásitos/g de muestra) (Figura 5).

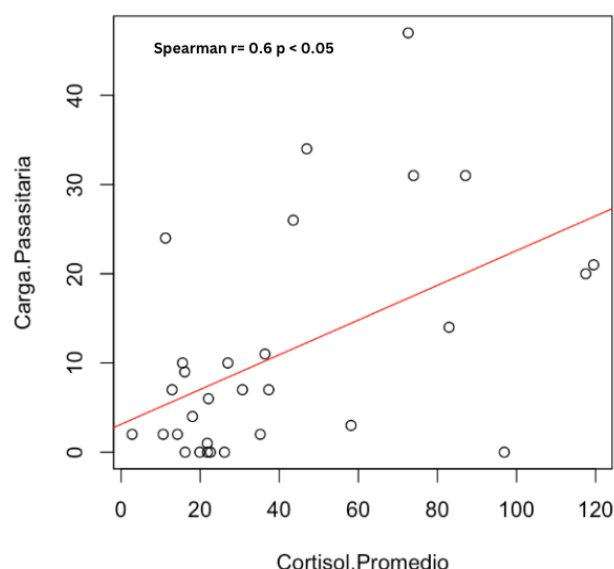


Figura 5. Correlación entre el nivel de cortisol (ng/mL) y la carga parasitaria (#parásitos/g de muestra) por individuo.

Elaboración: Rodríguez Renata, 2022.

Indicadores de bienestar

En el análisis de componentes principales la variación total explicada acumulada de las dos componentes principales es de 75%, registrando una pérdida mínima de información. El valor del coseno cuadrado es mayor a 0.7, registrando una alta calidad de representación de todas las variables de bienestar consideradas: cortisol, carga parasitaria, número de individuos, área de vida, estereotipias e interacción afiliativa. Se excluyeron las interacciones agonísticas debido al bajo número de interacciones registradas durante el estudio. De igual manera excluimos la variable de área de vida debido a su alta correlación con el número de individuos ($cor=0.8$), ya que, en nuestro caso de estudio, el grupo con mayor espacio de vida fue el de mayor número de individuos, lo que implica que las dos variables explican la misma información. En el biplot las flechas representan las variables de bienestar (Figura 6), obtuvimos correlaciones (cor) positivas entre las siguientes variables: cortisol y carga parasitaria ($cor=0.6$), cortisol y las estereotipias ($cor=0.4$), carga parasitaria y número de individuos ($cor=0.4$) y una correlación negativa moderada entre las estereotipias y la interacción afiliativa ($cor=-0.5$). A pesar de que las correlaciones no fueron muy elevadas, podemos ver una tendencia a que los individuos (representados por triángulos en la circunferencia

amarilla) que tuvieron menos niveles de cortisol y carga parasitaria, sean los individuos con menor contacto con el ser humano, mientras que los individuos con alto contacto con los humanos se vieron más influidos por niveles superiores de cortisol, carga parasitaria y frecuencia de estereotipias (Figura 6). Así mismo, observamos una relación inversa entre las estereotipias y las interacciones afiliativas.

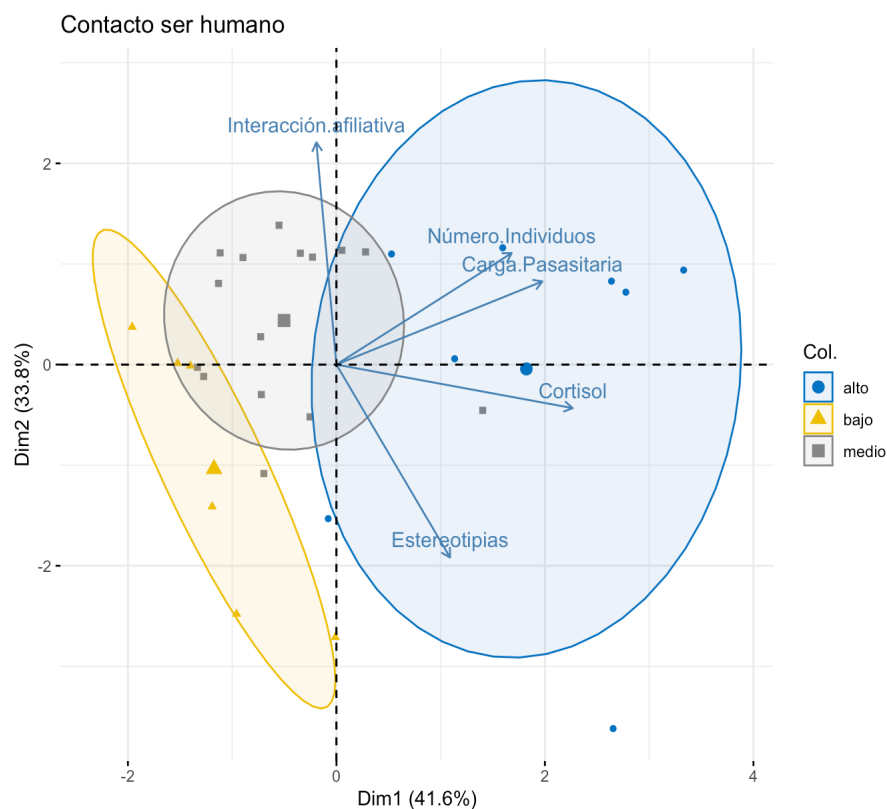


Figura 6. Biplot análisis de componentes principales (PCA). Las variables de bienestar son representadas por los vectores, los puntos, triángulos y cuadrados son los individuos del estudio categorizados en función del contacto con el ser humano: alto, medio y bajo.

Elaboración: Rodríguez Renata, 2022.

Discusión

Análisis cortisol

Se ha considerado que las condiciones de vida en las que se encuentran los animales silvestres tienen un efecto sobre el nivel de cortisol. Estudios realizados en primates como *Alouatta pigra* [2], *Ateles geoffroyi* [8], *Cebuella pigmea* [10], concluyen que los individuos que se encuentran libres en bosques conservados y continuos representan valores bajos de cortisol en relación con individuos que se encuentran libres en áreas fragmentadas o en condiciones de cautividad. Nuestros resultados demuestran que la libertad (o semi-libertad) no siempre está asociada a menores niveles de estrés. El grupo de Puerto Misahuallí, por ejemplo, presenta altos valores de cortisol en relación a los grupos en cautividad, lo que podría estar relacionado con el hábitat urbano y la presencia y el contacto continuo con los humanos [63]. El Zoológico Tarqui también presentó valores altos de cortisol, siendo uno de los centros que recibe una alta cantidad de turistas, sin guianza ni señalética pertinente (se ha registrado a los turistas gritando y alimentando a los primates). Las perturbaciones ambientales o los hábitats de mala calidad influyen en la respuesta al estrés y aumentan la producción de hormonas glucocorticoides [2, 64, 65, 66]. En *Macaca sylvanus* se ha descrito que varios aspectos del turismo afectan a los animales de diferentes maneras: el número medio de turistas en el lugar, así como las tasas de ocurrencia de interacciones neutrales de alimentación [67]. En mangabeys *Cercocebus chrysogaster* en cautiverio la agresión se relacionó con el número y presencia de turistas cercanos [68, 69]. Los individuos del grupo de Misahuallí concurren en el suelo varias veces al día, lo que sugiere altas tasas de contacto que puede estar teniendo efecto sobre los altos niveles de cortisol. Pozo-Montuy y Serio-Silva (2007) describen que la locomoción constante en el suelo puede tener un efecto sobre el estrés y la salud de los primates no humanos [70] ya que hay una mayor probabilidad de ser atacados o infectados por enfermedades antropogénicas [15].

Adicionalmente, el aprovisionamiento artificial de recursos alimentarios también influye en el estrés de los primates [71], la presencia de alimentos poco saludables en la dieta diaria y la escasez de recursos puede obligar a los individuos a aumentar su esfuerzo de alimentación, lo que se ha visto en bosques fragmentados [8]. En los géneros de

Ateles y *Lagothrix* las concentraciones más altas de cortisol fecal se encontraron en los zoológicos que proporcionaron la menor cantidad de alimento nutricionalmente completo para los primates, incluyendo alimentos con altos niveles de azúcar, glucosa y la fibra total más baja [72]. El grupo de Misahuallí tiene como alimentación principal frutas otorgadas por turistas y provisionalmente por la junta parroquial, aunque frecuentemente se los ha observado ingiriendo snacks, bebidas azucaradas, pan y otros alimentos muy fuera de su dieta natural. Así mismo, centros como el Zoológico Tarqui mostraron datos deficientes de dieta (donde los 9 individuos eran alimentados una sola vez al día de fruta y verdura principalmente). En monos colobos han encontrado que los períodos de dieta de mala calidad corresponden a un aumento en el cortisol [12]. Finalmente, si las condiciones de cautiverio son llevadas con un importante enriquecimiento ambiental alimenticio y social los animales no estarán sometidos a tanto estrés. Dentro de nuestro estudio el Centro de rescate Amazonico presentó los niveles más bajos de cortisol entre los grupos, lo que podría estar relacionado a la prohibición de paso de turistas al área de exhibición de los monos capuchinos y la presencia de una buena dieta (con insectos, proteínas, frutas amazónicas y verduras) acompañada de enriquecimiento alimenticio y ambiental. Se ha demostrado que las respuestas al enriquecimiento ambiental pueden proporcionar los sustratos necesarios para que los animales muestren respuestas conductuales apropiadas [73], por lo que se sabe que el entorno del zoológico influye en el comportamiento de los primates en cautiverio [74]. El Paseo de los monos que mostró también valores inferiores de cortisol contaba con una dieta completa de granos secos, proteínas, frutas y alta gama de verduras, así como un sistema de túneles que les permitía moverse entre instalaciones.

Por otro lado, dentro de la evaluación entre ambos sexos, obtuvimos que las hembras tienen un nivel de cortisol significativamente más alto que los machos, esto puede estar relacionado a las épocas de gestación, nacimiento o cuidado de las crías, considerando que los nacimientos en cautiverio pueden ocurrir durante todo el año [75]. Las hembras de capuchino muestran cambios en los niveles de glucocorticoides en respuesta a ciertas variables reproductivas y ambientales [76]. En este estudio evaluamos una hembra en gestación y cuatro hembras en periodo de lactancia, todas ellas mostraron valores altos de cortisol en relación al promedio (51.4 ng/mL). Dentro del grupo de Misahuallí todas las hembras se registraron en época de nacimientos y gestación. La hembra en periodo de gestación representa el mayor nivel de cortisol (119.5 ng/mL), en relación a las otras dos hembras con infantes en periodo de lactancia (72.6 y 87.25)

ng/mL. En el centro de rescate Paseo de los monos evaluamos una hembra en periodo de lactancia, con un valor de cortisol de (73.95 ng/mL), lo que corresponde al mayor valor registrado en el Centro de rescate (incluyendo los individuos en libertad). Finalmente evaluamos otra hembra en periodo de lactancia dentro del zoológico Tarqui, la hembra representa el segundo nivel de cortisol más alto del grupo (82.95 ng/mL), el primero es de una hembra subadulta aislada. En *Cebus capucinus* los niveles de cortisol fueron significativamente más altos en las hembras embarazadas ya que los niveles de cortisol aumentan a medida que avanzaba la gestación, en comparación con las hembras lactantes u otros estados reproductivos [77].

Adicionalmente, la concentración de cortisol de las hembras puede estar influenciada por la filopatría femenina que hace que las hembras permanezcan en el mismo grupo toda su vida y promueve una jerarquía lineal entre las ellas [76]. Esto está relacionado a comportamientos tales como que las hembras tienden a acicalarse en la jerarquía de dominación, por lo que las relaciones sociales entre las hembras son claves sobre su bienestar [77]. En nuestros datos registramos hembras con altos niveles de cortisol pertenecientes a las siguientes condiciones de vida: Misahuallí donde tenemos un punto atípico alto de una hembra geronte que vive sola y su interacción es principalmente con humanos y perros, el Paseo de los monos en cautiverio donde tenemos una hembra rechazada por otra hembra, por lo que tiene poca interacción con los otros miembros del grupo y una hembra que vive con *Lagothrix lagotricha* con un mayor rango de dominancia. Finalmente, en el zoológico Tarqui, la hembra con el segundo nivel de cortisol más alto del estudio (117.5 ng/mL), presentó estereotipias y mala alimentación, además de agresión y segregación por los machos juveniles del grupo, y no fue registrada en ninguna relación afiliativa. Todos estos individuos presentaron niveles de cortisol elevados y suponen el 30% de las hembras de estudio. En *Cebus capucinus* se documentó que las hembras de menor rango tenían más probabilidades que las hembras de mayor rango a ser víctimas de agresión o segregación [76]. El alto nivel de cortisol en las hembras también puede estar influenciado por el rango social del macho y cambios de jerarquía, lo que registramos en Misahuallí, un posible cambio de rango del macho dominante. Sin embargo, otros estudios de especies como *C. jacchus* reportan que las hembras tienen valores de referencia de cortisol tres veces mayores que los machos, independientemente de si estas se están reproduciendo o no [78]. Por el contrario, los machos de nuestro estudio registraron valores significativamente más bajos de cortisol, excepto uno de los machos adultos que está relevando al macho

dominante actual, que presentó el valor más alto de cortisol entre los machos (87.1 ng/mL). Los procesos de rangos sociales también revelan variaciones en los niveles de cortisol [26] que relaciona jerarquía y dominancia con alto nivel de cortisol.

Finalmente, no obtuvimos diferencias significativas entre las categorías de edades, pero registramos puntos atípicos en las categorías de infante y adulto. El infante, una hembra (Siqui) de 1 año de edad con dependencia materna media, quien tuvo que ser retirada del grupo de Misahuallí y ser movilizada a un hospital de vida silvestre debido a una fractura en el fémur medio (sin tener contacto físico directo con individuos de su misma especie durante el período de estudio) presentó valores de cortisol elevados (96.9 ng/mL) en relación al resto de infantes del estudio. En *Cebus apella* registraron que las crías que son separadas de sus madres a tempranas edades, experimentan altos niveles de cortisol los cuales se asocian con comportamientos como la disminución en los niveles de juego (tanto social como no social), exploración y manipulación del entorno. Los primates juveniles que están bajo estrés físico o emocional intentan aumentar los contactos sociales tranquilizadores con las madres u otras figuras de apego en un esfuerzo por reducir el estrés [79]. El punto atípico en adultos, corresponde a una hembra geronte de aproximadamente 35 años de edad, que vivía apartada del grupo de capuchinos dentro del área urbana de Misahuallí, presentó el valor más alto de todo el muestreo (321.3 ng/mL). Debido a una fractura calcificada en uno de sus miembros posteriores la mona se desplazaba principalmente por el suelo, varias veces se la registró con infecciones y deshidratación. Antes del final del estudio esta hembra falleció, debido a su edad y problemas de salud. Se ha registrado que el nivel de cortisol tiene una relación positiva con la tasa metabólica, a su vez los aumentos en la tasa metabólica como parte de la respuesta aguda al estrés pueden resultar en un mayor daño oxidativo, que es influido a largo plazo por la salud o longevidad [80]. Espinosa et al, (2015) sugieren que los desajustes fisiológicos que llevaron a la muerte de un individuo de *Cebuella pygmaea* fueron un factor de estrés que actuó en forma aditiva [10]. Dichos resultados evidencian la efectividad de los análisis para detectar cambios en los niveles de cortisol de acuerdo a las condiciones fisiológicas de los individuos, principalmente en estos casos tan extremos.

Análisis Parasitario

A pesar de que se ha descrito que las infecciones parasitarias y los niveles de estrés son interdependientes [14], pudiendo el estrés provocar mayor susceptibilidad a las infecciones en respuesta al debilitamiento del sistema inmunológico y las infecciones parasitarias generar más estrés; nuestros resultados mostraron una correlación moderada entre ambas variables. Así mismo, otros estudios como el realizado en *Ateles geoffroyi* sugiere que es poco probable que la parasitosis intestinal represente una causa significativa del aumento de los niveles de cortisol [8]. Se ha encontrado niveles altos de cortisol no sólo en poblaciones forestales fragmentadas, sino también en individuos cautivos, con una ingesta dietética alta, infecciones parasitarias bajas, pero mayor proximidad humana [8] [63]. Cabe mencionar que muchos de los centros de tenencia y zoológicos del estudio realizan desparasitaciones periódicas de control una o dos veces al año, en relación a los resultados de los análisis coprológicos, principalmente con desparasitantes de amplio espectro como praziquantel y pirantel [81]. A pesar de que las desparasitaciones no coincidieron con los períodos de estudio, es probable que la profilaxis redujera la carga parasitaria. El área urbana de Misahuallí, fue el área en registrar una mayor carga parasitaria con respecto a los grupos en cautiverio. Esto es comparable con el estudio de Martín y colaboradores (2017), donde registraron una mayor riqueza de parásitos en el grupo en semilibertad en el área urbana en relación a los grupos en centros de tenencia. Sin embargo, nuestros resultados mostraron un género y dos familias adicionales, asociándolo a las altas tasas de contacto entre los monos y las personas, lo que aumentan las posibles rutas de transmisión oral y fecal [17]. El método de muestras múltiples y concentración de formol-éter es un método preciso con alta sensibilidad para la mayoría de los parásitos, excepto para protozoarios como *Giardia sp.*, que se encuentra comúnmente en grupos cautivos [82], es por ello que no registramos protozoarios presentes en la especie. Debido a la cercanía evolutiva entre primates humanos y no humanos, compartimos un sin número de patógenos [83], en este estudio registramos en menor prevalencia parásitos humanos en primates, entre ellos: *Trichuris*, *Taenia*, *Ascaris*, *Ancylostoma* y *Oxyuridae*. Estudios parasitológicos revelaron que los primates con menor contacto humano tienen una menor prevalencia e intensidad de parásitos en comparación con los grupos con mayor contacto humano [84]. Condiciones similares se han visto en Costa Rica con un grupo de *Cebus capucinus* del Parque Nacional Manuel Antonio, donde los monos comen alimentos proporcionados por los turistas [3, 85]. Los primates de Misahuallí son los que

presentaron mayores niveles de cortisol, lo que supondría una tendencia en esta correlación no tan marcada.

Entre nuestros géneros de parásitos con mayor prevalencia encontramos a *Hymenolepis*, dicho género también infecta a seres humanos, y está relacionado con huéspedes intermediarios como ratas y artrópodos, incluidos escarabajos [86] y cucarachas, que están presentes en los asentamientos urbanos [87]. *Strongyloides*, fue el segundo género más registrado, presente principalmente en Misahuallí. Se ha descrito que la locomoción de primates no humanos en el suelo aumenta la posibilidad de transmisión de *Strongyloides sp.* [88, 89]. Los monos de Misahuallí fueron los individuos que pasaron mayor tiempo en el suelo, moviéndose libremente por el sector urbano. Algunos parásitos de alto riesgo como *Prosthonorchis elegans*, se ha reportado en *Cebus albifrons* [90] y otros primates neotropicales, en cautiverio [91] y en libertad [92, 93]. Dicho parásito es de gran importancia médica ya que llega a causar la muerte de primates en cautiverio [17, 18] probablemente al ser transmitido por cucarachas y otros insectos, que se encuentran en instalaciones [94]. La infestación de *Prosthonorchis sp* también está influenciada por la dieta de los monos con un mayor riesgo de exposición por la ingestión de huéspedes intermediarios invertebrados como Blattodea y Coleoptera [95].

De igual manera se ha registrado que la locomoción terrestre frecuente, el comportamiento del animal, la sociabilidad y la variedad de la dieta alimentaria [96, 97], tienen un importante efecto sobre una mayor o menor infección por parásitos [85].

Indicadores de bienestar

Al evaluar el conjunto de variables para determinar indicadores de bienestar, obtuvimos que la relación directa con turistas puede tener cierta influencia en los niveles de cortisol, la carga parasitaria y medianamente las estereotipias (Figura 6). Estudios realizados en *Macaca sylvanus*, sugieren que todas las interacciones cercanas con los turistas, incluso aquellas no directas como fotografías, son suficientes para provocar ansiedad y estrés [98, 99]. Las interacciones de alimentación, cuando las personas les ofrecen comida a los primates, provocan también competencia entre los individuos por accederla. Las tasas de interacciones agresivas entre turistas y primates también se han asociado con un cambio en la medida de estrés fisiológico [67]. Algunos individuos de estudio, como los primates de Misahuallí, y en algunos zoológicos donde había un contacto directo

entre personas y los primates no humanos, desde alimentación hasta maltrato físico, mostraron mayor influencia por las variables mencionadas. En *Ateles geoffroyi* se observó una tendencia hacia niveles más altos de cortisol en primates que fueron mascotas, sugiriendo quizás que la proximidad a los humanos y la falta de interacciones afiliativas, pueden ser factores de estrés importantes para los monos [2,8, 63].

Obtuvimos una correlación inversa entre la interacción afiliativa y las estereotipias, lo que implica que a mayor número de interacciones afiliativas menor frecuencia de estereotipias. Las relaciones sociales afiliativas pueden actuar como amortiguadores, reduciendo la liberación de cortisol en respuesta a factores estresantes agudos [100] como estereotipias [101]. Individuos que fueron aislados, como la hembra subadulta del Zoológico Tarqui presentaba una gran ocurrencia de estereotipias y de agresión física recibida por parte de los machos con los que compartía la jaula, además de los niveles de cortisol más altos del estudio. Sin embargo, otros individuos con gran ocurrencia de estereotipias en el centro de rescate Amazoonico, también mostraron bajos niveles de cortisol, por lo que el nivel de cortisol no siempre está relacionado con la realización de estereotipias [34, 102]. Adicionalmente, se ha descrito que los animales en cautiverio pueden mostrar todos los comportamientos de tipo salvaje y aun así sufrir de un bienestar deficiente, [103, 104] y aquellos animales que muestran estereotipias pueden estar lidiando con su entorno mejor que aquellos que permanecen inactivos [37, 105, 106]. En *Cebus apella* los niveles de cortisol a largo plazo se relacionaron positivamente con la cantidad de agresión recibida y negativamente en la red social afiliativa del grupo [28], en esta especie también evaluaron cómo la sociabilidad está ligada al bienestar [107]. Tal es el caso del Zoológico el Arca, donde el grupo tenía una relación afiliativa muy positiva a pesar de vivir en un espacio reducido y con alta presencia de turistas, el nivel de cortisol de todos los individuos fue menor al promedio. De igual manera los individuos del Centro de Rescate Paseo de los monos en libertad, tenía una fuerte relación afiliativa entre los individuos que vivían libres, así como con los individuos que vivían dentro de las jaulas, y sus niveles de cortisol también fueron menores que en otros centros.

En el análisis de componentes principales pudimos observar que la carga parasitaria se relaciona con el contacto con el ser humano. Se ha registrado que el aumento en la posibilidad de transmisión de parásitos está relacionado con el contacto que tienen los animales con el ser humano [6, 23, 108], incluso se han identificado varios genotipos de

parásitos humanos en animales cautivos [109, 110]. En el Biplot podemos observar que la carga parasitaria está relacionada con el número de individuos por grupo (Figura 6), se ha descrito que el carácter sociable de los primates facilita procesos de transmisión parasitaria entre ellos [111]. En el género *Alouatta* se ha evidenciado que el tamaño del grupo de los huéspedes tiene un efecto positivo sobre la riqueza de parásitos gastrointestinales [112, 113]. Por otro lado, podríamos pensar que mientras las áreas de vida son más pequeñas, tal como en los zoológicos, hay mayor riesgo de infección parasitaria, pero tenemos que examinar las características ambientales del entorno. Tal es el caso de Misahuallí, que a pesar de ser el área de distribución más grande los individuos registraron el mayor nivel de cortisol y de carga parasitaria, lo que implica que el tamaño del área no siempre influye positivamente en el bienestar, por lo que hay que considerar la calidad del entorno donde se distribuyen los primates.

El bienestar en los primates no debe equivaler simplemente a la ausencia de experiencias negativas [37]. Podemos considerar varias medidas de bienestar tal como el comportamiento, que puede ser la primera observación vinculada al estrés en cautiverio. Sin embargo, su relevancia para medir el bienestar puede no ser lo suficientemente fuerte como para que se utilice como una sola medida [104, 114, 115]. Se ha registrado que animales de laboratorio y zoológicos incrementan las estereotipias cuando decrece el bienestar por ambientes pobres en enriquecimientos [106]. Por lo que consideremos que los enriquecimientos ambientales pueden ser un factor importante contra el estrés; a pesar de esto no existe un consenso sobre la cantidad y variedad de enriquecimiento ambiental necesario para lograr un nivel aceptable de bienestar psicológico para los primates [33]. En este estudio demostramos que para hacer una evaluación de bienestar debemos tomar en cuenta la suma de variables cuantificables como la hormona del cortisol, que nos da una respuesta fisiológica; la carga parasitaria, que nos indica el grado de salud física y el estudio comportamental (principalmente de relaciones sociales y estereotipias) que nos dan una idea del bienestar actual de los individuos y su interacción con las condiciones de vida (como el número de individuos y el contacto con el ser humano).

En este estudio ratificamos al cortisol como un importante indicador de bienestar para primates *ex situ*. Sin embargo, es importante complementar la información con otras variables comportamentales y sociales, así como su estado reproductivo o su estatus social para tener un mejor entendimiento de las variaciones individuales. Los valores de

cortisol de los grupos en los diferentes centros de tenencia tuvieron relación con las condiciones de vida (ambientales y sociales) en las que se encontraban los individuos, en la mayoría de los casos, lo que hace al estudio hormonal una de las formas más eficientes para evaluar la fisiología y tener un gran vistazo hacia el bienestar de los animales. En puerto Misahualli, al ser un área urbana, los individuos presentaron mayores niveles de cortisol y de carga parasitaria, corroborando que las condiciones de vida de este grupo no son las óptimas, ya que tienen un constante contacto con turistas que les brindan alimentos totalmente fuera de su dieta natural, y además donde se ha registrado conflictos entre monos y humanos y monos y perros. El efecto que tienen los humanos y el turismo sobre los primates se ha estudiado principalmente en primates del viejo mundo [67, 98], pero se necesitan más estudios que consideren la evaluación de estrés en especies silvestres del nuevo mundo en áreas urbanas o como mascotas [8]. Actualmente con la expansión urbana y el tráfico ilegal, estos grupos en áreas urbanas deberían incluirse como prioritarios.

Por otro lado, son muy pocos los centros de rescate y los zoológicos que tienen dentro de su plan de trabajo, fuertes componentes de educación ambiental (incluyendo el menor contacto con los animales) y enriquecimiento social, ambiental y alimenticio (como: brindar objetos para forrajear y buscar insectos, ramas o cuerdas para desplazarse y descansar, piscinas de agua, dar presas vivas, etc). En este estudio hemos evidenciado como en el centro de rescate Amazoónico dichos componentes tienen un efecto positivo sobre la fisiología y el bienestar de los primates cautivos, además de ser un lugar de aprendizaje y sensibilización para los humanos. Finalmente, al evaluar el bienestar animal tenemos que considerar una suma de variables que puedan tener un efecto sobre la salud del individuo. La observación y las muestras fecales son una forma no invasiva que nos da óptimos resultados. Sin embargo, cuantas más muestras fecales para evaluar el cortisol se tomen por individuo, y mayor información comportamental y del estado de salud se obtenga, tendremos un mayor acceso hacia la realidad de su fisiología y bienestar.

Conclusiones

En este estudio registramos los primeros valores de cortisol para la especie *Cebus yuracus*, evidenciando que las hembras representan un nivel de cortisol significativamente más alto que los machos, lo que parece además estar relacionado a las épocas de gestación y lactancia, además de la jerarquía lineal sobre las hembras. También registramos que los individuos que son aislados y segregados del grupo presentan niveles elevados de cortisol, por lo que proponemos que el carácter social en los primates es un importante indicador de bienestar. De igual manera, evidenciamos que la longevidad y el deterioro fisiológico tienen efectos importantes sobre el cortisol. Por otro lado, determinamos que la semi-libertad no siempre tiene un efecto positivo sobre el bienestar de los animales, depende mucho de las condiciones en las que se encuentren, así mismo, si el cautiverio es llevado con un importante enriquecimiento ambiental y social, los primates pueden presentar altos niveles de bienestar. Los primates que viven en áreas urbanas, se enfrentan a problemas nocivos, tal como el aumento de carga parasitaria y mala alimentación, principalmente por la convivencia directa con los humanos, dicha convivencia ha influido en el registro de parásitos humanos en los primates del estudio. Nuestros resultados indican que el contacto con el ser humano, incluyendo el turismo descontrolado llega a tener un importante impacto fisiológico en los primates, representado por niveles superiores de cortisol, carga parasitaria y frecuencia de estereotipias. Finalmente, consideramos que el bienestar de los primates debe ser evaluado por la suma de variables tanto fisiológicas (principalmente el cortisol) como comportamentales (principalmente estereotipias e interacciones afiliativas) así como la interacción con su entorno (tamaño de grupo y contacto con el ser humano). De igual manera las condiciones ambientales en las que se encuentran los primates tienen efectos sobre su bienestar, por lo que proponemos que una buena dieta, el adecuado enriquecimiento ambiental y social y la educación ambiental, podría actuar como amortiguadores ante el estrés. Estas evaluaciones del bienestar en primates *ex situ* son respuestas a planes de acción para la conservación de dichas especies, además son una ventana de respuestas para evaluar individuos en libertad y en bosques fragmentados.

Agradecimientos

Agradecemos a todos los centros de tenencia que nos acogieron y nos permitieron realizar la toma de muestras fecales de los monos capuchinos. Por otro lado, agradecemos al laboratorio de Biología Molecular y de Biología II de la Universidad Regional Amazónica Ikiam, especialmente a Katherine Apunte, Damaris Pazmiño y Bryan Romero que nos acompañaron en la parte técnica del análisis hormonal, a Pamela Reyes por el acompañamiento de la metodología del análisis parasitario y a Karina Quishpi por el acompañamiento como asistente de campo en la toma de muestras. Finalmente agradecemos a Stella de la Torre de la Universidad San Francisco de Quito quien nos compartió y dio el acompañamiento de la metodología para el análisis hormonal.

Referencias

- [1] Fahrig, L. (2003). Effects of habitat fragmentation on biodiversity. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 34, 487–515.
- [2] Martínez-Mota, R., Valdespino, C., Sánchez-Ramos, M. A., & Serio-Silva, J. C. (2007). Effects of forest fragmentation on the physiological stress response of black howler monkeys. *Animal Conservation*, 374–379.
- [3] Wolfe, N.D., Daszak, P., A. Kilpatrick, M. y Burke, D.S. (2005). Bushmeat hunting, deforestation, and prediction of zoonotic disease emergence. *Emerging Infectious Diseases*, 1822-1827
- [4] Chapman, C.A., Gillespie, T.R. y Goldberg, T.L.. (2005). Primates and the ecology of their infectious diseases: how will anthropogenic change affect host-parasite interactions? *Evolution and Anthropology*, 134-144.
- [5] Estefenn-Barbosa, V., & Gómez, Y. (2017). Influencia del cautiverio en el comportamiento y en los niveles de cortisol del mono titi gris (*Saguinus leucopus*). *Intropica*, 55-59.
- [6] Kowalewski, M.M., Salzer, J.S., Deutsch, J.C., Rano, M., Kuhlenschmidt, M.S., Gillespie, T.R., (2011). Black and gold howler monkeys (*Alouatta caraya*) as Sentinels of ecosystem health: patterns of zoonotic Protozoa infection relative to degree of humane primate contact. *Am. J. Primatol.* 73.
- [7] Zapata-Valencia JI, Ortega-Valencia S, Silva-Cuero YK, Castillo-Castillo LS, Ortega-Ruiz LS, Cardona- Ortiz A, et al. (2021) Frecuencia de enteroparásitos en primates Cebidae y Callitrichidae del Zoológico de Cali, Colombia: implicaciones zoonóticas. *Biomédica*. 41(Supl.1):60-81.
- [8] Rangel-Negrín, A., Alfaro, J. L., Valdez, R. A., Romano, M. C., & Serio-Silva, J. C. (2009). Stress in Yucatan spider monkeys: effects of environmental conditions on fecal cortisol levels in wild and captive populations. *Animal Conservation*, 496–502.
- [9] Schwarzberg,F., Mostl,E., Palma,R[18] Zapata-Valencia JI, Ortega-Valencia S, Silva-Cuero YK, Castillo-Castillo LS, Ortega-Ruiz LS, Cardona- Ortiz A, et al. (2021) Frecuencia de enteroparásitos en primates Cebidae y Callitrichidae del Zoológico de Cali, Colombia: implicaciones zoonóticas. *Biomédica*. 41(Supl.1):60-81., & Bamberg,E. (1996). Fecal steroid analysis for non-invasive monitoring of reproductive status in farm, wild and zoo animals. *Animal Reproduction Science*, 515-526.
- [10] Espinosa, E., de la Torre, S., Arahana, V., & Torres, M. (2015). Evaluación del nivel de estrés en leoncillos (*Cebuella pygmaea*) mediante la medición de cortisol en heces. *Avances en Ciencias e Ingenierías*, B24-B29.
- [11] Aronsen, G. P.; Beuerlein, M. M.; Watts, D. P.; Bribiescas, R. G. (2015). Redtail and red colobus monkeys show intersite urinary cortisol concentration variation in Kibale National Park, Uganda. *Conservation Physiology*, 3(1), cov006–cov006. doi:10.1093/conphys/cov006
- [12] Colin A. Chapman; Tania L. Saj; Tamaini V. Snaith (2007). Temporal dynamics of nutrition, parasitism, and stress in colobus monkeys: Implications for population regulation and conservation. , 134(2), 240–250. doi:10.1002/ajpa.20664
- [13] Koski KG, Scott ME. (2001). Gastrointestinal nematodes, nutrition and immunity: breaking the negative spiral. *Annu Rev Nutr* 21:297–321.
- [14] Tamaini V. Snaith; Colin A. Chapman; Jessica M. Rothman; Michael D. Wasserman (2008). Bigger groups have fewer parasites and similar cortisol levels: a multi-group analysis in red colobus monkeys. , 70(11), 1072–1080. doi:10.1002/ajp.20601
- [15] Gillespie, T.R. & Chapman, C.A. (2006). Prediction of parasite infection dynamics in primate metapopulations based on attributes of forest fragmentation. *Conserv. Biol.* 20, 441e448.

- [16] Santa Cruz, A.C.M., Borda, J.T., Gomez, L., de Rott, M.I.O., (2000). Endoparasitosis in captive *Cebus apella*. *Lab. Prim. Newsl.* 39, 10.
- [17] Martin-Solano, S., Carrillo-Bilbao, G. A., Ramirez, W., Celi-Erazo, M., Huynen, M.-C., Levecke, B., & Losson, B. (2017). Gastrointestinal parasites in captive and free-ranging *Cebus albifrons* in the Western Amazon, Ecuador. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 209–218.
- [18] Beltran - Bech, S. & Richard, F.-J. (2014). Impact of infection on mate choice. *Anim. Behav.* 6, 159e170.
- [19] Wren, B.T., Remis, M.J., Gillespie, T.R. (2010). Social Grooming in Primates: Hygienic or Health Risk?, vol. 291. XXIII International Primatological Society, KYOTO.
- [20] Vitasovic, S.K. & Wade, S.E. (2006). Parasites of free-ranging black howler monkeys (*Alouatta pigra*) from Belize and Mexico. *American Journal of Primatology*, 1089-1097.
- [21] Zapata-Valencia JI, Ortega-Valencia S, Silva-Cuero YK, Castillo-Castillo LS, Ortega-Ruiz LS, Cardona- Ortiz A, et al. (2021) Frecuencia de enteroparásitos en primates Cebidae y Callitrichidae del Zoológico de Cali, Colombia: implicaciones zoonóticas. *Biomédica*. 41(Supl.1):60-81.
- [22] Colin A. Chapman; Tania L. Saj; Tamaini V. Snaith (2007). Temporal dynamics of nutrition, parasitism, and stress in colobus monkeys: Implications for population regulation and conservation. , 134(2), 240–250. doi:10.1002/ajpa.20664
- [23] Nizeyi, J.B., Sebunya, D., Dasilva, A.J., Cranfield, M.R., Pieniazek, N.J., Graczyk, T.K., (2002). Cryptosporidiosis in people sharing habitats with free-ranging Mountain gorillas (*Gorilla gorilla beringei*), Uganda. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 66, 442e444.
- [24] Dunbar, R. I. M. (2010). The social role of touch in humans and primates: Behavioural function and neurobiological mechanisms. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 34(2), 260–268. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2008.07.001>
- [25] Silk, J. B., Beehner, J. C., Bergman, T. J., Crockford, C., Engh, A. L., Moscovice, L. R., & Cheney, D. L. (2009). The benefits of social capital: Close social bonds among female baboons enhance offspring survival. *Proceedings of the Royal Society. B-Biological Sciences*, 276(1670), 3099–3104. <https://doi.org/10.1098/rspb.2009.0681>
- [26] Yamanashi, Y., Teramoto, M., Morimura, N., Nogami, E., & Hirata, S. (2018). Social relationship and hair cortisol level in captive male chimpanzees (*Pan troglodytes*). *Primates*, 59(2), 145–152. <https://doi.org/10.1007/s10329-017-0641-8>
- [27] Sapolsky, R. M. (2005). The influence of social hierarchy on primate health. *Science*, 308(5722), 648–652. <https://doi.org/10.1126/science.1106477>
- [28] Schrock, Allie E.; Leard, Corinne; Lutz, Meredith C.; Meyer, Jerrold S.; Gazes, Regina Paxton (2019). Aggression and social support predict long-term cortisol levels in captive tufted capuchin monkeys (*Cebus* [Sapajus] *apella*). *American Journal of Primatology*, (), e23001–. doi:10.1002/ajp.23001.
- [29] Lynch, J. W., Ziegler, T. E., & Strier, K. B. (2002). Individual and Seasonal Variation in Fecal Testosterone and Cortisol Levels of Wild Male Tufted Capuchin Monkeys, *Cebus apella nigratus*. *Hormones and Behavior*, 41(3), 275–287. doi:10.1006/hbeh.2002.1772
- [30] Behie, A.M., Pavelka, M.S.M., & Chapman, C.A. (2010). Sources of variation in fecal cortisol levels in howler monkeys in Belize. *American Journal of Primatology*, 600-606.
- [31] Ziegler, T.E., Santos, C.V., Pissinatti, A. & Strier, K.B. (1997). Steroid excretion during the ovarian cycle in captive and wild muriqui, *Brachyteles Arachnoides*. *Am.J.Primatol.* 42, 311–321.
- [32] Karen B. Strier (1987). Activity budgets of woolly spider monkeys, or muriquis (*Brachyteles arachnoides*). , 13(4), 385–395. doi:10.1002/ajp.1350130404

- [33] Sue Boinski; Sonya P. Swing; Timothy S. Gross; Jerry K. Davis (1999). Environmental enrichment of brown capuchins (*Cebus apella*): Behavioral and plasma and fecal cortisol measures of effectiveness. , 48(1), 49–68.
- [34] López-Flores, M. F., García-Orduña, F., Palestino-Sánchez, R. M. ., Juárez-Portilla, C. J., Zepeda-Hernández, R. C. ., & Roviroso-Hernández, M. de J. . (2020). Primates en cautiverio: uso en la ciencia, tráfico ilegal y consideraciones para su bienestar y conservación. *Revista Eduscientia. Divulgación De La Ciencia Educativa*, 3(5), 25–42.
- [35] Salas, M., y Manteca, X. (2017). Efecto del público en los animales de zoológico. *Behaviour*, 94, 341-352.
- [36] Jessica J. Vandeleest; Brenda McCowan; John P. Capitanio (2011). Early rearing interacts with temperament and housing to influence the risk for motor stereotypy in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). , 132(1-2), 81–89. doi:10.1016/j.applanim.2011.02.010
- [37] Christian P. Howell & Susan M. Cheyne (2018): Complexities of Using Wild versus Captive Activity Budget Comparisons for Assessing Captive Primate Welfare, *Journal of Applied Animal Welfare Science*, DOI: 10.1080/10888705.2018.1500286
- [38] Novak, M., & Suomi, S. (1988). Psychological well-being of primates in captivity. *The American Psychologist*, 43(10), 765–773
- [39] Honess, P. E., & Marin, C. M. (2006). Behavioural and physiological aspects of stress and aggression in nonhuman primates. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 30(3), 390–412.
- [40] Brousset, D.; Galindo, F.; Valdez, R.; Romano, M., Schuneman, A. (2005). "Cortisol in saliva, urine and feces: non-invasive assessment of wild animals". *Etiología, fauna Silvestre y animales de laboratorio*, Universidad Nacional Autónoma de México: México D.F.: 335:337.
- [41] Porter, M Leila., de la Torre, Stella., Pérez, Pedro., Cortés, L. (2021). Taxonomic diversity of Cebueilla in the western Amazon: Molecular, morphological and pelage diversity of museum and free-ranging specimens. *Physical Anthropology*, 175(1), 251–267.
- [42] Estrada, A., Garber, P. A., Rylands, A. B., Roos, C., Fernandez-Duque, E., Di Fiore, A., Li, B. (2017). Impending extinction crisis of the world's primates: Why primates matter. *Science Advances*, 3(1), e1600946. doi:10.1126/sciadv.1600946
- [43] De la Torre & Tirira, D. G. (2018). Introducción. Estado de Conservación de Los Primates Del Ecuador, 15–20.
- [44] Tirira, D. G. (2017). Guía de campo de los mamíferos del Ecuador. (2a. edición A. E. de Mastozoología, Ed. Quito: Editorial Murciélagos Blanco.
- [45] Harris, J., D. G. Tirira, P. Álvarez y V. Mendoza. 2008. Altitudinal range extension for *Cebus albifrons* (Primates: Cebidae) in Southern Ecuador. *Neotropical Primates* 15(1): 22–24.
- [46] Rylands, A. B., R. A. Mittermeier, B. M. Bezerra, F. P. Paim y H. L. Queiroz. 2013. Family Cebidae (Squirrel monkeys and Capuchins). Pp. 348–413, en: *Handbook of the mammals of the World. Volume 3: Primates* (R. A. Mittermeier, A. B. Rylands y D. E. Wilson). Lynx Edicions. Barcelona.
- [47] Álvarez-Solas, S., Silva, M. A., De la Torre, S., Jiménez P., P. J., & Tirira, D. G. (2018). Capuchino del Marañón *Cebus yuracus* Hershkovitz, 1949. Estado de Conservación de Los Primates Del Ecuador, 72–81.
- [48] Álvarez-Solas, S. Á., Ramis, L., Cristina, M., Mora, P., & Torres, T. C. (2018). Guía de campo de los mamíferos del piedemonte de la Reserva Biológica Colonso Chalupas.
- [49] Matthews, L. J. (2009). Activity patterns, home range size, and intergroup encounters in *Cebus albifrons* support existing models of capuchin socioecology. *International Journal of Primatology* 30(5): 709–728.

- [50] Tirira, D. G. (2013). Tráfico de primates nativos en el Ecuador. Boletín Técnico 11, Serie Zoológica 8–9: 36–57.
- [51] Tirira, D.G. 2021. Lista Roja de los mamíferos del Ecuador, en Libro rojo de los mamíferos del Ecuador (3a edición). Asociación Ecuatoriana de Mastozoología, Fundación Mamíferos y Conservación, Pontificia Universidad Católica del Ecuador y Ministerio del Ambiente Agua y Transición Ecológica.
- [52] CITES. 2018. Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres. Sitio oficial: <<https://cites.org/esp>> [acceso: 2018-03-30].
- [53] López, Marie & Tárano, Zaida. (2008). Comportamiento social del mono capuchino común *Cebus olivaceus* (Primates: Cebidae) en tres exhibiciones zoológicas de Caracas, Venezuela. Revista de Biología Tropical. 56. 1503-1520. 10.15517/rbt.v56i3.5725.
- [54] Tirira, D. G., S. de la Torre y G. Zapata Ríos (eds.). (2018). Plan de acción para la conservación de los primates del Ecuador. Ministerio del Ambiente del Ecuador (MAE) / Grupo de Estudio de Primates del Ecuador (GEPE) / Asociación Ecuatoriana de Mastozoología (AEM). Quito.
- [55] INAMHI, 2021. Datos meteorológicos para las Provincias de Pastaza y de Napo del Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología. In: INAMHI. INAMHI, Ecuador, Quito.
- [56] Minna J. Hsu; Chien-Ching Kao; Govindasamy Agoramoorthy (2009). *Interactions between visitors and Formosan macaques (Macaca cyclopis) at Shou-Shan Nature Park, Taiwan.* , 71(3), 214–222. doi:10.1002/ajp.20638
- [57] Altmann, J. (1974). Observational study of behavior: sampling methods. Behaviour, 49(3), 227-266.
- [58] Oxford Biomedical Research. (2015). Enzyme Immunoassay for cortisol.
- [59] Ziegler, T.; Scheffler, G.; Snowden, C. (1995). "The relationship of cortisol levels to social environment and reproductive functioning in female cotton top tamarins, *Saguinus oedipus*". Hormones and Behavior, 29: 407- 424.
- [60] Flynn, R., 1(973). Parasites of Laboratory Animals. The Iowa State University Press, Ames, Iowa.
- [61] Hasegawa, H., Huffman, M.A., Chapman, C., (2009). Useful diagnostic references and images of protozoans, helminths, and nematodes commonly found in wild primates. In: Huffman, M.A., Chapman, C. (Eds.), Primate Parasite Ecology. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 507e513.
- [62] RStudio Team (2015) RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA (Computer Software v0.98.1074). <http://www.rstudio.com/>
- [63] Davis, N., Schaffner, C.M. & Smith, T.E. (2005). Evidence that zoo visitors influence HPA activity in spider monkeys (*Ateles geoffroyi rufiventris*). Appl. Anim. Behav. Sci. 90, 131–141.
- [64] Homan, R.N., Regosin, J.V., Rodrigues, D.M., Reed, J.M., Windmiller, B.S. & Romero, L.M. (2003). Impacts of varying habitat quality on the physiological stress of spotted salamanders (*Ambystoma maculatum*). Anim. Conserv. 6, 11–18.
- [65] Creel, S., Fox, J.E., Hardy, A., Sands, J., Garrott, B. & Peterson, R.O. (2002). Snowmobile activity and glucocorticoid stress responses in wolves and elk. Conserv. Biol. 16, 809–814.
- [66] Marra, P.P. & Holberton, R.L. (1998). Corticosterone levels as indicators of habitat quality: effects of habitat segregation in a migratory bird during the non-breeding season. Oecologia 116, 284–292.
- [67] Laëtitia Maréchal; Stuart Semple; Bonaventura Majolo; Mohamed Qarro; Michael Heistermann; Ann MacLarnon (2011). Impacts of tourism on anxiety and physiological stress levels in wild male Barbary macaques. , 144(9), 0–2193. doi:10.1016/j.biocon.2011.05.010
- [68] G. Mitchell; C.T. Tromborg; Jennifer Kaufman; Shawna Bargabus; Rosileen Simoni; Victor Geissler (1992). More on the 'influence' of zoo visitors on the behaviour of captive primates. , 35(2), 189–198. doi:10.1016/0168-1591(92)90009-z

- [69] G. Mitchell; Fred Herring; Chris Tromborg; Brad Dowd; Sheila Steiner; Stephanie Obradovich (1992). Targets of aggressive facial displays by golden-bellied mangabeys (*Cercocebus galerritus chrysogaster*) at the Sacramento Zoo. , 33(2-3), 249–259. doi:10.1016/s0168-1591(05)80012-7
- [70] Pozo-Montuy, G. & Serio-Silva, J.C. (2007). Movement and resource use by a group of *Alouatta pigra* in a forest fragments Balance, México. *Primates* 48,102–107
- [71] Waitt, C. & Buchanan-Smith, H.M. (2001). What time is feeding? How de lays and anticipation of feeding schedules affect stump-tailed macaque behaviour. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 75, 75–85.
- [72] Ange-van Heugten, Kimberly D.; van Heugten, Eric; Timmer, Saskia; Bosch, Guido; Elias, Abahor; Whisnant, Scott; Swarts, Hans J. M.; Ferket, Peter; Verstegen, Martin W. A. (2009). Fecal and Salivary Cortisol Concentrations in Woolly (*Lagothrix ssp.*) and Spider Monkeys (*Ateles spp.*). *International Journal of Zoology*, 2009(), 1–9. doi:10.1155/2009/127852
- [73] Shepherdson, D.J., (1988). The application and evaluation of behavioural enrichment in zoos. *Primate Rep.* 22, 35– 42.
- [74] Geoffrey R. Hosey (2005). How does the zoo environment affect the behaviour of captive primates?. , 90(2), 107–129. doi:10.1016/j.applanim.2004.08.015
- [75] Nagle C, Denari J. (1983). The cebus monkey (*Cebus apella*). In: Hearn J, editor. *Reproduction in New World primates*. Lancaster: MTP Press. p 39–67.
- [76] Sarah D. Carnegie., Linda M. Fedigan., Toni E. Ziegler (2011). Social and environmental factors affecting fecal glucocorticoids in wild, female white-faced capuchins (*Cebus capucinus*). , 73(9), 861–869. doi:10.1002/ajp.20954
- [77] Susan Perry (1996). Female-female social relationships in wild white-faced capuchin monkeys, *Cebus capucinus*, 40(2), 167–182.
- [78] Ferreira, J., Cordeiro, M., Sousa, M., Freire, M. (2010). “Morning and afternoon patterns of fecal cortisol excretion among reproductive and non-reproductive male and female common marmosets, *Callithrix jacchus*”. *Biolo- gical Rhythm Research*, 32(2): 159-167.
- [79] Gayle Byrne; Stephen J Suomi (2002). Cortisol reactivity and its relation to homecage behavior and personality ratings in tufted capuchin (*Cebus apella*) juveniles from birth to six years of age. , 27(1-2), 139–154. doi:10.1016/s0306-4530(01)00041-5
- [80] Haase, Catherine G.; Long, Andrea K.; Gillooly, James F. (2016). Energetics of stress: linking plasma cortisol levels to metabolic rate in mammals. *Biology Letters*, 12(1), 20150867–. doi:10.1098/rsbl.2015.0867
- [81] Mati, Vitor LuÃ-s TenÃ³rio; Pinto, Hudson Alves; Melo, Alan Lane (2020). Treatment of primate platynosomosis: A word of caution about the use of praziquantel in marmosets. *Journal of Medical Primatology*, (), jmp.12503–. doi:10.1111/jmp.12503
- [82] Levecke, B., 2010. *The Importance of Gastrointestinal protozoa in Captive Non- human Primates*. Ghent University, Ghent.
- [83] Verweij, J., Vermeer, J., Brienens, E.T., Blotkamp, C., Laeijendecker, D., van Lieshout, L., Polderman, A., 2003. *Entamoeba histolytica* infections in captive primates. *Parasitol. Res.* 90, 100e103.
- [84] McGrew, W.C., Tutin, C.E.G., Collins, D.A., File, S.K., (1989). Intestinal parasites of sympatric *Pan troglodytes* and *Papio Spp.* at two sites: gombe (Tanzania) and Mt. Assirik (Senegal). *Am. J. Primatol.* 17, 147e155.
- [85] Chinchilla, M., Guerrero, O., Gutierrez, G., Sánchez, R., & Valerio, I. (2007). Parásitos en monos carablanca *Cebus capucinus* (Primates: Cebidae) de Costa Rica. *Parasitología latinoamericana*, 170 - 175.

- [86] Evans, W.S., Wong, A., Hardy, M., Currie, R.W., Vanderwel, D., (1998). Evidence that the factor used by the tapeworm, *Hymenolepis diminuta*, to direct the foraging of its intermediate host, *Tribolium confusum*, is a volatile attractant. *J. Parasitol.* 84, 1098e1101.
- [87] Michaud, C., Tantalean, M., Ique, C., Montoya, E., Gozalo, A., (2003). A survey for helminth parasites in feral New World non-human primate populations and its comparison with parasitological data from man in the region. *J. Med. Primatol.* 32, 341e345.
- [88] Ocaido, M., Dranzoa, C., Cheli, P., (2003). Gastrointestinal parasites of baboons (*Papio anubis*) interacting with humans in West bugwe forest reserve, Uganda. *Afr. J. Ecol.* 41, 356e359.
- [89] Bezjian, M., Gillespie, T.R., Chapman, C.A., Greiner, E.C., (2008). Coprologic evidence of gastrointestinal helminths of forest baboons, *Papio anubis*, in kibale national Park, Uganda. *J. Wildl. Dis.* 44, 878e887.
- [90] Cardenas-Callirgos, J., Fernandez-Conga, D., Montes-Aliaga, D., Sanchez-Perea, N., Valencia-Límaco, W., Valderrama-Bazan, W., Mayor-Aparicio, P., 2010. Presencia de *Prosthenorchis elegans* (DIESING, 1851) en primates neotropicales obtenidos por caza de subsistencia en la comunidad nueva esperanza, Loreto-Perú. In: Iannacone, J. (Ed.), *II Congreso Internacional de Parasitología Neotropical "El rol de la Parasitología Neotropical en la Salud Global"*. Peruvian Association of Helminthology and Associates Invertebrates (APHIA), Ricardo Palma University, Lima, Perú.
- [91] Perez, J., Ramírez, M., Hernandez, C.A., 2008. Surgical intervention for removing intestinal *Prosthenorchis* sp. in a captive white-footed tamarin (*Saguinus leucopus*). *Rev. Colomb. Cienc. Pecuaria* 21, 2008.
- [92] Tavela, A.d.O., Fuzessy, L.F., Silva, V.H.D.e., Silva, F.d.F.R.d., Junior, M.C., Silva, I.d.O., Souza, V.B., 2013. Helminths of wild hybrid marmosets (*Callithrix* sp.) living in an environment with high human activity. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 22, 391e397
- [93] Phillips, K.A., Haas, M.E., Grafton, B.W., Yrivarren, M., 2004. Survey of the gastrointestinal parasites of the primate community at Tambopata National Reserve. *Peru. J. Zool.* 264, 149e151.
- [94] Chinchilla, M., Urbani, B., Idalia, V. y Vanegas, J. (2010). Parasitosis intestinal en monos capuchinos cariblanos *Cebus capucinus* (Primates: Cebidae) de un área protegida en la provincia de Limón, noreste de Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 58(4), 1335-1346. Retrieved September 04, 2
- [95] Catenacci, Lilian S.; Colosio, Adriana C.; Oliveira, Leonardo C.; De Vleeschouwer, Kristel M.; Munhoz, Alexandre D.; Deem, Sharon L.; Pinto, Jaqueline M. S. (2016). *Occurrence of <i>Prosthenorchis elegans</i> in Free-living Primates from the Atlantic Forest of Southern Bahia, Brazil. Journal of Wildlife Diseases*, 52(2), 364–368. doi:10.7589/2015-06-163
- [96] Matsubayashi M, Takami K, Kimata I, Nakanishi T, Tani H, Sasai K. (2005) Survey of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. infections in various animals at a zoo in Japan. *J Zoo Wildl Med.* 2005;36:331-5. <https://doi.org/10.1638/04-032.1>
- [97] Parkar U, Traub RJ, Vitali S, Elliot A, Levecke B, Robertson I, (2010) Molecular characterization of *Blastocystis* isolates from zoo animals and their animal-keepers. *Vet Parasitol.* 169:8-17. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.12.032>
- [98] O'Leary, H., Fa, J.E., 1993. Effects of tourists on Barbary macaques (*Macaca sylvanus*) in Gibraltar. *Folia Primatol.* 61, 77–91
- [99] Fuentes, A., (2006). Patterns and context of human-macaque interactions in Gibraltar. In: Hodges, J.K., Cortes, J. (Eds.), *The Barbary Macaque: Biology, Management and Conservation*. Nottingham University Press, Nottingham, pp.169–184

- [100] Clark Peter R., Waller Bridget M. (2022). Agil Muhammad and Micheletta Jerome Crested macaque facial movements are more intense and stereotyped in potentially risky social interactions *Phil. Trans. R. Soc.*
- [101] Redbo, I. (1993). Stereotypies and cortisol secretion in heifers subjected to tethering, 38(3-4), 213–225. doi:10.1016/0168-1591(93)90020-p
- [102] Parra, C. (2016). Evaluación de los patrones de comportamiento de *Saguinus leucopus* asociados a cuatro condiciones de encierro diferentes y su relación con niveles de estrés.
- [103] Hutchins, M. (2006). Variation in nature: Its implications for zoo elephant management. *Zoo Biology*, 25(3), 161–171.
- [104] Veasey, J. S., Waran, N. K., & Young, R. J. (1996). On comparing the behaviour of zoo housed animals with wild conspecifics as a welfare indicator. *Animal Welfare*, 5, 13–24
- [105] Mason, G., Clubb, R., Latham, N., & Vickery, S. (2007). Why and how should we use environmental enrichment to tackle stereotypic behaviour? *Applied Animal Behaviour Science*, 102, 163–188.
- [106] Mason, G. J., & Latham, N. (2004). Can't stop, won't stop: Is stereotypy a reliable animal welfare indicator? *Animal Welfare*, 13, 57–69.
- [107] Robinson, L. M., Morton, F. B., Gartner, M. C., Widness, J., Paukner, A., Essler, J. L., Brosnan, S. F., & Weiss, A. (2016). Divergent personality structures of brown (*Sapajus apella*) and white-faced capuchins (*Cebus capucinus*). *Journal of Comparative Psychology*, 130(4), 305–312.
- [108] Tiddi, B., Pfoh, R. & Agostini, I. The impact of food provisioning on parasite infection in wild black capuchin monkeys: a network approach. *Primates* 60, 297–306 (2019).
- [109] Verweij, J., Vermeer, J., Brienens, E.T., Blotkamp, C., Laeijendecker, D., van Lieshout, L., Polderman, A., 2003. *Entamoeba histolytica* infections in captive primates. *Parasitol. Res.* 90, 100e
- [110] Tachibana, H., Yanagi, T., Pandey, K., Cheng, X.-J., Kobayashi, S., Sherchand, J.B., Kanbara, H., 2007. An *Entamoeba* sp. strain isolated from rhesus monkey is virulent but genetically different from *Entamoeba histolytica*. *Mol. Biochem Parasitol.* 153, 107e114.
- [111] MacIntosh, Andrew J. J.; Jacobs, Armand; Garcia, Cécile; Shimizu, Keiko; Mouri, Keiko; Huffman, Michael A.; Hernandez, Alexander D.; Korb, Judith (2012). Monkeys in the Middle: Parasite Transmission through the Social Network of a Wild Primate. *PLoS ONE*, 7(12), e51144–. doi:10.1371/journal.pone.0051144
- [112] Klain, V. F., Bohrer, Bohrer-Mentz, M., Bustamante-Manrique, S., et al. (2021) Habitat Patch Size and Landscape Structure Influence, Although Weakly, the Parasite Richness of an Arboreal Folivorous-frugivorous Primate in Anthropogenic Landscapes,
- [113] Helenbrook, William D.; Wade, Susan E.; Shields, William M.; Stehman, Stephen V.; Whipps, Christopher M. (2015). Gastrointestinal Parasites of Ecuadorian Mantled Howler Monkeys (*Alouatta palliata aequatorialis*) Based on Fecal Analysis. *Journal of Parasitology*, 101(3), 341–350. doi:10.1645/13-356.1
- [114] Little, K. A., & Sommer, V. (2002). Change of enclosure in langur monkeys: Implications for the evaluation of environmental enrichment. *Zoo Biology*, 21(6), 549–559
- [115] Yamanashi, Y., & Hayashi, M. (2011). Assessing the effects of cognitive experiments on the welfare of captive chimpanzees (*Pan troglodytes*) by direct comparison of activity budget between wild and captive chimpanzees. *American Journal of Primatology*, 73(12), 1231–1238.