



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES Y AGRIMENSURA

Ontogenia comportamental y fisiológico en juveniles de
monos aulladores negros y dorados (*Alouatta caraya*)

Tesis para obtener el título de Doctora de la Universidad Nacional del
Nordeste en Biología

María Sol Gennuso

Director: Dr. Martín Kowalewski

Co-Directora: Dra. Claudia R. Valeggia

Lugar de trabajo: Estación Biológica Corrientes – Museo Argentino de Ciencias Naturales
“Bernardino Rivadavia” (CONICET)

Corrientes 2018

A mis padres, Alba y Gustavo

Índice

Índice de Figuras.....	iv
Índice de Tablas.....	vii
Agradecimientos.....	ix
Resumen.....	xiii
Abstract.....	xv

Capítulo I: El período juvenil en primates

Introducción general.....	1
1.1. Historia de vida.....	3
1.2. El período juvenil.....	3
¿Es un período riesgoso?	3
1.3. El período juvenil extendido tienen ventajas adaptativas.....	5
1.4. Un período de cambios.....	7
Alimentación	8
Juego.....	8
Vecino más cercano.....	9
Interacción inter-grupo.....	9
Comportamientos sexuales.....	10
1.5. Diferencias sexuales en primates.....	10
Dimorfismo y dicromatismo sexual.....	11
Diferencias sexuales en el comportamiento.....	12
1.6. Expresión de hormonas esteroideas y su relación con el desarrollo.....	15
Eje reproductivo (hipotalámico-hipofisario-gonadal).....	16
Eje hipotalámico-hipofisario-adrenal.....	22
1.7. <i>Alouatta caraya</i> , un buen modelo para estudiar el período juvenil.....	23
1.8. Preguntas, objetivos e hipótesis.....	27
1.9. Estructura de la tesis.....	30

Capítulo II: Métodos

2.1. Sitio de estudio.....	31
2.2. Sujetos y Grupos de estudio.....	32
2.3. Datos comportamentales.....	37
Diseño del cronograma de toma de datos.....	37
Metodología de toma de datos de comportamiento.....	37
Descripción de los comportamientos.....	37
2.4. Análisis de hormonas.....	41
Diseño del cronograma de toma de muestras de orina.....	41
Colecta de muestras de orina.....	41
Análisis de perfiles hormonales mediante ensayos inmuno-enzimáticos (EIA).....	42
Descripción de métodos no invasivos para estimar niveles de hormonas.....	44
2.5. Análisis estadísticos.....	46

Capítulo III: El comportamiento de juveniles de *Alouatta caraya*

3.1. Introducción.....	47
Interacción con crías.....	49
Acicalamiento de pares.....	49
Comportamientos agresivos.....	50
Aullidos.....	51
Juego social.....	51
Comportamientos sexuales.....	52
3.2. Métodos.....	53
Modelo estadístico.....	53
Análisis cualitativo.....	54
3.3. Resultados.....	54
Patrones de comportamiento de actividad diaria.....	54
Diferencias en los distintos comportamientos sociales en relación al sexo y la edad.....	56
Interacción con las crías.....	59
Acicalamiento.....	61
Comportamientos agresivos.....	61
Aullidos.....	63
Juego social.....	63
Comportamiento sexual.....	69
3.4. Discusión.....	66
Patrones de actividad generales	66
Comportamientos sociales.....	66
Interacción con las crías.....	68
Acicalamiento.....	69
Comportamientos agresivos.....	69
Aullidos.....	70
Juego social.....	71
Comportamiento sexual.....	73
3.5. Conclusiones.....	74

Capítulo IV: Perfil de las hormonas sexuales y su relación con el comportamiento en hembras juveniles

4.1. Introducción.....	76
Perfiles de PdG-E1G individuales y comparación con hembras adultas.....	76
Utilización de metabolitos para estimar el ciclo.....	76
Ciclo ovárico en primates platirrinos.....	77
Relación entre hormonas sexuales (progesterona y estradiol) y el comportamiento.....	78
4.2. Métodos.....	81
4.3. Resultados.....	82
Perfiles hormonales.....	82
Relación entre los niveles de hormona y comportamientos.....	87
Comportamientos sexuales	87
Comportamiento de interacción con crías y acicalamiento de Pares.....	87
4.4. Discusión.....	89
Hormonas sexuales y comportamiento.....	91

Hormonas sexuales y comportamientos sexuales.....	91
Hormonas sexuales y comportamientos no-reproductivos (interacción con cría y acicalamiento de pares).....	92
4.5. Conclusiones	93

Capítulo V: Perfil de testosterona y su relación con el comportamiento en machos juveniles

5.1. Introducción.....	94
Testosterona y comportamiento.....	94
Testosterona en platirrinos.....	96
Testosterona en el período juvenil.....	97
5.2. Métodos.....	100
5.3. Resultados.....	100
Perfiles hormonales.....	101
Relación entre los niveles de hormona y comportamiento.....	106
5.4. Discusión.....	108
Testosterona y comportamiento sexuales.....	108
Testosterona y comportamientos agresivos y juego rudo.....	109
5.5. Conclusiones.....	112

Capítulo VI: Cortisol: metabolismo del estrés en el período juvenil

6.1. Introducción.....	113
6.2. Métodos.....	114
6.3. Resultados.....	115
Perfiles individuales.....	116
Relación entre uGC y el sexo y edad.....	123
6.4. Discusión.....	124
6.5. Conclusiones.....	126

Capítulo VII: Conclusiones generales

7.1. Principales conclusiones.....	127
7.2. El período juvenil, un período de cambio.....	129
El principio del fin: la pubertad.....	132
7.3. Aporte de las hormonas sexuales en la categorización de las etapas en la historia de vida en primates.....	134
7.4. Aportes de los resultados en <i>A. caraya</i> a las hipótesis del período juvenil extendido en el orden Primates.....	137
7.5. Perspectivas futuras de investigación.....	140
7.6. Consideraciones finales.....	142

ANEXOS

Anexo 1: necropsia macho juvenil	143
Anexo 2: recambio de macho central.....	144

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	146
--	------------

Índice de Figuras

Capítulo I

Figura 1.1. Modelo de acción del sistema endócrino.....	16
Figura 1.2. Esquema de la doble activación del eje reproductivo durante el desarrollo	17
Figura 1.3. Niveles de Progesterona, estradiol y LH en un ciclo generalizado no conceptivo de humano.....	21
Figura 1.4. Machos y hembras juveniles de <i>Alouatta caraya</i>	24
Figura 1.5. Cambios en el peso (Kg) según la edad (años) en <i>Alouatta caraya</i>	26
Figura 1.6. Medidas craneocefálicas de <i>A. caraya</i> en distintos estadios.....	26

Capítulo II

Figura 2.1. Localización del sitio de estudio.....	31
Figura 2.2. Áreas de acción de los grupos de <i>A. caraya</i> seleccionados.....	33
Figura 2.3. Colecta de muestras de orina.....	42
Figura 2.4. Ensayos inmuno-enzimáticos de las muestras de orina.....	44
Figura 2.5. Tiempo de expresión hormonal en distintos tipos de muestra	45

Capítulo III

Figura 3.1. Porcentaje de tiempo empleado en cada actividad por individuo.....	55
Figura 3.2. Porcentaje (%) de comportamientos generales para cada categoría de sexo y edad.	56
Figura 3.3. Porcentaje de tiempo dedicado a cada comportamiento social por todos los juveniles de <i>A. caraya</i>	57
Figura 3.4. Tiempo (min /horas de observación) dedicado al comportamiento de interacción con cría para cada sexo.....	60
Figura 3.5. Porcentaje de tiempo dedicado a: (a) cada tipo de interacción con crías en general y (b) según cada categoría de sexo y edad.....	60
Figura 3.6. Tiempo (min /horas de observación) dedicado al acicalamiento para cada sexo.....	61
Figura 3.7. Tasas de los distintos tipos de comportamiento agresivo según sexo y edad.....	62
Figura 3.8. Dirección de las interacciones agresivas para cada categoría de edad sexo de los juveniles.....	62
Figura 3.9. Proporción de tiempo dedicada a los aullidos (tiempo en seg aullando/tiempo total de observación en seg) a lo largo del período juvenil en machos y hembras de <i>A. caraya</i>	63
Figura 3.10. Proporción de tiempo dedicada a juego social (tiempo en seg en juego social/tiempo total de observación en seg) a lo largo del período juvenil en machos y hembras de <i>A. caraya</i>	64
Figura 3.11. Porcentaje (%) de tiempo dedicado al juego social en (H) hembras y (M) machos	64

Figura 3.12. Porcentaje de tiempo dedicado a (a) cada tipo de juego social en general, (b) para cada categoría de sexo y edad.....	65
Figura 3.13. Tasa de comportamientos sexuales en hembras (H) y machos (M).	65

Capítulo IV

Figura 4.1. Perfiles de PdG y E1G de Almendra.....	83
Figura 4.2. Perfiles de PdG y E1G de Gramínea.....	83
Figura 4.3. Perfiles de PdG y E1G de Quena.....	84
Figura 4.4. Perfiles de PdG y E1G de Vainilla.....	84
Figura 4.5. Perfiles de PdG y E1G de Pepa.....	85
Figura 4.6. Perfiles de PdG y E1G de Calimba.....	85
Figura 4.7. Concentración promedio de PdG (ng/ml/SG) en función de la edad.....	86
Figura 4.8. Concentración promedio de E1G (ng/ml/SG) en función de la edad. ...	87
Figura 4.9. Aumento en la proporción de tiempo dedicada al acicalamiento de pares en función de los niveles de PdG según el modelo GLMM seleccionado.....	88

Capítulo V

Figura 5.1. Relación entre los niveles de testosterona y la edad.....	101
Figura 5.2. Perfil de Testosterona de Feo.....	102
Figura 5.3. Perfil de Testosterona de Bongó.....	103
Figura 5.4. Perfil de Testosterona de Rodrigo.....	103
Figura 5.5. Perfil de Testosterona de Samba.....	104
Figura 5.6. Perfil de Testosterona de Caramelo.....	105
Figura 5.7. Perfil de Testosterona de Silvio.....	105
Figura 5.8. Perfil de Testosterona de Huevo.....	106
Figura 5.9. Disminución en la proporción de tiempo dedicada al juego rudo en función de los niveles de T según el modelo GLMM seleccionado.....	107

Capítulo VI

Figura 6.1. Perfil de uGC de Feo.....	116
Figura 6.2. Perfil de uGC de Bongó.....	117
Figura 6.3. Perfil de uGC de Samba.....	117
Figura 6.4. Perfil de uGC de Rodrigo.....	118
Figura 6.5. Perfil de uGC de Caramelo.....	118
Figura 6.6. Perfil de uGC de Silvio.....	119
Figura 6.7. Perfil de uGC de Huevo.....	119
Figura 6.8. Perfil de uGC de Almendra.....	120
Figura 6.9. Perfil de uGC de Gramínea.....	120
Figura 6.10. Perfil de uGC de Quena.....	121
Figura 6.11. Perfil de uGC de Vainilla.....	121
Figura 6.12. Perfil de uGC de Pepa.....	122
Figura 6.13. Perfil de uGC de Calimba.....	122

Figura 6.14. Relación entre la concentración de uGC y la edad en hembras y machos juveniles de <i>Alouatta caraya</i>	123
--	-----

Capítulo VII

Figura 7.1. Cambios en el comportamiento a lo largo del período juvenil y su relación con la expresión hormonal en primates utilizando como modelo la especie <i>Alouatta caraya</i>	131
Figura 7.2. Representación esquemática de las hipótesis del período juvenil extendido en primates.....	138

ANEXOS

Figura 1. Samba, macho juvenil del grupo Huerta, en la figura tenía 30 meses de edad (febrero 2015).....	143
Figura 2. Sistema respiratorio de Samba, en círculo negro se observa lóbulo principal de pulmón derecho hemorrágico.....	144
Figura 3. Djembé (23/4/2015); (a) individuo descansando luego de pelea, (b) herida en pata trasera izquierda causada por mordida del otro individuo en la pelea.....	145

Índice de Tablas

Capítulo I

Tabla 1.1. Estudios de diferencias sexuales en el comportamiento en primates juveniles.....	13
Tabla 1.2. Estudios hormonales realizados en primates juveniles.....	15

Capítulo II

Tabla 2.1. Clasificación de estadios juveniles.....	34
Tabla 2.2. Composición de individuos en los grupos de estudio.....	35
Tabla 2.3. Juveniles seleccionados para el estudio.....	35
Tabla 2.4. Esquema de muestreo de datos de comportamiento: días de tomas de datos para cada grupo.....	37
Tabla 2.5. Esquema de colecta de muestras de orina: días de colecta para cada grupo.....	41
Tabla 2.6. Estudios hormonales a partir de orina realizados en distintos primates...	45

Capítulo III

Tabla 3.1. Porcentaje (%) de tiempo dedicada a cada comportamiento general en género <i>Alouatta</i> en distintos períodos.....	48
Tabla 3.2. Resumen de estrategias de la vida adulta, los comportamientos asociados y los comportamientos relacionados, efectuados durante período juvenil	48
Tabla 3.3. Análisis capítulo III. definición de variables de los modelos GLMM.....	54
Tabla 3.4. Cantidad de horas comportamiento animal focal obtenidas para cada individuo.....	55
Tabla 3.5. Tiempo (minutos/hora de observación) dedicada a cada comportamiento social en cada individuo.	56
Tabla 3.6. Resultados capítulo III; selección de modelo (GLMM) mediante test de razón de máxima verosimilitud (LRT).....	58
Tabla 3.7. Resultados capítulo III; Resumen de los modelos GLMM seleccionados para cada comportamiento social.....	59
Tabla 3.8. Porcentaje de tiempo dedicado a el descanso, movimiento, alimentación y comportamientos sociales en distintos estudios en <i>Alouatta caraya</i>	66
Tabla 3.9. Diferencias sexuales y en la edad en el comportamiento en distintos estudios en primates juveniles.	67

Capítulo IV

Tabla 4.1. Análisis capítulo IV; resumen de variables utilizadas en los modelos de GLMM	81
Tabla 4.2. Número de muestras de orina analizadas para cada hembra juvenil para los perfiles de PdG y E1G.....	82
Tabla 4.3. Valores promedio de hormonas (PdG y E1G) en cada individuo.....	86

Tabla 4.4. Resultados capítulo IV; resultados de GLMM de los modelos completos en la comparación entre comportamientos interacción con cría y acicalamiento de pares con la concentración de hormonas (PdG y E1G).....	88
Tabla 4.5. Resultados capítulo IV; selección de modelo mediante test de razón de máxima verosimilitud (LRT).....	89
Tabla 4.6. Resultados capítulo IV; modelo GLMM seleccionado para el comportamiento de acicalamiento de pares (AP).....	89

Capítulo V

Tabla 5.1. Análisis capítulo V; resumen de variables utilizadas en los modelos de GLMM.....	100
Tabla 5.2. Número de muestras de orina analizadas para cada macho juvenil y concentraciones promedio de testosterona.....	101
Tabla 5.3. Resultados capítulo V; resultados de GLMM de los modelos completos en la comparación entre comportamientos agresivos y juego rudo con la concentración de testosterona.....	107
Tabla 5.4. Resultados capítulo V; selección de modelo mediante test de razón de máxima verosimilitud (LRT).....	108
Tabla 5.5. Concentración de Testosterona y su relación con la composición del grupo.....	110

Capítulo VI

Tabla 6.1. Análisis capítulo VI; resumen de variables utilizadas en los modelos de GLMM.....	115
Tabla 6.2. Concentración promedio de uGC para cada juvenil de <i>A. caraya</i>	115
Tabla 6.3. Resultados capítulo VI; selección de modelo GLMM, bootstrap paramétrico (PBtest).....	123
Tabla 6.4. Resultados capítulo VI; modelo GLMM seleccionado.....	123

Agradecimientos:

Primero que nada, le agradezco a Martín Kowalewski. Gracias a vos esta tesis fue posible, no solo por todo lo que me enseñás sobre primatología, e investigación, si no por mantener y proteger este lugar de trabajo, que se sostiene gracias a vos. Gracias por entenderme y por saber tratar mis ataques de estrés, y gracia por apoyarme en mis proyectos, y darme alas en el mundo de la investigación. Gracias por las pizzas caceras de los miércoles, por improvisar una oficina en tu casa cuando nos inundamos y no había donde ir, por los mates, bizcochitos y las charlas de distención. No me podría haber tocado un director mejor. ¡Gracias Martín! Agradezco a Claudia Valeggia, mi co-directora. Gracias por enseñarme todo lo necesario para realizar los análisis de laboratorio, e interpretar resultados de una manera crítica. Todas tus sugerencias fueron de gran importancia, que además de ayudarme en la escritura de este manuscrito, me entrenaron el ejercicio de cuestionarme todo, que considero la base de la investigación científica. También te agradezco (a vos y a tu familia) por abrirme las puertas de tu casa, y hacer mi visita a Estados Unidos una época hermosa llena de lindos recuerdos ¡Gracias Claudia!

A los asistentes de campo, sin ellos nada de esto hubiese sido posible, por bancarse las largas jornadas de trabajo a veces con calor, a veces con frio y siempre con mosquitos, gracias a Gianpaolo Arcos, Julieta Tricarico, Antonella Marabotto, Antonella Lema, Silvana Cárdenas, Sebastián Bustamante, Paz Cuello, Daniela Peralta, Gonzalo Martínez Ruiz, Vanesa Menéndez, Romina Domínguez, Juan Pombo, Rodrigo Bay, Alejandro Aquino, Florencia Rodríguez, Florencia Nadal, Lucia Centurión, Lorena Cáceres. ¡Gracias a todos! En especial a los chicos que me acompañaron varios meses y fuimos una hermosa familia durante casi un año:

Gian, llegaste con entusiasmo, sicu en mano y muy buena onda, gracias por todo, el número 1 atajando cacas en el aire! Y además de las largas jornadas de trabajo en campo nos resucitó la huerta en la Ebco, un genio, ¡Gracias por todo Gian!

Anto, que energía! Siempre con pilas y buena onda, no solo registrando datos, juntando pis, también la compositora estrella de los temas musicales dedicado a los monos, y por si esto fuera poco, toda la ayuda que me diste en mis estadías en Buenos Aires, ¡muchas gracias Anto!

Totiño de mi corazón, que bella persona!, la que me esperaba con el mate antes de salir al campo, siempre con una sonrisa sin importar en cansancio. ¡Y esa risa que dejó sordo a más de uno!, una genia trabajando en grupo ¡gracias amiga!

Sil, la niña tropical, la vil cría, una *pequeña demoña* que se ganó mi corazón. Aunque el primer día te recibió una picadura de calabazán en la nariz eso no te desmotivó, y fuiste mi compañera de campo por mucho tiempo, y luego mi compañera de oficina. ¡gracias por todo!, y a seguir trabajando juntas.

Sebitas, carismático, energético, y loco!, además de una ayuda excelente, un compañero de campo ideal, con miles de historias para pasar las largas jornadas. ¡gracias Sebitas! La primatología ha ganado un excelente biólogo.

Gonza y Vane que vinieron de España para ayudarme, que me acompañaron casi tres meses y fueron testigos del cierre de la etapa de campo, además de coleccionar muestras, observar a los monos, también inventaron canciones muy divertidas ¡Gracias chicos!

Agradezco a Patricia y Natalia Fernández por ayudarme en la digitalización de las libretas, ¡Gracias chicas!

Agradezco los técnicos de la Estación Biológica, Ramon Martínez (Chupali), Matildo Martínez y Teodoro Martínez, pilar fundamental de este maravilloso lugar, ¡Gracias! Especialmente a Chupali, mi maestro de campo, quien me enseñó todo sobre las plantas, los montes y los monos y además me abrió las puertas de su hogar, ¡gracias Chupali, a vos y a tu familia!

A mis compañeras de la Estación; Mariana Raño, por tu amistad, fuiste la primera que me extendió la mano para conocer la Ebco, y estuviste ahí siempre con consejos y discusiones moneras. Además de alojarme en tu hogar incontables veces. ¡Gracias por tanto! Y gracias a Bruni, el pequeño juvenil humano de la Ebco!; Melina Brivido, por acompañarme al campo, enseñarme mucho sobre las plantas y el reconocimiento de monos ¡Gracias Meli!, Viridiana Gonzales, por tus charlas y compañía mi primer año en la Ebco, ¡Gracias Viri!; Veronica Romero, por los consejos y escucharme en mis momentos de catarsis, y con toda la información justa tan importante a la hora de hacer trámites ¡Gracias Vero! y Belen Natalini (la Patty de mi Zelma), ¡las cosas que hemos pasado juntas!, que agradecida estoy de que hayas llegado a la Ebco, mi compañera de locuras, en las buenas y las malas. Gracias por escucharme tantas, tantas tantas veces, por tus consejos y tu amistad ¡Gracias Belu! y Gracias Manu!

Gracia a los chicos más nuevos, que agrandaron la familia de la EBCo para seguir investigando monos y zorros. Y cuando la realidad nos aplastó el ánimo, ellas fueron quienes motivaron a este grupo levantarse para seguir luchando; Gracias, Julieta Fernández, y Florencia Quijano!. También gracias Eliana Alegre por elegir a mis queridos juveniles para realizar tu tesis de licenciatura.

Agradezco a la gente del laboratorio de ecología reproductiva de Yale, en particular a Maggie Corley y Melanie Martin por asistirme en el trabajo de laboratorio, Juan Pablo Perea Rodríguez, por tu ayuda en el laboratorio, alojarme en tu casa y tu amistad, ¡Gracias parce! Gary Aronsen, por tu ayuda consiguiendo todos los materiales necesarios y Richard Bribiescas por abrirme las puertas del laboratorio.

Gracias Norberto Rodríguez (Tato) y Giselda Fernández (Gichi) por su amistad y siempre estar para dar una mano en mi estadía en la Ebco, ¡Gracias!

Gracias a Jorge Peña por ser un vecino muy divertido y por realizar las necropsias de los monos que morían, ¡Gracias Jorge!

Gracias a los guardaparques del Parque Provincial San Cayetano; Conrado Hozer, Martín Sánchez y Adriana Vallejos. Conra, mi compañero de películas, charas nerd y cervecitas, gracias por tu amistad y por acompañarme a ver los monos, Martincho, una gran persona, siempre dispuesto a darme una mano y acompañarme en las tardes de deporte ¡Gracias chicos!, Adri (Cogo), gracias por las charlas, tus divertidas anécdotas que me despejaban la mente en los momentos de bloqueo, las birras y principalmente, agradezco tenerte como compañera en el camino del feminismo y la deconstrucción, aprendo mucho con vos, ¡Gracias!,

Agradezco a Ingrid Holzmann (Mecky), con vos hice mis primeras campañas con monos, me ayudaste a dar mis primeros pasos en la primatología y por eso estaré siempre agradecida, ¡Gracias Mecky!

Agradezco mis queridos Pishers, ese club de locos que me regalo la UNLP y con quienes compartimos este amor por la naturaleza. En especial a Natalin Vicente por poner en mi cabeza la idea de los monos, ¡gracias Nati! A las pibas, Elena Fabro, Pilar Cadierno y Micaela Medina, por dar ánimo, consejos, favores ¡muchísimos!, escucharme tantas veces, visitarme en la Ebco y su hermosa amistad, ¡Gracias chicas!, a Francisco Roca, el conejillo de indias, mi primer voluntario de campo, ¡Gracias Fran! Y el comité de ayudas estadísticas, Giselle Mangini, Micaela Medina, Emiliano Depino y Virginia Duboux, por estar en cada duda que surgía, a cualquier hora. ¡gracias chicos! ¡Y gracias a todos los Pishers por estar siempre!

A Micaela Andersen, amiga de mi vida. Siempre estás en todos los momentos importantes, compartiendo escritura de tesis, alojándome en Buenos Aires, escuchándome las inquietudes y dando consejos, ¡Gracias a vos, a Eini y Licha!

Agradezco a Tobías Welp, por escucharme, aconsejarme, cuidarme, despejar mi mente, por todo tu apoyo y por ser mi compañero. También gracias por toda tu ayuda corrigiendo el inglés de los artículos, ¡gracias Tobi!

Por último, agradezco a mi familia. Gracias a mis padres, Alba Salese y Gustavo Gennuso, por las alas, por enseñarme a arriesgarme y por haberme dado todo para que hoy pueda dedicarme a lo que me gusta ¡Gracias Ma y Pa! Agradezco a mis hermanas, Ile y Aye, gracias por estar siempre, por apoyarme y estar con una mano en los momentos de crisis, ¡Gracias chicas! Y gracias a toda mi familia; Elena, Hermes, Santi, Sara, Virgilio, Nydia, Quique, Kari, Claudio, Rosana, Rubén, Joa, Adriana, Meli, Luci, Mora, Tomi, Manu y Betty.

Finalmente agradezco a los pequeños monos, por dejarme entrar en sus vidas, divertirme y emocionarme ¡Gracias Gramínea, Quena, Calimba, Almendra, Vainilla, Pepa, Bongó, Samba, Silvio, Rodrigo, Huevo, Caramelo, Feo!

La realización de esta tesis fue posible gracias a la beca de posgrado otorgadas por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y al subsidio otorgado por la American Society of Mammalogists y Universidad de Yale. Agradezco también a la Facultad de Ciencias Exactas, Naturales y Agrimensura (FACENA, UNNE), por la admisión a la carrera de doctorado por último a la Estación Biológica Corrientes (EBCo)-Museo Argentino de Ciencias Naturales (MACN).

RESUMEN

Este trabajo se concentra en preguntas relacionadas con la evolución del período juvenil extendido en primates no humanos, el rol de esta etapa en el desarrollo y en las estrategias implementadas por individuos juveniles de ambos sexos. Este estudio explora factores comportamentales y fisiológicos en diferentes sexos durante el período juvenil en individuos de *Alouatta caraya* para entender su papel en las estrategias implementadas por los adultos, y de esta manera comprender la importancia del período juvenil extendido en primates. En particular se analizó el desarrollo del comportamiento y su relación con la expresión de hormonas sexuales (progesterona, estradiol, testosterona) y metabolismo del estrés (cortisol) en hembras y machos juveniles de *A. caraya* silvestres. Las hormonas sexuales en adultos además de cumplir una función en el desarrollo de caracteres secundarios en ambos sexos y regular los ciclos ovulatorios en hembras, están relacionadas con la regulación del comportamiento. Para explorar la influencia de las hormonas sexuales en el comportamiento durante el período juvenil, en este trabajo se analizó la relación entre hormonas sexuales (metabolitos de progesterona (PdG) y estrógenos (E1G) en hembras y testosterona en machos) con distintos comportamientos. El crecimiento corporal que se da en el período juvenil está relacionado con el metabolismo del estrés, ya que los glucocorticoides, y en especial el cortisol, juegan un rol crítico en la estimulación de la gluconeogénesis y movilización de aminoácidos y ácidos grasos. Por esto, los análisis de los perfiles de cortisol pueden aportar información sobre los desafíos que los individuos afrontan en esta etapa. *Alouatta caraya* resulta ser un buen modelo para estudiar las diferencias sexuales durante el desarrollo, ya que sus trayectorias de crecimiento son marcadamente diferentes, los adultos presentan dimorfismo y dicromatismo sexual, además de diferentes patrones comportamentales y estrategias de apareamiento.

De agosto 2014 hasta septiembre 2015 se registraron datos comportamentales en cuatro grupos vecinos de *Alouatta caraya* con la ayuda de tres asistentes de campo (222 días de trabajo de campo), en fragmentos de bosques en galería pertenecientes a la localidad de San Cayetano (27° 30' S-58° 41' O), Corrientes. Se completaron 1800 horas de observación utilizando técnicas de animal-foco. Asimismo, se colectaron 1100 muestras de orina de 7 machos y 6 hembras juveniles para su posterior análisis hormonal. Las muestras de orina fueron a través de métodos de ensayo inmuno-enzimático (EIA) para la obtención de los perfiles hormonales individuales de metabolitos de progesterona (PdG) y metabolitos de estrógeno (E1G) en hembras, testosterona en machos y cortisol en ambos sexos.

Entre los resultados se observaron diferencias sexuales en algunos comportamientos sociales, siendo más frecuentes las interacciones con crías y los acicalamientos de pares en hembras y los aullidos, el juego social y los comportamientos sexuales en machos. En cuanto a la edad, se observó un aumento en los aullidos en los machos a medida que crecen y una disminución en el juego social con la edad en ambos sexos. En el análisis hormonal se observaron aumentos en las concentraciones de hormonas sexuales (PdG y E1G n hembras y testosterona en machos) a los 2.5 años. Con respecto al metabolismo del estrés, los resultados demostraron un aumento moderado con la edad.

Los resultados sugieren que en *A. caraya* algunos comportamientos típicos de cada sexo se comienzan a desarrollar en el período juvenil como posible forma de entrenamiento para la vida adulta. La falta de relación entre hormonas sexuales y comportamiento sugiere que la función de estas hormonas en el período juvenil no es la misma que durante la adultez. Probablemente en el período juvenil estas hormonas actúan principalmente modelando y regulando el desarrollo de estructuras en el sistema nervioso central que desencadenara en el futuro los comportamientos típicos de adultos.

Este estudio es el primero que integra información sobre la expresión hormonal y el comportamiento durante el período juvenil en *A. caraya* por lo tanto, aportará datos originales para la especie y permitirá la comparación con otras especies del género, así como también con otras especies de primates. Los resultados de este proyecto proporcionarán herramientas para realizar análisis comparativos y enriquecer la discusión respecto de las hipótesis que intentan explicar el período juvenil extendido en el Orden Primates.

ABSTRACT

This thesis focuses on questions about the evolution of the juvenile period in non-human primates, the role of this period in the individual's behavioral and physiological development and strategies adopted by the juveniles of both sexes. We aim at exploring physiological and behavioral aspects in different sexes during the juvenile period in *Alouatta caraya* individuals and so at understanding its role in strategies implemented by the adults. Particularly, we analyzed the development of behavior and its interaction with the expression of sexual hormones and stress metabolism in *A. caraya* of both sexes during the juvenile period. During adulthood, in addition to their impact on secondary sexual characteristics and the regulation of the ovulatory cycle in females, sexual hormones (progesterone, estrogens, testosterone), regulate different behaviors. In order to estimate the influence of these hormones on juveniles' behaviors, we explored the relationship between the expression of sexual hormones (progesterone (PdG) and estrogen (E1G) metabolites in females and testosterone in males) and different behaviors. Considering that glucocorticoids, especially cortisol, play a critical role in the stimulation of gluconeogenesis and in the mobilization of amino and fatty acids from body stores, the metabolic demands of body growth represent an energetic stress. Thus, an analysis of cortisol profiles during this period may offer insights about the challenges that juveniles are confronted with. *A. caraya* turns out to be a good model for studying sex differences during development, because their growth trajectories are markedly different, adults present sexual dimorphism and sexual dichromatism, and there are also differences in behavioral patterns and mating strategies.

We recorded behavioral data from four neighboring groups of *A. caraya* from August 2014 to September 2015, with the help of three field assistants (222 days of field work) in gallery forest fragments next to San Cayetano (27 ° 30 'S-58 ° 41' W), Corrientes. We completed 1800 hours using focal-animal sample technique. Also, we collected 1100 urine samples from six female juveniles and seven male juveniles from the studied groups for hormone analysis. The collected samples were analyzed at the Reproductive Ecology Laboratory of the Department of Anthropology at the University of Yale through enzyme immunoassay (EIA) methods to obtain individual hormonal profiles of progesterone (PdG) and estrogen metabolites (E1C) in females, testosterone in males, and cortisol in both sexes.

In our results, we observed sex differences in some social behaviors. On the one hand, females are more likely to interact with infants and to participate in pair grooming than males, on the other hand, males are more likely to participate in howling (long distance vocalization), social play and sexual behaviors than females. With respect to age, we noticed

an increase of howling with age in juvenile males and a decline in the participation in social play with age in both sexes. The expression of sexual hormones increases since the age of 2.5 years old in both sexes. With respect to the stress metabolism, we found that cortisol expression increases steadily with age.

Our results suggest that in *A. caraya* some sex typical behaviors start developing during the juvenile period as a social skills training for adulthood (for instance, the interaction with infants is related to maternal care behavior and the participation in howling in males is related to group defense). The lack of correlation between sexual hormones and behavior suggest that the function of these hormones during the juvenile period is different than in adulthood: During the juvenile period, these hormones probably have an organizational effect, their main function is related to the development of brain structures.

This study is the first that integrates the information about hormonal expression and behavior during the juvenile period in *A. caraya*. Therefore, this thesis provides original data for the species and allows comparison with other species of the genus, as well as with other species of primates. The results of this project will provide tools for enriching discussions and comparative analyses with respect to the hypotheses that try to explain the extended juvenile period in the Order Primates.

CAPÍTULO I

El período juvenil en primates

Introducción general

Este trabajo se concentra en preguntas sobre la evolución del período juvenil en primates no-humanos. A lo largo de esta tesis se aborda el desarrollo comportamental y fisiológico de los individuos durante esta etapa y su impacto sobre las estrategias implementadas por juveniles de ambos sexos.

En mamíferos, el período juvenil comprende desde el final de la infancia (etapa dependiente de la lactancia materna) hasta el comienzo de la etapa adulta reproductiva (Pagel & Harvey, 2003). Los primates se caracterizan por un período juvenil extendido (Leigh & Blomquist, 2007) dado por un retraso en la madurez reproductiva (Pereira & Leigh, 2003; Ross, 1998; Strier, 2007). Comprender las ventajas adaptativas del período juvenil prolongado como una etapa de su historia de vida es fundamental para entender la evolución de los primates, sin embargo, los eventos y procesos que caracterizan esta etapa no son bien conocidos debido a que este período fue escasamente abordado en las investigaciones referidas a primates silvestres (Pereira & Fairbanks, 2003).

Tradicionalmente se ha considerado que los desafíos más importantes en la historia de vida de un organismo se relacionan con la reproducción y el cuidado de las crías, pero en muchos animales las tasas de mortalidad de los individuos inmaduros son mayores que las de los adultos (Garratt et al., 2015; Lynsdale, Mumby, Hayward, Mar, & Lummaa, 2017; Rödel et al., 2015; Ross & Jones, 1999). Sobrevivir las primeras etapas de la vida (antes de la madurez sexual) puede ser el mayor reto que enfrentan los primates. Para comprender la historia de vida en su totalidad se requiere información detallada tanto de las etapas pre-reproductivas como post-reproductivas (Pereira & Fairbanks, 2003).

Reconocer las diferencias sexuales durante el desarrollo de primates aporta claves importantes para comprender en qué momento y de qué forma se adquieren aptitudes sociales como ser la búsqueda de pareja, la defensa de territorio, los cuidados parentales y los comportamientos afiliativos dentro del grupo de residencia. Una gran variedad de estudios ha puesto en evidencia las diferencias entre machos y hembras adultos en el comportamiento (Cords, Sheehan, & Ekernas, 2010; Di Fiore & Campbell, 2011; Leigh, 1994), sin embargo, es necesario un enfoque más detallado del período juvenil para

comprender los mecanismos que intervienen en el desarrollo de estas diferencias (preferencias en la pareja de juego, cercanía y acicalamiento, interés en infantes, variaciones en la dieta).

Para un abordaje integral de los procesos que modelan el período juvenil es necesario tener en cuenta el rol del sistema endócrino durante el desarrollo. La endocrinología del comportamiento ha permitido comprender algunos mecanismos en el comportamiento animal (comportamiento sexual, jerarquías, cuidados parentales y comportamientos afiliativos como el acicalamiento) (Anestis, 2010). Sin embargo, la intervención del sistema endócrino (hormonas sexuales) durante las etapas inmaduras del desarrollo ha sido escasamente abordado (Gesquiere et al., 2005). Además, los estudios de hormonas adrenales (cortisol, corticosterona) son una poderosa herramienta para estimar de una manera indirecta el estado de estrés energético y social de los individuos (Beehner & Bergman, 2017). Un análisis longitudinal de los niveles de cortisol puede aportar importantes datos para describir las variaciones en los niveles de estrés a lo largo del desarrollo en ambos sexos (Fourie & Bernstein, 2011) lo cual brinda información acerca de los desafíos de este período en la historia de vida de los primates (Byrne & Suomi, 2002; Gómez-Espinosa, Rangel-Negrín, Chavira, Canales-Espinosa, & Dias, 2014).

El mono aullador negro y dorado (*Alouatta caraya*) es una especie de primate neotropical que extiende su distribución a Paraguay, sur de Brasil, este de Bolivia y Norte de Argentina hasta la provincia de Santa Fe (Di Fiore & Campbell, 2011). En la adultez, esta especie se caracteriza por poseer dimorfismo y dicromatismo sexual (siendo los machos negros y las hembras doradas) (Crockett, 1987; Rumiz, 1990) y también presenta diferencias sexuales en los patrones comportamentales y estrategias de apareamiento (Bicca-Marques & Calegario-Marques, 1998; Kowalewski & Garber, 2010; Prates, 2008). Estas características la hacen un buen modelo para explorar si estas diferencias se desarrollan durante el período juvenil.

El estudio planteado en este trabajo permite ampliar los conocimientos sobre los procesos fisiológicos y comportamentales durante el período juvenil, por ejemplo, los cambios en la expresión de las hormonas sexuales y su influencia en la expresión de comportamientos a lo largo de esta etapa, y los aspectos influyen en el metabolismo del estrés, para así aportar herramientas en la discusión de la evolución del período juvenil extendido en primates. Además, para llevar a cabo planes de manejo y conservación de *Alouatta caraya* es sumamente importante reconocer cuales son los desafíos en esta etapa tan vulnerable. Dado que se aborda el período juvenil desde una perspectiva comportamental

y fisiológica en individuos silvestres, este estudio es el primero en sus características en aulladores de Argentina.

1.1. Historia de Vida

La historia de vida hace referencia a la secuencia de eventos relacionados con el desarrollo y reproducción a lo largo de la vida de los individuos (Brommer, 2000; Lande, 1982; Leigh & Blomquist, 2007; Raguet-Schofield, 2010) y se describe a partir de varios parámetros tales como: tiempo de gestación, tasa de crecimiento, edad de la primera reproducción, longevidad, tasas de nacimientos, edad de destete, tasas reproductivas, peso de las camadas, mortalidad de neonatos, juveniles y adultos y tamaño del cerebro y del cuerpo en adultos y neonatos (Leigh & Blomquist, 2007; Promislow & Harvey, 1990; Western, 1979). A diferencia de otros mamíferos, en primates el crecimiento es más lento, es decir, la edad de la primera reproducción y la longevidad es significativamente mayor que en otros mamíferos de peso corporal equivalente (Posner, Rothbart, Sheese, & Voelker, 2014; Western, 1979).

Williams (1966), a partir de sus estudios en aves, propone que la tasa de desarrollo no es uniforme a lo largo de la historia de vida de los animales. De ser así, la selección natural actuaría de forma diferente en cada etapa y propone que los períodos de alto riesgo trascurren con más rapidez (Williams, 1966). En primates, esta asociación es más compleja. Leigh y Blomquist (2007) proponen una perspectiva modular al desarrollo de los sistemas de órganos (*módulos*) a lo largo de la historia de vida. Los autores consideran que las tasas de crecimiento y la relación entre los diferentes módulos varía en las distintas etapas del desarrollo. Los cambios que se dan en el desarrollo de los distintos módulos estarían dados por la variación en la distribución de la energía durante el crecimiento, lo que depende del riesgo metabólico asociado al gasto energético invertido en cada módulo (por ejemplo, el desarrollo de estructuras metabólicamente costosas como el sistema nervioso central (SNC) se da preferentemente en períodos poco riesgosos para el animal). Bajo esta perspectiva es importante considerar todas las etapas del desarrollo y los distintos desafíos que enfrentan para comprender los aspectos que modelan la historia de vida en primates (Blomquist, 2009; Leigh & Blomquist, 2007).

1.2. El período Juvenil

El período juvenil en los mamíferos comienza cuando un individuo puede sobrevivir sin el cuidado de su madre (dado principalmente por el fin de la lactancia materna) y termina

cuando éste madura sexualmente (Janson & van Schaik, 2003; Pereira, 2003). Los primates juveniles se caracterizan por desplazarse y alimentarse en forma independiente y a su vez, dependiendo de la especie, mantener conexiones sociales con sus padres, hermanos y otros individuos del grupo (Janson & van Schaik, 2003). A nivel fisiológico, el comienzo del período juvenil en primates está determinado por el final del desarrollo cerebral y el cambio de dentición equipándolos para independizarse de los cuidados parentales y se caracteriza por un aumento relativo de tejido adiposo para incrementar las reservas que serán utilizadas posteriormente en la transición a la adultez (Hochberg, 2008).

¿Es un período riesgoso?

A la fase juvenil se la reconoce como “un limbo fenotípico” porque los juveniles son demasiado grandes para ser tratados como infantes y demasiado pequeños para comportarse como adultos (Pagel & Harvey, 2003). Los juveniles son altamente vulnerables debido al pequeño tamaño y la falta de experiencia los posiciona en desventaja ecológica en comparación con los adultos (Janson & van Schaik, 2003; Strier, 2007).

En esta etapa, los individuos aún se encuentran en pleno desarrollo somático, por lo cual el sistema digestivo no posee la misma eficiencia que en la adultez, dado que el estómago y el intestino tienen un tamaño considerablemente menor que los adultos (Chivers & Hladik, 1980) y poseen una menor capacidad de retención del alimento (Sawada, Sakaguchi, Clauss, & Hanya, 2012). Además, cuando los primates alcanzan esta etapa aún no han desarrollado completamente las estructuras masticatorias (Ravosa, Ross, Williams, & Costley, 2010; Thompson, Biknevicius, & German, 2003) ni la microbiota intestinal (Bezirtoglou, 1997; Langer, 2008) de los adultos. Además, en muchos casos tampoco cuentan con las habilidades de forrajeo de los adultos (Agostini & Visalberghi, 2005; Price & Feistner, 1993; Ruiz-Miranda et al., 1999). Como lo demuestra el análisis detallado de Altmann (1998) en la dieta de 11 individuos juveniles de entre 30 – 70 semanas de vida de babuino amarillo (*Papio cynocephalus*) a lo largo de un año (y con 20 años de datos posteriores) el acceso a los recursos alimenticios es uno de los desafíos más importantes que enfrentan los primates en el período juvenil. En este trabajo se demostró que el apartarse de una dieta optima resulta en una obtención deficiente de proteínas, nutrientes y energía lo cual puede resultar mortal o tener consecuencias negativas en el “fitness” cuando son adultos (Altmann, 1998).

El sistema inmune también se encuentra en pleno desarrollo por lo cual en este período los individuos son más susceptibles a enfermedades que en otras etapas (Simon,

Hollander, & McMichael, 2015). Además, el tamaño más pequeño de los juveniles está asociado a un mayor gasto de energía en la termorregulación debido a que esto implica una mayor relación superficie/volumen experimentando así una mayor pérdida de calor por unidad de volumen (cuando el clima es frío) que la que experimentan los adultos (Heatwole, 1983; Pereira & Fairbancks, 2003). Los juveniles son particularmente vulnerables a las enfermedades por frío y deben emplear gran cantidad de energía en la termorregulación debido a que estos no tienen la disponibilidad del calor materno como cuando eran infantes (Baldwin & Baldwin, 1973; Schino & Troisi, 1998). Además, los juveniles deben esforzarse mucho para evitar perderse y ser dejado atrás por el resto del grupo social ya que su menor tamaño les confiere en algunos casos desventajas en el desplazamiento respecto de los adultos (Pereira & Fairbancks, 2003).

1.3. El período juvenil extendido tiene ventajas adaptativas

Si esta etapa conlleva tantos riesgos, ¿cuáles son los beneficios?, ¿por qué extender un período de la vida que tiene tantos riesgos y desafíos? Algunos animales de gran tamaño retrasan su maduración promoviendo mayor longevidad lo que resulta en una carrera reproductiva extendida. En contraposición, la maduración acelerada puede reducir el tamaño y la longevidad de los adultos, pero también aumentan las chances de superar el período juvenil vulnerable y sobrevivir para reproducirse (Purvis & Harvey, 1995). Sin embargo, en mamíferos de gran tamaño la tasa de reproducción suele ser lenta por lo cual su longevidad no les confiere una ventaja en relación a la cantidad de descendencia (Promislow & Harvey, 1990). En primates, la maduración retrasada tiene una doble desventaja, la fertilidad reducida (por la baja tasa de reproducción) y la posibilidad de una mayor mortalidad pre-reproductiva, lo cual plantea el siguiente interrogante: ¿Cuáles son las ventajas de una maduración retardada en primates? (Pereira & Fairbancks, 2003).

Se han propuesto tres hipótesis (no excluyentes) para explicar del período juvenil extendido en los primates; (a) hipótesis del desarrollo cerebral (Deaner, Barton, & van Schaik, 2003), (b) hipótesis del tiempo de aprendizaje (Joffe, 1997), e (c) hipótesis del riesgo juvenil (Janson & van Schaik, 2003).

(a) La hipótesis del *desarrollo cerebral* propone que la evolución y desarrollo del cerebro son los componentes más importantes que regulan el tiempo que los individuos tardan en alcanzar la adultez (Western, 1979). Los cerebros grandes y complejos tienen un gran costo de manutención (Mink, Blumenshine, & Adams, 1981), por lo cual el crecimiento somático debe ser retardado para resguardar un correcto desarrollo neuronal (Deaner et al., 2003; Isler

& van Schaik, 2009; Ross & Jones, 1999). Un mayor tamaño de cerebro deriva un mayor aprendizaje y flexibilidad comportamental lo cual reduce las causas de mortalidad extrínsecas como la disponibilidad de alimento y la depredación (Deaner et al., 2003; Pereira & Fairbancks, 2003). Por ejemplo, en el meta-análisis realizado por Barrickman et al. (2008), en el cual compara el tamaño cerebral y corporal en 27 especies de primates con distintos parámetros de historia de vida (tiempo gestación, tiempo de lactancia, duración del período juvenil y edad a primera reproducción) encuentra una correlación positiva entre la duración del período juvenil, el tamaño del cerebro de adulto (regresión múltiple: $r^2=0.69$; $p<0.0001$) y la tasa de desarrollo cerebral (regresión múltiple: $r^2=0.65$; $p<0.005$). Los autores sugieren que el costo metabólico de desarrollar cerebro más grande está dado un lento crecimiento somático durante un período juvenil extendido (Barrickman, Bastian, Isler, & van Schaik, 2008).

(b) La hipótesis del *tiempo de aprendizaje*, también reconoce el efecto de un tamaño cerebral mayor y propone que los animales caracterizados por un mayor desarrollo de la neocorteza cerebral (región del cerebro relacionada con la resolución de problemas y memoria cognitiva) y vida en grupos sociales, tienen desarrollo lento porque necesitan aprender sobre el ambiente físico y social complejo. Es decir, retrasan la maduración sexual hasta haber alcanzado una madurez comportamental (Joffe, 1997). La selección natural favorece el desarrollo lento en aquellos que usan su tiempo aprendiendo aptitudes sociales (Walker, Burger, Wagner, & Von Rueden, 2006) como identificar las relaciones de dominancia (de Waal, 2003; Pereira, 2010), sobre la reconciliación (Cords & Aureli, 2003; Fagen, 2003), a formar afiliaciones beneficiosas (Poirier & Smith, 1974) y técnicas complejas de forrajeo (Walker et al., 2006). Además, mediante el juego adquieren habilidades relacionadas con comportamientos agresivos y sexuales (Baldwin & Baldwin, 1978; Fagen, 2003; Owens, 1975). El meta-análisis de Joffe (1997) con 27 especies de primates, compara tamaño de distintas estructuras del SNC (neocorteza, cerebelo, medula espinal) y las etapas de historia de vida (infante, juvenil, adulto): La autora encuentra una correlación positiva entre el período juvenil y la neocorteza (regresión de mínimos cuadrados: $r^2=0.38$, $p<0.05$), y entre la infancia y la medula espinal (regresión de mínimos cuadrados: $r^2=0.35$, $p<0.05$), sugiriendo que mientras en infantes se desarrolla la parte del SNC relacionado con la motricidad, en juveniles se desarrolla la parte vinculada al aprendizaje (Joffe, 1997). Otro ejemplo que apoya esta hipótesis se observa en el estudio realizado por Cords et al. (2010) en mono azul (*Cercopithecus mitis stuhlmanni*) juveniles (N=39) silvestres en el Bosque Kakamega (Kenia), hallaron que a lo largo del período juvenil las hembras juveniles tenían altas tasas de

interacciones con las crías sugiriendo que esta actividad consiste en un entrenamiento para la vida adulta. Dado que en esta especie son las hembras las encargadas de los cuidados parentales, lo que les permitiría ser adultos con mayor éxito reproductivo (Cords et al., 2010).

(c) La hipótesis del *riesgo juvenil* propone que el período juvenil es el más vulnerable en cuanto a depredación e infanticidio por lo cual un desarrollo rápido permite a los individuos superar este período de riesgo. Por otro lado, considera que las ventajas de un crecimiento lento radican en tener un menor riesgo metabólico ya que el crecimiento es energéticamente costoso. Mientras los individuos son juveniles, su tamaño menor les permite satisfacer sus requerimientos nutricionales con menos cantidad de alimento y así tener un riesgo metabólico menor que aquellos de mayor tamaño. En conclusión, el tiempo que tardan en alcanzar la madurez sexual depende de cuáles son los factores que ejercen un mayor efecto en la dinámica poblacional; la depredación e infanticidio de los juveniles por un lado (período juvenil más corto) y la disponibilidad de alimento y capacidad de satisfacer los requerimientos nutricionales por el otro lado (período juvenil más largo) (Janson & van Schaik, 2003). Leigh (1996) apoyo esta hipótesis con sus estudios comparativos sobre el crecimiento en gorilas (*Gorilla gorilla gorilla*) y chimpancés (*Pan paniscus* y *P. troglodytes*), donde encontró que las tasas de crecimiento son mayores en gorilas, es decir esta especie alcanza en menos tiempo el tamaño adulto y atribuye estas diferencias a la menor competencia por el alimento con los adultos en gorilas por ser una especie herbívora (los chimpancés, en cambio, competirían con los adultos por el alimento) (Leigh & Shea, 1996). Sin embargo, para las conclusiones de este trabajo se utilizaron referencias bibliográficas sobre la alimentación, en las cuales se interpretaba a la dieta folívora como una alimentación generalista. Los nuevos enfoques en relación a la alimentación y el forrajeo (estudios de ecología nutricional) han demostrado una mayor complejidad en este tipo de alimentación (Zhao et al., 2013), por lo cual deberían realizarse comparaciones entre especies con la nueva información disponible asociada a la selectividad en la dieta para corroborar si el tipo de alimentación y la competencia por alimento entre adultos y juveniles tiene alguna relación con la duración del período juvenil.

1.4. Un período de cambios

El período juvenil constituye una etapa de gran importancia caracterizada como una transición en la cual el individuo tiene que independizarse de los cuidados parentales, debe alimentarse y transportarse por sí mismo (Pereira & Fairbanks, 2003). En consecuencia, las actividades diarias de los primates juveniles comienzan a mostrar variaciones. Algunos aspectos en los que pueden visualizarse estos cambios son los siguientes:

Alimentación:

La dieta tiene un rol principal en la adaptación y en la evolución, por lo que resulta importante realizar un abordaje ontogenético de la misma (Leigh, 1994). En el período juvenil aumenta la proporción de tiempo en alimentación independiente. Altmann (1998) en su estudio longitudinal (con 20 años de seguimiento) analizó en forma detallada la variación en la dieta de babuino amarillo (*Papio cynocephalus*) a lo largo de la infancia y período juvenil notando que al crecer, los individuos pueden aumentar el tiempo de consumo de algunos alimentos (porque son más grandes y requieren más cantidad de alimento para cumplir con sus requerimientos nutricionales) o disminuir el tiempo de forrajeo de alimentos por ser más eficientes en la toma de ellos (Altmann, 1998). Agostini & Visalberghi (2005) analizaron la dieta de 15 juveniles (8 machos y 7 hembras) de mono capuchino negro (*Sapajus nigritus*) (durante un año en el Parque Nacional Iguazú, Misiones, Argentina), y sugieren que estos primates tienen patrones en el consumo de invertebrados similar a los adultos, pero menos eficientes (tiempo alimentación efectiva/tiempo búsqueda de alimento) en las primeras etapas. Además, hallaron que las hembras juveniles presentan similitudes de forrajeo con las hembras adultas y que los machos juveniles presentan patrones de forrajeo similares a los machos adultos (por ejemplo; el forrajeo de presas es mayor en machos (63%) que en hembras (54%), y en contraposición el forrajeo de frutas es mayor en hembras (31%) que en machos (21%)) (Agostini & Visalberghi, 2005) .

Juego:

El comportamiento de juego es un factor de gran importancia ya que es esencial para el desarrollo motor y social de los individuos (Baldwin & Baldwin, 1978; Bekoff, 1988; Coelho & Bramblett, 1982; Govindarajulu, Hunte, Vermeer, & Horrocks, 1993; Strier, Ziegler, & Wittwer, 1999; Zucker & Clarke, 1992) A través del comportamiento de juego se pueden identificar variaciones según la edad, ya que a medida que crecen cambia el tipo y la frecuencia de juego (Cheney, 1978; Maestripieri & Ross, 2004). En un principio se desarrollan juegos individuales y exploratorios y a medida que crecen comienzan a predominar los juegos sociales (Baldwin & Baldwin, 1978). Por ejemplo, en los estudios realizados por Maestripieri y Ross (2004) donde analizaron el desarrollo de juego de gorilas (*G. gorilla*) en cautiverio, encontraron que los 3 distintos tipos de juego (solitario locomotor, solitario con objetos y social) varían a lo largo del desarrollo. En primer lugar, la frecuencia de los tres tipos de juego aumenta durante los primeros 2 años de vida, siendo predominantes en medidas similares los juegos solitarios con objetos y social, luego del segundo año el juego individual con objetos

decrece, pero no el juego social por lo cual a partir de los 31-36 meses el juego social es predominante sobre el juego individual, finalmente el juego social comienza a disminuir entre los 31-36 meses de edad. Además, Li et al. (2011), estudiaron las características del juego durante el primer año de vida de 4 machos y 3 hembras de langur dorado (*Rhinopithecus roxellana*) silvestres en la reserva natural Zhouzhi (China) en el cual demostraron como el tipo de juego va variando a lo largo del desarrollo, por un lado, en el primer trimestre predomina el juego individual y en el segundo y tercer trimestre predomina el juego social. Respecto al desarrollo del juego social encuentran que los primeros juegos surgen a los tres meses y son muy simples (se tocan con las manos). Un juego un poco más complejo de aproximación y retirada surge luego del cuarto mes. Los juegos más agresivos inician en el quinto mes y finalmente para el sexto mes los infantes ya cuentan con el repertorio completo de juegos sociales (Li et al., 2011).

Vecino más cercano:

En la mayoría de los primates, dentro de los grupos sociales a lo largo de todas las edades podemos encontrar afinidades individuales y formaciones de subgrupos uni o bisexuales particulares con diversas funciones (Bezanson, Garber, Murphy, & Premo, 2008). Cuando están en la edad de lactancia, los infantes pasan más tiempo en cercanía a la madre, pero a medida que crecen, y en particular durante el período juvenil los individuos con los que se relacionan cambian. En un estudio realizado en 33 juveniles de macaco cangrejero (*Macaca fascicularis*) en el Parque Nacional Leuser Gunung en Sumatra por Van Noordwijk et al. (2003) se encontró que a lo largo del desarrollo en el período juvenil el contacto y relación con la madre se volvía más distante y aumentaba la cercanía a vecinos de igual edad, además encontraron diferencias en los vecinos más cercanos de los machos juveniles y las hembras juveniles (los machos juveniles tuvieron como vecinos más cercanos a otros machos juveniles más habitualmente que las hembras juveniles: 25% vs. 10%)(van Noordwijk, Hemelrijk, Herremans, & Sterck, 2003)

Interacciones inter-grupo:

Una forma en la que se observan interacciones con individuos de otros grupos se da en los encuentros entre grupos (Gennuso, Brivido, Pavé, Raño, & Kowalewski, 2018; Korstjens, Nijssen, & Noë, 2005; Kowalewski, 2007; Palombit, 1993; Watts, Muller, Amsler, Mbabazi, & Mitani, 2006). En este contexto las interacciones pueden ser: i. agresivas caracterizadas por persecuciones (Korstjens et al., 2005), peleas de contacto en de las cuales

pueden resultar heridos (Manson et al., 1991; Palombit, 1993), y vocalizaciones (Garber, Pruetz, & Isaacson, 1993; Kowalewski, 2007), ii. afiliativas caracterizadas por acicalamiento, cópulas y juegos sociales o iii. neutrales (en las cuales no hay interacción aparente) (Kowalewski & Garber, 2015). Si bien entre los primates muchas veces las interacciones entre grupos están caracterizadas por ser de tipo agresiva (por ejemplo; *Pan troglodytes* (Wilson, Kahlenberg, Wells, & Wrangham, 2012), *Callithrix jacchus* (Lazaro-Perea, 2001), *Saginus mystax* (Garber et al., 1993)), los juveniles participan en menor medida de estos encuentros y tienen interacciones afiliativas inter-grupos con más frecuencia que los adultos (Gennuso et al., 2018). Una ventaja de las interacciones con otros grupos puede deberse a que los juveniles obtienen información sobre los vecinos, la cual será valiosa a la hora de dispersar (Lazaro-Perea, 2001; Wilson et al., 2012). Las investigaciones sobre estos fenómenos son escasas y es necesaria más información para poder interpretar cómo va cambiando la percepción de los individuos de los otros grupos a lo largo del desarrollo.

Comportamiento sexual:

Los comportamientos sexuales en individuos inmaduros suelen ser escasos, sin embargo, diferentes estudios han registrado la presencia de estos comportamientos durante el período juvenil (*P. cynocephalus* (Gesquiere et al., 2005); *Macaca mulatta* (Lovejoy & Wallen, 1988); *Erythrocebus patas* (Rowell & Chism, 1986)). En estudios realizados en babuino amarillo (*P. cynocephalus*) (Gesquiere et al., 2005) se encontró que a medida que los machos crecen, comienzan a competir por el acceso a las hembras. En consecuencia, son tratados más agresivamente y a su vez ellos comienzan a tener comportamientos más agresivos. En el caso de macaco rhesus (*Macaca mulatta*) (Lovejoy & Wallen, 1988) se encontró que a partir de los seis meses de edad los machos comienzan con el comportamiento de “montar”, característico comportamiento sexual de los machos adultos.

1.5. Diferencias sexuales en primates

La mayoría de los estudios sobre las diferencias sexuales en los primates se focalizan en la etapa adulta, durante la cual se pueden evidenciar diferencias sexuales a nivel fisiológico, en tamaño del cuerpo (Leigh, 1994), coloración y en el comportamiento agresivo-afiliativo (Cords et al., 2010), de dominancia (Clarke, 1990; Cords et al., 2010) y de cuidado parental (Di Fiore & Campbell, 2011).

Dimorfismo y dicromatismo sexual

El dimorfismo sexual es un fenómeno bien reconocido en primates, sin embargo, muy pocos estudios abordan la ontogenia del mismo (Leigh, 1992). Muchos primates presentan dimorfismo sexual dado por diferencias en el tamaño siendo por lo general los machos más grandes que las hembras (Clutton-Brock, Harvey, & Rudder, 1977). Las diferencias sexuales en el tamaño en los primates pueden estar dado por grandes diferencias en las tasas de crecimiento corporal durante la ontogenia (Leigh, 1992, 1994) definido como “*bimaduración*”, fenómeno que se puede observar en algunos primates como mono capuchino caí (*S. apella*) y macaco cola de león (*Macaca silenius*) (Leigh, 1992). Leigh (1994) propone dos modelos de crecimiento dimórfico durante el período juvenil; 1) por un lado los grupos de primates multi-macho están caracterizados por diferencias en el tiempo de crecimiento, los machos crecen durante más años a una igual tasa que las hembras, 2) y el modelo uni-macho en el cual el dimorfismo sexual está dado por diferencias en las tasas de crecimiento. Fragaszy et al. (2016) realizaron un estudio en capuchinos silbadores (*Sapajus libidinosus*) silvestres en Fazenda Boa Vista (Piau, Brasil) entre los años 2007 y 2013, en el cual registraron la masa corporal de un grupo de entre 20 y 25 individuos entre los cuales contaban con 8 machos y 10 hembras juveniles desde el nacimiento hasta los 6-7 años de edad. Estos autores encontraron que las hembras crecen a una tasa más lenta y durante un período más corto que los machos (machos alcanzan su peso final de 3.5 kg a los 9.8 años y las hembras 2.1 a los 7.5 años). Fragaszy et al. (2016) sugiere entonces una combinación entre los modelos que plantea Leigh (1994). También se puede encontrar diferencias sexuales en los dientes caninos presentado los machos un mayor desarrollo de estos (Leutenegger & Kelly, 1977; Mc Pherson, 2013). En algunos casos hay diferencias en las vocalizaciones, el género *Alouatta*, por ejemplo, se caracteriza por vocalizaciones de alto alcance (aullidos) (Holzmann, 2011; Whitehead, 1995) en las cuales se puede discriminar entre los aullidos de los machos de los aullidos más débiles de las hembras, como consecuencia del desarrollo del hueso hioideo expandido como caja de resonancia en los machos (Kelemen & Sade, 1960).

El dicromatismo sexual está extendido en varias especies de primates (por ejemplo; *Alouatta caraya*, *A. fusca clamitans*, *Eulemur macaco*, *Eulemur mongoz*, *Pithecia pithecia*, *Hylobates pileatus*, *Nomascus concolor*, *Bunopithecus hoolock*) (Bradley & Mundy, 2008). Es posible que las diferencias en coloración sean producto de la selección sexual (Bicca-Marques & Calegario-Marques, 1998; Crockett, 1987) dado que la coloración de los machos sirve de señal para las hembras ya que puede estar indicando que el individuo tiene un sistema inmune sano, baja carga parasitaria (Hamilton & Zuk, 1982) o una buena nutrición (la síntesis

de melanina requiere determinados aminoácidos que se obtienen de la dieta, por lo cual una pigmentación oscura demuestra que el individuo tiene acceso a ciertos nutrientes). Estos cambios de coloración generalmente se desarrollan durante las etapas inmaduras, por ejemplo, en langur plateado (*Trachypithecus cristatus*) en los períodos infantil y juvenil (Napier & Napier, 1967) y en gorilas (*G. gorilla*) en la adolescencia (Breuer, Robbins, & Boesch, 2007). En machos de *A. caraya*, el cambio de coloración está influenciado por presiones sociales, en particular, los machos en grupos multi-macho suelen mantener fragmentos de pelaje dorado en el cuerpo (especialmente en los codos, y parte del torso) y permanecer en el grupo natal más tiempo que los machos de grupos uni-macho, estos últimos cambian de color más rápidamente y abandonan el grupo natal antes. Estas diferencias se relacionan con distintas estrategias, dado que mantener una coloración inmadura permite a los individuos permanecer en el grupo por más tiempo sin el rechazo del macho central en el caso de los grupos multi-macho y en el caso contrario el individuo está listo para migrar y conquistar otro grupo (Blomquist, Kowalewski, & Leigh, 2009)

Diferencias sexuales en comportamiento

Las diferencias sexuales a nivel del comportamiento consisten en mayores cuidados parentales por parte de la hembra y una predisposición en los comportamientos de agresividad y territorialidad por parte de los machos (Bernstein, 1978).

Algunos estudios realizados en *Sapajus apella* (Paukner & Suomi, 2008), *S. nigritus* (Agostini & Visalberghi, 2005), *M. mulatta* (Lovejoy & Wallen, 1988; Wallen, 2005), *Erythrocebus patas* (Rowell & Chism, 1986), *Presbytis entellus* (Nikolei & Borries, 1997), *Cercopithecus mitis* (Cords, 2012; Cords et al., 2010), *P. cynocephalus* (Cheney, 1978; Pereira, 1988), *G. gorilla gorilla* (Maestripieri & Ross, 2004) ponen en evidencia que las diferencias sexuales a nivel comportamental se desarrollan en la etapa juvenil (Tabla 1.1).

En estos estudios se evidencian diferencias sexuales durante el período juvenil en el tipo de juego, las afiliaciones y frecuencia relativa invertida en cada actividad (van Noordwijk, Hemelrijk, Herremans, & Sterck, 2003). Lovejoy & Wallen (1988), en sus estudios realizados durante 12 semanas en 5 hembras y 6 machos juveniles de macaco rhesus (*M. mulatta*) en semi-cautiverio en la estación biológica del Centro Regional Yerkes de investigación en Primates (Georgia, USA), relacionan las diferencias sexuales en el comportamiento juvenil con diferencias sexuales de los adultos. En este estudio demuestran que los machos juveniles superan a las hembras juveniles en juegos bruscos (machos 12.3 ± 2.3 n/hs > hembras 3.9 ± 0.7 n/hs), también desarrollan el comportamiento de “monta”, que no se observa en hembras

Tabla 1.1. Estudios de diferencias sexuales en comportamientos en primates juveniles. (*c/s: cautiverio/silvestre)

Especie	Sitio de estudio*	Comportamiento	Dif. sexuales		N	Cita
M	H					
<i>Gorilla gorilla gorilla</i>	USA/c	Iniciación de juego	+	-	6 M/ 6H	(Maestripieri & Ross, 2004)
		Elección de pareja de juego	=	=		
<i>Erythrocebus patas</i>	USA/c	Juego de persecución	+	-	11M / 9H	(Rowell & Chism, 1986)
		Juego rudo	=	=		
		acicalamiento	-	+		
		Evitar a otros	+	-		
		Proximidad a madre	=	=		
		Proximidad a infantes	-	+		
		Solitario	+	-		
		Sexual (monta)	+	0		
<i>Semnopithecus entellus</i>	Nepal/s	Proximidad a otros	-	+	4 M/ 4 H	(Nikolei & Borries, 1997)
		Solitario	+	-		
		Acicalamiento	-	+		
		Es agresivo	=	=		
		Recibe agresión	+	-		
		Monitoreo	+	-		
<i>Cercopithecus mitis stuhlmanni</i>	Kenia/s	Acicalamiento	-	+	22M / 17H	(Cords et al., 2010)
		Proximidad	-	+		
<i>Papio cynocephalus</i>	Kenia/s	Proximidad a machos adultos	+	-	7 H / 13H	(Pereira, 1988)
		Proximidad a hembras adultas	-	+		
		Solitario	=	=		
<i>Papio cynocephalus ursinus</i>	Sud África/s	Tasa de juego	=	=	3 M / 3H	(Cheney, 1978)
		juego con infantes	-	+		
<i>Macaca mulatta</i>	USA/c	Tasa de juego	+	-	6 M / 5 H	(Lovejoy & Wallen, 1988)
		Sexual (monta)	+	0		
		Agresión	=	=		
		Sumisión	=	=		
		Proximidad a otros	-	+		
<i>Macaca fascicularis</i>	Indonesia/s	Descanso	+	-	10H / 23M	(van Noordwijk et al., 2003)
		Alimento disperso	-	+		
		Recursos agrupados	+	-		
		Acicalamiento	-	+		
		Juego	+	-		
<i>Sapajus apella</i>	USA/c	Juego social	+	-	5 M/ 4H	(Paukner & Suomi, 2008)
		Juego individual	=	=		
<i>Sapajus nigritus</i>	Argentina/s	Alimentación de invertebrados	+	-	8 M/ 7 H	(Agostini & Visalberghi, 2005)
		Alimentación de frutos	-	+		

(machos 0.9 ± 0.1 n/hs > hembras 0.0 n/hs), las hembras juveniles por su parte expresan mayor interés en las crías (mayor frecuencia en contacto, cargándose, jugando o robándole de la madre) (macho 4.1 ± 0.9 n/hs < hembras 12.5 ± 0.8 n/hs) lo cual es considerado por los autores como una forma de desarrollar aptitudes en cuidados maternos (Lovejoy & Wallen, 1988; Wallen, 2005). Maestripieri y Ross (2004) en sus estudios sobre el juego en juveniles de gorila de llanura (*G. gorilla gorilla*) (descrito en sección 1.4), encontraron que la participación en juegos social es mayor en machos que en hembras. Los autores sugieren que el juego en los machos puede ser una forma de entrenamiento debido a que en la adultez deberán tener una participación más activa en la protección del grupo a amenazas externas (Maestripieri & Ross, 2004).

Los estudios realizados por van Noordwijk et al. (1993) en macaco cangrejero (*M. fascicularis*) encontraron que en algunos aspectos del comportamiento las diferencias sexuales son resultados de un aprendizaje observacional de algunos vecinos (las hembras pasan tiempo más cerca de otras hembras y los machos pasan más tiempo cerca de otros machos). El aprendizaje observacional puede resultar importante para desarrollar o refinar algún repertorio comportamental. Esto se relaciona con la hipótesis del tiempo de aprendizaje especificada anteriormente; ¿el período juvenil extendido podría deberse en cierta medida al tiempo necesario para aprender mediante la observación algunos repertorios comportamentales? (Ross, 1998; van Noordwijk et al., 2003). De forma similar en los estudios de Agostini y Visalberghi (2005) (descritos en sección 1.4) en mono capuchino negro (*S. nigritus*) encontraron que los machos juveniles pasaban más tiempo en proximidad de machos adultos en los momentos de alimentación de invertebrados (test de correlación de Spearman: $r = 0.9$), lo cual permitía la adquisición de patrones de forrajeo complejos específicos del sexo masculino (los machos se alimentaron de invertebrados en mayor proporción que las hembras: machos 63% > hembras 54%) (Agostini & Visalberghi, 2005).

Algunas de las diferencias en el comportamiento están relacionadas con la forma de vincularse con los otros individuos del grupo (Clutton-Brock & Iason, 1986; Cords et al., 2010). Por ejemplo, en los estudios realizados por Nikolei y Borries (1997) en 4 hembras y 4 machos juveniles de langur común (*Semnopithecus entellus*) silvestres en Nepal (entre noviembre 1992 y febrero de 1993), encontraron que en las hembras juveniles predominaban los comportamientos de acicalamiento (porcentaje de tiempo: hembras 10.9% > machos 2.1%) y la proximidad a otros individuos del grupo (porcentaje de tiempo: hembras 35.7% > machos 11.9%). En contraposición, los machos se encontraban solos la mayor parte del tiempo (88.1%), además de recibir la mayor cantidad de agresiones (machos 0.3 n/hs > hembras 0.2

n/hs) por parte de los otros miembros del grupo (principalmente machos adultos). Los autores consideran que el comportamiento de las hembras juveniles puede ser interpretado como una forma de integrarse a la estructura social jerárquica (grupo de hembras filopátricas) y el comportamiento de los machos como una forma de prepararse para abandonar el grupo social, cuidarse solos, e integrarse a grupos con una alta competencia intrasexual (estos machos además forman bandas de solteros) (Nikolei & Borries, 1997).

1.6. Expresión de hormonas esteroideas y su relación con el desarrollo

El sistema endócrino no sólo tiene un rol importante en la modulación de la historia de vida a nivel fisiológico mediante su intervención en distintos procesos metabólicos del desarrollo (Ellison, 2003) sino también en su regulación del comportamiento (Anestis, 2010). Si bien una variedad de trabajos (Tabla 1.1) se han centrado en el estudio del comportamiento durante el desarrollo de los primates, aún hay un gran vacío en el conocimiento que integra los patrones de comportamiento y su relación con la variabilidad endocrina de los primates juveniles (Gesquiere et al., 2005) (Tabla 1.2).

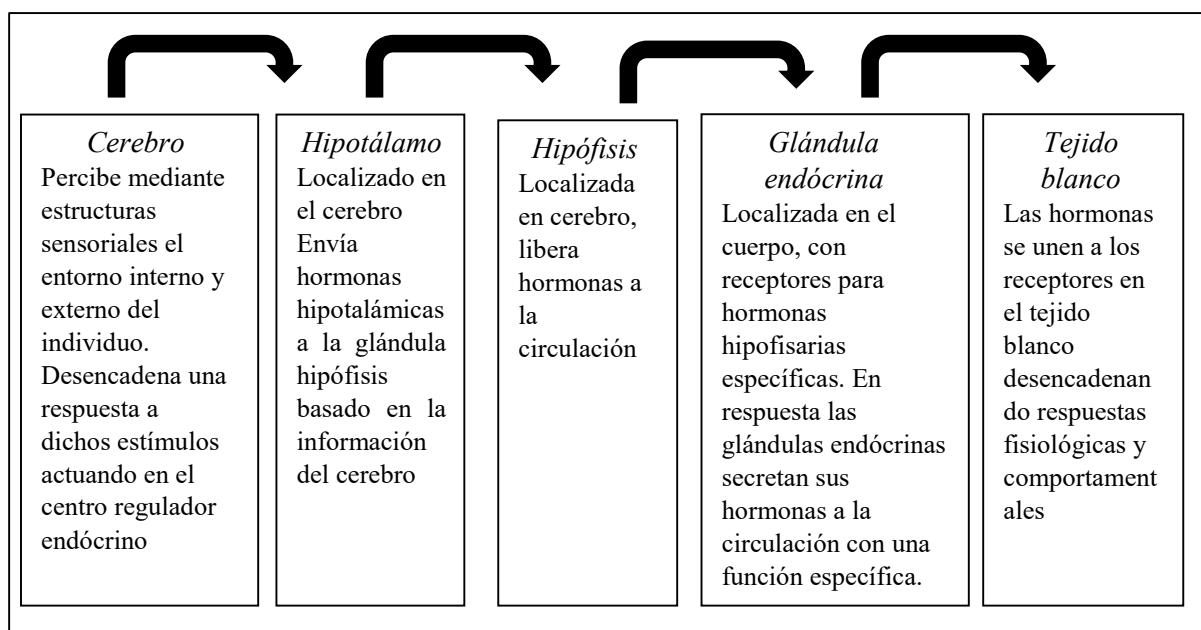
Tabla 1.2. Estudios hormonales realizados en primates juveniles. M: machos; H: hembras; C/S: Cautiverio (C) y silvestres (S). * Experimento en el que inoculan con andrógenos.

Especie	Sexos	Comport.	Hormonas	Muestra	C/S	Autor
<i>Macaca mulatta</i>	M /H	si	Andrógenos	Sangre	C	(Wallen, 2005)*
<i>Papio cynocephalus</i>	M	no	Testosterona, glucocorticoides	Heces	S	(Gesquiere et al., 2005)
	H		Progesterona, estrógenos glucocorticoides			
<i>Cebus apella</i>	M(22)/H(14)	si	Cortisol	sangre	C	(Byrne & Suomi, 2002)
<i>Sapajus nigrurus</i>	H	no	Progesterona Cortisol	sangre	C	(Lahoz, Nagle, Porta, Farinati, & Manzur, 2007)
<i>Alouatta palliata</i>	M (16)/H (19)	si	Estradiol Testosterona	Heces	S	(Clarke, Zucker, Ford, & Harrison, 2007)
<i>Gorilla gorilla</i>	M	no	Testosterona Cortisol	Heces	S	(Robbins & Czekala, 1997)

En términos generales las hormonas son mensajeros químicos secretados por glándulas endócrinas o determinados tejidos en respuesta información sobre el estado fisiológico del organismo o el ambiente. Actúan sobre un tejido blanco estimulando cambios en actividades metabólicas. El SNC tiene un rol principal en este mecanismo, este recibe la información

sobre el estado fisiológico y aspectos ambientales mediante estructuras sensoriales, esta información es procesada en el cerebro y luego transmitida a un centro regulador endocrino (hipotálamo – hipófisis) que es el encargado de generar una cascada de respuestas hormonales desencadenando una respuesta a nivel fisiológico, y en muchos casos, a nivel comportamental (Figura 1.1) (Anestis, 2010).

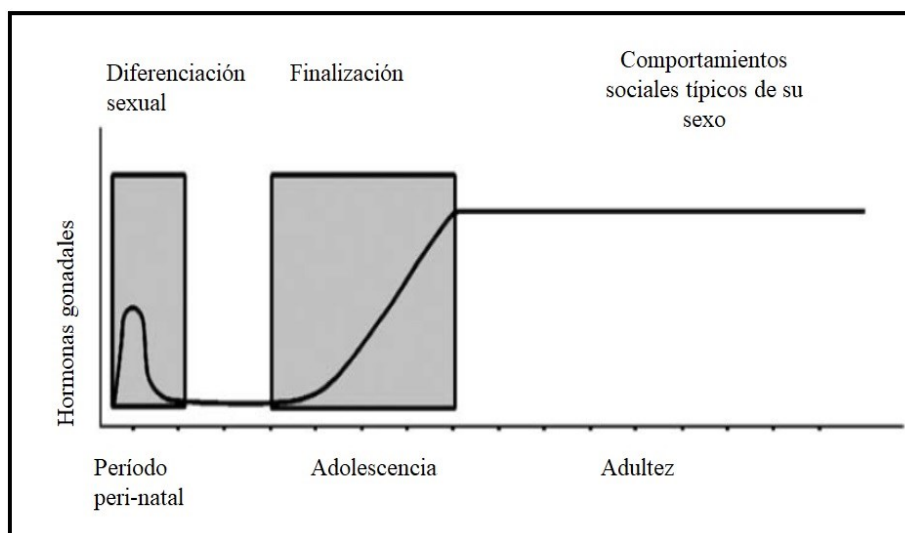
Figura 1.1. Modelo de acción del sistema endócrino (Adaptado de Anestis, 2010).



Eje reproductivo (hipotalámico-hipofisario-gonadal):

El eje reproductivo está compuesto por una población de células especializadas del hipotálamo, las cuales sintetizan y secretan la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH). La GnRH actúa sobre la hipófisis estimulando la secreción de las hormonas folículo estimulante (FSH), luteinizante (LH) y gonadotropina, actuando en las gónadas promoviendo la secreción de las hormonas sexuales (testosterona, estrógenos y progesterona). Las hormonas sexuales actúan en los mismos órganos estimulando la espermatogénesis en machos y el ciclo ovárico en hembras. En los mamíferos este eje tiene dos activaciones a lo largo de la vida, la primera ocurre durante el desarrollo embrionario y la segunda se da previamente a la madurez sexual (Cameron, 2004; Plant, 2015; Schulz & Sisk, 2006) (Figura 1.2).

Figura 1.2. Esquema de la doble activación del eje reproductivo durante el desarrollo, (Adaptado de Schulz & Sisk, 2006).



Estas activaciones conducen a una diferenciación del SNC modulado por las hormonas gonadales, ambas activaciones parecen ser necesarias para desarrollar los comportamientos típicos de cada sexo.

Los componentes del eje reproductivo están formados tempranamente y su actividad comienza durante el desarrollo embrionario. En la mitad de la gestación los niveles circulantes de LH y FSH alcanzan valores similares a la adultez (primera activación del eje reproductivo), seguido por un descenso en los niveles de gonadotrofina y un incremento en la secreción de las hormonas sexuales gonadales (Figura 1.2) (Cameron, 2004; Schulz & Sisk, 2006). Algunos estudios han investigado la importancia de las hormonas esteroideas en el desarrollo embrionario de los primates. Por ejemplo, Wallen (2001, 2005) ha estudiado mediante experimentos en macaco rhesus (*M. mulatta*) la forma en la que los andrógenos embrionarios intervienen en la gestación. Estos estudios sugieren que en el primer tercio de gestación los andrógenos tienen un rol importante en el desarrollo de los genitales y en las etapas posteriores actúan a nivel del SNC teniendo un gran impacto en la expresión de los comportamientos típicos de macho (comportamiento de monta en machos juveniles) o hembras (interés en infantes) (Wallen, 2001, 2005).

La segunda activación del eje reproductivo ocurre previamente a la maduración sexual, los signos más tempranos de esta reactivación están dados por aumento en la liberación de la hormona liberadora de gonadotrofina (GnRH) por el hipotálamo que produce un incremento en hormonas sexuales gonadales (testosterona, estrógenos, progesterona). Esto promueve la secreción de hormona luteinizante (LH) y folículo-estimulante (FSH), conduciendo al crecimiento testicular y producción de andrógenos gonadales en machos y producción de esteroides ováricos e iniciación de los ciclos reproductivos en hembras (Cameron, 2004; van

Belle, 2015). Además, las hormonas gonadales estimulan una gran variedad de procesos en el SNC que incluyen la neurogénesis (Pinos et al., 2001; Rankin, Partlow, McCurdy, Giles, & Fisher, 2003), apoptosis (Nuñez, Lauschke, & Juraska, 2001) crecimiento de proyecciones axónicas (Lewis, Cruz, Eggen, & Erickson, 2004), mielinización (Woo, Pucak, Kye, Matus, & Lewis, 1997), reestructuración dendrítica (Goldstein, Kurz, & Sengelaub, 1990), sinaptogénesis (Bourgeois, Goldman-Rakic, & Rakic, 1994) y eliminación de sinapsis (Geröcs, Réthelyi, & Halász, 1986) que resultan en importantes cambios en la morfología del cerebro (McEwen & Wingfield, 2003; Sisk & Zehr, 2005). De esta forma, además de su acción en los comportamientos sexuales estas hormonas actúan a nivel del hipocampo, el cuerpo estriado, cerebelo, la amígdala y la corteza cerebral interviniendo en la expresión de comportamientos no reproductivos (por ejemplo actividad motora, aprendizaje, resolución de problemas) (Cameron, 2004). Algunos estudios en el desarrollo hormonal en humanos han demostrado que hay un aumento significativo en la producción de hormonas esteroideas al final del período juvenil, lo cual actúa en distintos niveles en el encéfalo promoviendo cambios en el comportamiento y en aspectos cognitivos (Hochberg, 2008). Por ejemplo, Campbell (2006) sugiere que los mecanismos mediante los cuales la hormona esteroidea *dehidroepiandrosterona* actúa, se focalizan por un lado en la amígdala, reduciendo el miedo, lo cual permite un aumento en las relaciones sociales con otros individuos además de los progenitores, y por otro lado a nivel del hipocampo promoviendo un aumento en la memoria, capacidades sociales y cognitivas, lo cual favorece que los juveniles participen en actividades típicas de adultos (Campbell, 2006). Además de los cambios en comportamiento, el aumento en los andrógenos va acompañado de cambios corporales como un marcado desarrollo muscular y mineralización ósea (Hochberg, 2008).

Pocos estudios han abordado la expresión de hormonas sexuales y su relación con el comportamiento durante el período juvenil en primates. Un estudio realizado por Gesquiere et al. (2005), en babuino amarillo (*P. cynocephalus*) silvestres demuestra que las variaciones en las concentraciones de glucocorticoides, estrógeno, progesterona y testosterona presentan diferencias sexuales en el período juvenil (Gesquiere et al., 2005). Por otro lado, el estudio realizado por Clarke et al. (2007) en mono aullador negro (*A. pigra*), en el cual comparan la expresión de hormonas sexuales (estradiol y testosterona) en 26 juveniles de ambos sexos no encuentran diferencias sexuales en estas hormonas. Los autores sugieren una relación entre la ausencia de diferencias entre sexos a nivel hormonal y una estrategia de los juveniles para tener aspecto de individuo inmaduro y no ser expulsado del grupo por los adultos tempranamente (Clarke et al., 2007).

❖ *Testosterona:*

La testosterona es una hormona esteroidea que interviene en la espermatogénesis, dirige el desarrollo de las características sexuales secundarias (Wingfield, Hegner, Dufty, & Ball, 1990) como por ejemplo, aumento de tamaño (Anestis, 2006), desarrollo de las gónadas (Martin, Swenson, & Collins, 1977), y en algunos casos cambio de color en el pelaje mediante la regulación de los pigmentos de melanina (Bradley & Mundy, 2008). Esta hormona tiene efectos de activación de comportamientos de adulto como la territorialidad, cortejo y agresión propias de los machos (Anestis, 2006; Cristóbal-Azkarate, Chavira, Boeck, Rodríguez-Luna, & Veàl, 2006; van Belle, Estrada, Ziegler, & Strier, 2009; Wallen & Tannenbaum, 1997; Wingfield et al., 1990).

La “Hipótesis del desafío” (*Challenge hypothesis*) (Wingfield et al., 1990) propone que la respuesta de la testosterona al ambiente depende del grado de inversión parental y el sistema de apareamiento. Los machos que vivan en sistemas monógamos y que ejerzan cuidados parentales mostrarán respuestas más notorias a los desafíos ambientales (estaciones reproductivas, interacciones con otros machos) en los niveles de testosterona que las especies poligínicas y sin cuidados parentales (las cuales en general tendrán siempre niveles altos de testosterona). Niveles altos de esta hormona implican costos tanto a nivel fisiológico, promoviendo la inversión en el desarrollo del costoso tejido muscular (Ellison, 2003), como comportamental, promoviendo las interacciones agresivas entre machos y los comportamientos de cortejo apareados usualmente a riesgos de depredación (Wingfield et al., 1990). De esta manera esta hormona influye en la distribución de energía del organismo actuando en un *trade-off* entre la reproducción y supervivencia (Bribiescas, 2001; Ellison, 2003).

La relación entre comportamiento agresivo y la testosterona se ha observado en diversos estudios en primates no-humanos (por ejemplo; *Lemur catta* (Cavigelli & Pereira, 2000), *Eulemur fluvis rufous* (Ostner, Kappeler, & Heistermann, 2002), *Propithecus verreauxi* (Brockman, Whitten, Richard, & Schneider, 1998), *Macaca mulatta* (Bernstein, Rose, & Gordon, 1977), *Alouatta pigra* (van Belle et al., 2009)). Por otro lado, algunos factores sociales tales como la composición y grado de solapamiento de los grupos y el estado reproductivo de las hembras se relacionan con esta hormona (van Belle et al., 2009). Por ejemplo, el estudio de Rangel- Negrín et al. (2011) en mono aullador negro (*A. pigra*) en Campeche (México) en el cual se analizaron en 5 grupos de monos los niveles de testosterona en relación a diversos factores sociales, sugiere que los niveles de esta hormona no se relacionan con las tasas de cópulas pero si hay una importante influencia de la

composición del grupo; los machos pertenecientes a grupos uni-macho presentaron mayores niveles de testosterona que los individuos pertenecientes a grupos multi-macho (3600 vs 1900 ng/gr aprox) (Rangel-Negrín, Dias, Chavira, & Canales-Espinosa, 2011).

Existe un número limitado de estudios realizados en la expresión de esta hormona durante el período juvenil y su relación con el comportamiento en primates. Por ejemplo, los experimentos realizados en macaco rhesus (*M. mulatta*) en cautiverio han puesto en evidencia que la administración de altos niveles de testosterona en hembras juveniles puede hacer “masculinizar” sus comportamientos (los comportamientos de las hembras tratadas son significativamente más similares a los comportamientos de los machos que a los de las hembras no tratadas) (Wallen, 2005). Por otro lado, en un estudio realizado por Anestis (2006) con chimpancés (*Pan troglodytes*) en el cual se analizó el comportamiento en relación a la secreción de testosterona de 17 juveniles en cautiverio, se encontró que la expresión de testosterona se correlacionó positivamente con la cantidad de comportamientos agresivos que los individuos expresaron hacia otros machos y negativamente con la cantidad de agresiones recibidas. Además, se encontró una correlación positiva entre la testosterona y la edad (Anestis, 2006). Ambos estudios denotan el importante rol de la testosterona en la etapa juvenil tanto a nivel fisiológico como comportamental.

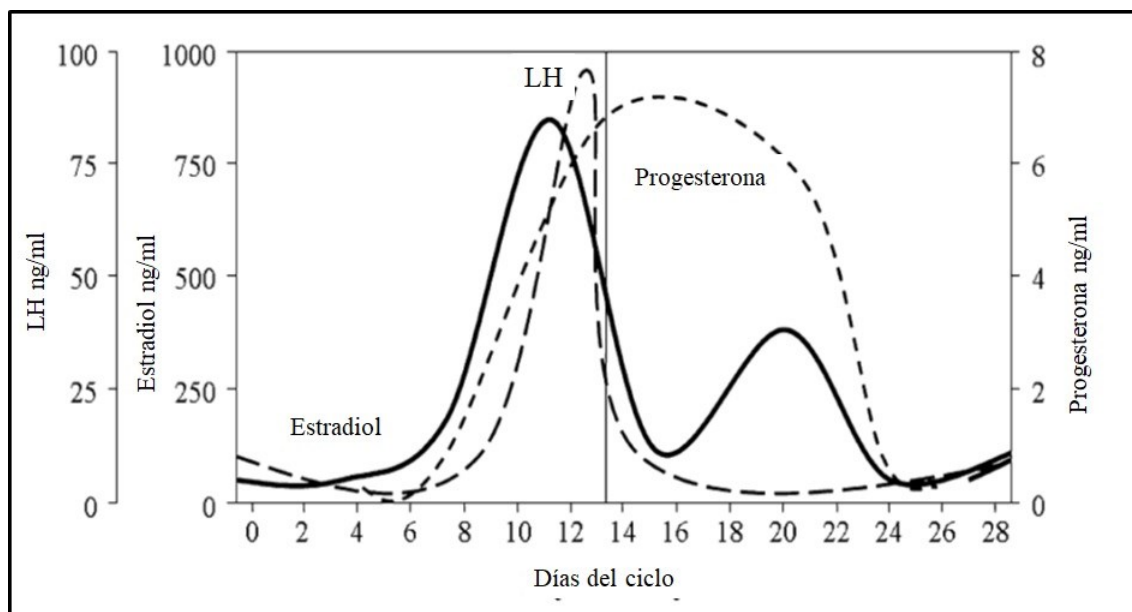
❖ *Progesterona y estradiol:*

La progesterona y el estradiol son hormonas producidas mayormente en los ovarios y están íntimamente relacionadas con el desarrollo de caracteres secundarios en las hembras, el desarrollo de las glándulas mamarias y estructuras reproductoras, con la regulación del ciclo reproductivo y con los comportamientos sexuales (comportamientos proceptivos) (Sisk & Foster, 2004).

En particular, estas hormonas junto con hormonas del hipotálamo como la hormona liberadora de gonadotrofina (GnRH) e hipófisis como las hormona luteinizante (LH) y foliculoestimulante (FSH) determinan las distintas fases del ciclo ovárico (Figura 1.3). La fase folicular del ciclo se caracteriza por un gradual desarrollo del folículo el cual finaliza con la ovulación. Esta fase está caracterizada por un aumento en los estrógenos (producidos por el folículo) y una baja concentración de progesterona. Próximo al proceso de ovulación, los niveles de progesterona comienzan a elevarse, y cuando el folículo madura se produce un pico de estrógeno, este pico es el desencadenante de una retroalimentación positiva en el hipotálamo que aumenta la secreción de hormona liberadora de gonadotrofina (GnRH) lo cual estimula a la hipófisis en la liberación súbita de hormona luteinizante (LH) y

foliculoestimulante (FSH). El pico de LH causa la ruptura del folículo desencadenando así la ovulación. Luego de la ovulación, el ciclo continúa con la fase lútea, caracterizada por la formación del cuerpo lúteo a partir del folículo (con el óvulo liberado). En las primeras etapas de esta fase hay niveles elevados de progesterona y un segundo pico (más bajo que el anterior) de estrógeno. Es aquí cuando la fecundación puede ocurrir. En caso de que el óvulo haya sido fertilizado, el cuerpo lúteo permanecerá secretando progesterona hasta que se desarrolle la placenta la cual continuara con esta tarea, en caso de que no se produzca la ovulación los niveles de progesterona irán descendiendo a lo largo de esta etapa (Ziegler, Strier, & van Belle, 2009).

Figura 1.3. Niveles de Progesterona, estradiol y LH en un ciclo generalizado no conceptivo de humano. (Adaptado de Ziegler, Strier, & van Belle, 2009).



Una gran variedad de estudios en primates humanos y no- humanos (por ejemplo; (*Cercopithecus aethiops* (Andelman, Else, Hearn, & Hodges, 2009), *Brachyteles arachnoides* (Strier & Ziegler, 1997), *Callicebus molochi* (Valeggia, Mendoza, Fernandez-Duque, Mason, & Lasley, 1999), *Alouatta pigra* (van Belle, Estrada, Ziegler, & Strier, 2009), *Alouatta caraya* (Raño, 2016)) han demostrado el importante rol de la progesterona y el estradiol en el ciclo reproductivo de las hembras. En estos estudios se demuestra cómo los distintos niveles de estas hormonas además de estar relacionadas con el ciclo reproductivo (ovulación, desarrollo del endometrio) también interviene en aspectos comportamentales (receptividad sexual, cortejo).

Los estudios realizados por Raño (2016), en 6 hembras pertenecientes a 2 grupos de

Alouatta caraya en el mismo sitio de estudio donde se realizó este trabajo (Estación Biológica Corrientes, Corrientes, Argentina), describe el rol de la progesterona en el ciclo reproductivo y demuestra cómo los niveles de esta hormona se relacionan con distintos aspectos del comportamiento. Por ejemplo, altos niveles de progesterona se relacionan con una mayor frecuencia de comportamientos socio sexuales (inspección de genitales, acicalamientos) y esto influye en las relaciones con los machos del grupo (habiendo un mayor interés en el macho central en los períodos de ovulación) (Raño, 2016).

Estos estudios reflejan la estrecha relación entre las hormonas sexuales y el comportamiento en las hembras adultas. Hasta el momento no hay trabajos que relacionen la expresión de estas hormonas con el comportamiento durante el período juvenil en primates. Para entender cómo interactúan estas hormonas con el comportamiento a lo largo del desarrollo se requiere una mayor profundización en esta investigación en el período juvenil y pubertad de los primates.

Eje hipotalámico-hipofisario-adrenal:

El eje hipotalámico-hipofisario-adrenal es un centro de control del organismo que conecta al SNC con el sistema endócrino. Este sistema neuroendocrino es el encargado de mantener al organismo en homeostasis y el normal funcionamiento ante el estrés. Bajo condiciones de estrés el hipotálamo secreta hormona reguladora de la corticotrofina (CRH) la cual produce la liberación de la hormona adrenocorticotrófica (ACTH) por parte de la hipófisis. La ACTH actúa sobre la glándula adrenal desencadenando la liberación de glucocorticoides, entre los cuales el más común es el cortisol (Kudielka & Kirschbaum, 2004).

❖ *Cortisol*

El cortisol pertenece al grupo de los glucocorticoides; hormonas esteroideas secretadas por la corteza de la glándula adrenal que participan en la regulación del metabolismo de hidratos de carbono favoreciendo la gluconeogénesis y la glucogenólisis (elevan la glucosa en sangre), proteínas y lípidos. Además, facilitan efectos de otras hormonas como las catecolaminas y las hormonas de la tiroides (Nelson & Cox, 2009).

El cortisol se relaciona con la fisiología del estrés (Rose, 1980; Sapolsky, Romero, & Munck, 2000) ya que actúa movilizandolos depósitos energéticos del cuerpo estabilizando así al individuo frente a situaciones de estrés (Beehner & Bergman, 2017; Feng et al., 2016). Independientemente de la naturaleza del estímulo estresor, durante una respuesta al estrés, el cortisol aumenta la circulación de glucosa a través de varios

mecanismos, contribuyendo al agotamiento de la energía almacenada. Diversos estudios en primates humanos y no- humanos han puesto en evidencia la íntima relación del cortisol con el estrés (Beehner & Bergman, 2017). Algunas investigaciones con adultos y niños humanos demostraron que los niveles de cortisol tienden a elevarse en respuesta a situaciones novedosas, incontrolables y amenazantes (Bruce, Poggi Davis, & Gunnar, 2002; Kirschbaum & Hellhammer, 1994).

Aunque muchos estudios han explorado el metabolismo del estrés en primates adultos (Beehner & Bergman, 2017), pocos lo han hecho en el período juvenil. Un caso es el estudio realizado por Gesquiere et al. (2005) en el cual analizan como cambia la concentración de cortisol a lo largo del período juvenil en ambos sexos. Para esto, obtuvieron muestras de 69 hembras inmaduras y 81 machos inmaduros de babuino amarillo (*Papio cynocephalus*) en el Parque Nacional Amboseli (Kenia). Entre sus resultados observaron que los machos de 3 años presentan un marcado incremento en los niveles de cortisol y a su vez en ese período sufren un gran aumento de tamaño corporal al mismo tiempo que sus interacciones agresivas con otros machos se hacen más frecuentes, las hembras no sufren estos cambios tan marcados y sus niveles de cortisol se mantienen estables a los 3 años de edad. Los autores sugieren que los cambios en los niveles de cortisol se relacionan con un incremento en los requerimientos metabólicos, particularmente en los machos quienes expresan un brote de crecimiento corporal a los 3 años (Gesquiere et al., 2005). Otro estudio realizado por Byrne y Suomi (2002), sobre la relación entre niveles de cortisol y comportamiento en 36 juveniles de mono capuchino caí (*S. apella*) en cautiverio en el *National Institute of Health Animal Center* (Poolesville USA), sugiere que los animales con altos niveles de cortisol tienden a explorar y -jugar menos-. Además, el tipo de juego resultó distinto en relación a los niveles de cortisol, los juveniles con mayores niveles de cortisol expresaron una preferencia por el juego solitario sobre el juego social, no siendo así en los casos de juveniles que mostraron bajos niveles de cortisol. Los niveles altos de cortisol también se relacionaron con individuos con mayor relación con la madre (Byrne & Suomi, 2002).

1.7. *Alouatta caraya*, un buen modelo para estudiar el período juvenil

El mono aullador negro y dorado (*Alouatta caraya*) (Figura 1.4) es una especie de primate neotropical perteneciente a la familia *Atelidae* (conformada por los géneros *Alouatta*, *Ateles*, *Brachyteles*, *Lagothrix* y *Oreonax*). En el género *Alouatta* se reconocen 9 especies (*A. palliata*, *A. pigra*, *A. arctoidea*, *A. sara*, *A. macconnelli*, *A. guariba*, *A. belzebul*,

A. caraya), y 3 taxones en discusión que podrían ser considerados especies (*A. nigerrima*, *A. ululata*, *A. discolor*), además se reconocen 5 subespecies en *A. palliata*, 3 en *A. seniculus*, 2 en *A. guariba* y posiblemente 2 en *A. pigra* (Cortés-Ortiz, Rhylands, & Mittermeier, 2015).

Figura 1.4. macho (izquierda) y hembra (derecha) juveniles de *Alouatta caraya*



Estos primates viven en grupos de entre 10 y 15 individuos en promedio formados por adultos y un número variable de juveniles e infantes de ambos sexos (Di Fiore & Campbell, 2011). Esta especie en el período adulto presenta dicromatismo (machos son negros y las hembras doradas (Crockett, 1987) y dimorfismo sexual (peso promedio de cada sexo (+desvío estándar); machos: 6.42 ± 1.15 kg. y hembras: 4.33 ± 0.76 kg) (Rumiz, 1990))

Entre los individuos adultos de *A. caraya* existe un macho central y otros machos secundarios que participan en forma diferencial en los encuentros entre grupos, mientras que son las hembras en particular quienes realizan mayores cuidados alo-parentales y acicalamiento de pares (Bravo & Sallenave, 2003; Di Fiore & Campbell, 2011; Kowalewski, 2007; Pavé, Kowalewski, Zunino, & Giraudo, 2015). En esta especie ambos sexos migran del grupo natal en la adultez temprana (Pavé et al., 2012; Rumiz, 1990), aunque puede haber casos de hembras filopátricas en algunas poblaciones (Oklander, Kowalewski, & Corach, 2010). El incorporarse a un nuevo grupo suele ser uno de los mayores desafíos (Crockett & Pope, 2003), pero mientras que las hembras que se incorporaron con éxito probablemente pasen el resto de su vida en ese grupo, los machos verán amenazada su permanencia al grupo reiteradas veces en su vida debido a la posibilidad de recambio de macho central, situación de la cual puede terminar expulsando al extraño, siendo expulsado, o en el peor de los casos muerto (Crockett, 2003), en estos casos las aptitudes para la pelea suelen jugar un papel

importante (Crockett & Pope, 2003).

Los grupos suelen tener áreas de acción de entre 1.7-5.5 ha (Di Fiore & Campbell, 2011) aproximadamente estables en el tiempo, que normalmente solapan en parte con las áreas de acción de otros grupos, durante los encuentros entre-grupos se efectúan sesiones de aullidos. Aunque ambos sexos participan de los encuentros, en general los machos suelen liderar y tener un rol más activo en los encuentros y peleas (69%) que las hembras (31%) (Fernández, Kowalewski, & Zunino, 2013; Kowalewski, 2007).

Con respecto a los *comportamientos sexuales*, durante la adultez, tanto machos como hembras expresan estos comportamientos, en ambos sexos hay inspección de genitales, solo en las hembras se observa el comportamiento de “movimiento de lengua” y presentación de genitales, mientras que las montas se dan principalmente en los machos (Raño, 2016).

En cuanto a los hábitos alimenticios, estos son primates arbóreos, folívoros-frugívoros, con una dieta muy variada que además de hojas incluye frutos y flores (Bicca-Marques & Calegario-Marques, 1994; Rumiz, Zunino, Obregozo, & Ruiz, 1986). En cuanto al comportamiento dietario, no hay grandes variaciones según el sexo en el consumo de alimento. En términos generales esos animales aumentan la proporción de tiempo invertida en los descansos a medida que crecen (Bicca-Marques & Calegario-Marques, 1994).

Estos animales pueden vivir más de 20 años y el período juvenil ocurre aproximadamente entre las edades de 1 a 3 años en hembras y 1 a 4 años en machos (Rumiz, 1990). A lo largo de su desarrollo presentan grandes cambios, siendo el más conspicuo el caso de los machos que desarrollan un gran hueso hioides y sufren un cambio de coloración del pelaje pasando de ser dorados a completamente negros. El dimorfismo sexual en tamaño está dado principalmente por diferencias sexuales en la tasa de crecimiento durante el período juvenil (Figura 1.5); durante la infancia, la tasa de crecimiento en machos y hembras es similar (aumentan 1 kg por año), luego del primer año la tasa de crecimiento de los machos es 3 veces la de las hembras (Leigh, 1992, 1994) (Figura 1.6).

Aunque en esta especie no hay análisis detallados del desarrollo cerebral, estudios morfométricos realizados por Coppo & Resoagli (1978) aportan una idea aproximada de la ontogenia de este órgano (Figura 1.7), sugiriendo que en esta especie el desarrollo del cerebro durante el período juvenil se da de forma gradual (Leigh, 2004).

Figura 1.5. Cambios en el peso (Kg) según la edad (años) en *Alouatta caraya*. Círculos corresponde a machos y triángulos a hembras (Adaptado de Leigh 1992).

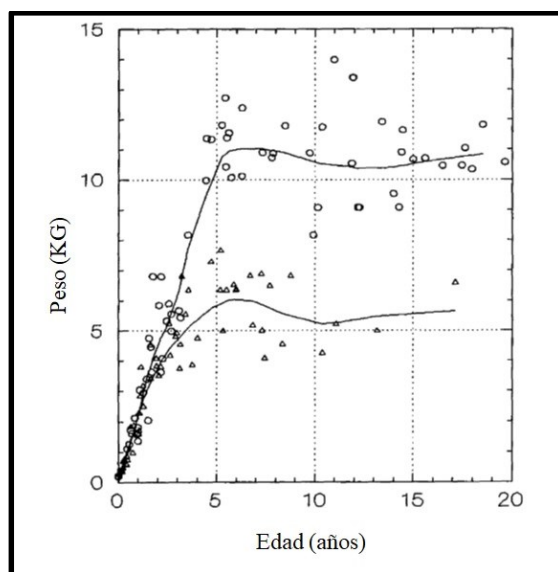
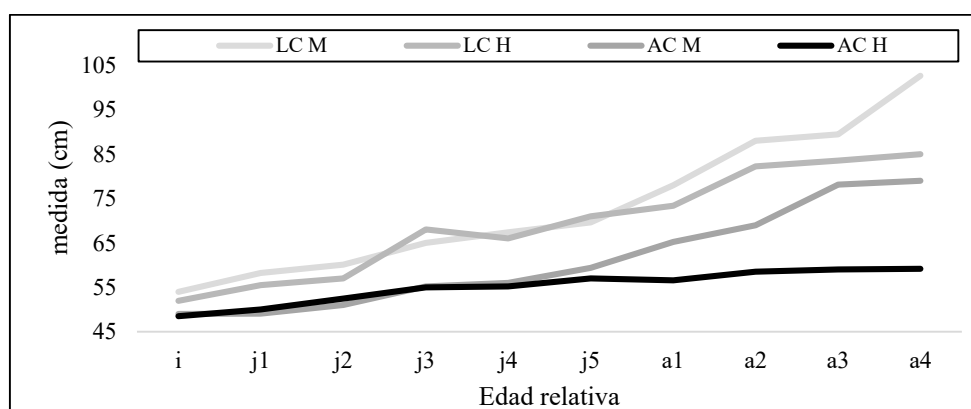


Figura 1.6. Medidas craneocefálicas de *A. caraya* en distintos estadios (adaptado de Coppo & Resoagli 1978).



LC M: longitud cefálica en machos, LC H: longitud cefálica en hembras, AC M: ancho cefálico en machos; AC H: ancho cefálico en hembras. Edades relativas: i: infante, j1-j5: juvenil; a1-a4: adulto, (j4-j5 corresponden a la edad de 3-4 años aproximadamente).

El mono aullador negro y dorado (*Alouatta caraya*) resulta ser un buen modelo para estudiar las diferencias sexuales durante el desarrollo, ya que sus trayectorias de crecimiento son marcadamente diferentes (Leigh, 1994). Los adultos presentan dimorfismo y dicromatismo sexual, además de diferentes patrones comportamentales y estrategias de apareamiento (Bicca-Marques & Calegario-Marques, 1998; Kowalewski & Garber, 2010; Rumiz, 1990).

1.8. Preguntas, objetivos e hipótesis

En general, la mayoría de los estudios en primates no-humanos se concentran en el estudio de patrones comportamentales y/o fisiológicos de los individuos adultos y de esta forma se desconoce la potencial diferencia de las presiones selectivas que operan antes del período adulto (Pereira & Leigh, 2003). Los resultados de este proyecto brindarán herramientas para enriquecer discusiones y análisis comparativos con respecto a las hipótesis que tratan de explicar el período juvenil extendido en el Orden Primates.

Preguntas

Las principales preguntas de investigación son: *¿Cómo varían los comportamientos y la expresión de hormonas sexuales y cortisol a lo largo del período juvenil? Y ¿cuál es el papel de las hormonas sexuales en esta etapa?*

En particular:

- ❖ ¿En qué etapa del crecimiento se desarrollan los comportamientos típicos de hembras y machos adultos en *Alouatta caraya*?
- ❖ ¿Qué aspectos comportamentales están correlacionados con cambios en las hormonas sexuales en el período juvenil?
- ❖ ¿Son las condiciones de estrés iguales en machos y hembras durante el desarrollo?

Objetivos

Objetivos generales:

Explorar factores comportamentales y fisiológicos en los dos sexos durante el período juvenil en individuos de *Alouatta caraya* y así evaluar su posible papel en las estrategias implementadas por los adultos.

Objetivos específicos:

1. Analizar el desarrollo del comportamiento en *A. caraya* en individuos de ambos sexos durante el período juvenil.
2. Explorar relaciones entre progesterona y estradiol con el comportamiento en hembras juveniles de *A. caraya* a lo largo de su desarrollo.
3. Explorar relaciones entre la testosterona con el comportamiento en machos juveniles de *A. caraya* a lo largo de su desarrollo.
4. Explorar las variaciones en el metabolismo del estrés a lo largo del desarrollo del período juvenil de *A. caraya* mediante el análisis de cortisol.

Hipótesis y predicciones

Las siguientes son las hipótesis propuestas (**H**) y las predicciones (**P**) asociadas:

H1. *El período juvenil extendido es una etapa en la cual los individuos adquieren aptitudes útiles para la vida adulta. Los adultos de ambos sexos expresan diferentes estrategias comportamentales, por lo tanto, los individuos de cada sexo comienzan a expresar comportamientos característicos de su sexo a medida que van creciendo.*

- ❖ P1 Las hembras juveniles invertirán más tiempo que los machos juveniles en la interacción con las crías y esto aumentará con la edad.
- ❖ P2 Las hembras juveniles invertirán más tiempo que los machos juveniles en los acicalamientos de pares y esto aumentará con la edad.
- ❖ P3 Los machos juveniles invertirán más tiempo que las hembras juveniles en los comportamientos agresivos y esto aumentará con la edad.
- ❖ P4 Los machos juveniles invertirán más tiempo que las hembras juveniles en los aullidos y esto aumentará con la edad.
- ❖ P5. Los machos juveniles invertirán más tiempo que las hembras juveniles en los juegos sociales y esto aumentará con la edad
- ❖ P6. El tiempo invertido en comportamientos sexuales (monta, inspección de genitales) aumentará con la edad en ambos sexos

H2 *El aumento en el nivel de Progesterona y Estrógenos a lo largo del período juvenil en las hembras se correlaciona con un aumento en los comportamientos socio-sexuales hacia los machos adultos (acicalamiento, inspección de genitales) relacionados con el desarrollo de comportamiento típico de hembras adultas.*

- ❖ P. En las hembras juveniles los aumentos en la duración de acicalamiento e inspecciones genitales en machos adultos se producirán simultáneamente con los aumentos en los niveles de Progesterona y Estradiol.

H3. *El aumento en el nivel de Progesterona y Estrógenos a lo largo del período juvenil en las hembras se correlaciona con un aumento en los comportamientos de cuidados alo-*

parentales y acicalamiento de pares relacionados con el desarrollo de comportamiento típico de hembras adultas.

- ❖ P1. En las hembras juveniles, los aumentos en la duración de interacciones con crías e infantes se producirán simultáneamente con aumentos en los niveles de Progesterona y Estradiol.
- ❖ P2. En las hembras juveniles los aumentos en la duración de acicalamiento de pares se producirán simultáneamente con aumentos en los niveles de Progesterona y Estradiol.

H4. *El aumento en el nivel de testosterona a lo largo del período juvenil en los machos está asociado a un aumento en los comportamientos sexuales relacionados con el desarrollo de comportamiento típico de machos adultos en esta especie.*

- ❖ P. En los machos juveniles los aumentos en la duración de comportamientos socio-sexuales hacia las hembras adultas (inspección de genitales, intentos de cópula) se producirán simultáneamente con aumentos en los niveles de testosterona.

H5. *El aumento en el nivel de testosterona a lo largo del período juvenil en los machos está asociado a un aumento en los comportamientos agresivos y de juegos rudos relacionados con el desarrollo de comportamiento típico de machos adultos en esta especie.*

- ❖ P. En los machos juveniles los aumentos en la duración de comportamientos agresivos y juegos rudos se producirán simultáneamente con aumentos en los niveles de testosterona.

H6. *La acción de los glucocorticoides está relacionada con los mecanismos fisiológicos de distribución de recursos energéticos durante el desarrollo, por lo cual el metabolismo del estrés responderá de distinta forma en relación a las tasas de crecimiento en ambos sexos durante el período juvenil.*

- ❖ P1. Los niveles de cortisol irán aumentando a lo largo del período juvenil
- ❖ P2. Los niveles de cortisol serán más elevados en machos que en hembras.

1.9. Estructura de la tesis

En este trabajo se propone investigar las variaciones en relación a la edad y sexo del comportamiento durante el período juvenil en *Alouatta caraya*, como influyen las hormonas sexuales en el comportamiento y como varía el cortisol durante esta etapa. La tesis presenta 7 capítulos, que incluye: un primer capítulo (I) donde se establece el marco teórico, la pregunta de investigación, los objetivos y las hipótesis de trabajo; un segundo capítulo (II), con la metodología general de la tesis donde se detallan cómo fueron registradas las observaciones comportamentales y cómo fueron contruidos los perfiles hormonales. En los capítulos III, IV, V y VI se describen los resultados obtenidos, en particular en el capítulo III se exploran los aspectos comportamentales con los resultados asociados a la hipótesis 1, en el capítulo IV se analizan los perfiles de progesterona y estradiol de las hembras juveniles y se ponen a prueba las hipótesis 2 y 3, en el capítulo V se exploran los perfiles de testosterona en machos juveniles y se ponen a prueba las hipótesis 4 y 5, y en el capítulo VI se exploran los perfiles de cortisol en juveniles de ambos sexos y se pone a prueba la hipótesis 6. Por último, en el capítulo VII se establecen las conclusiones generales del trabajo y se proponen nuevos interrogantes.

CAPÍTULO II

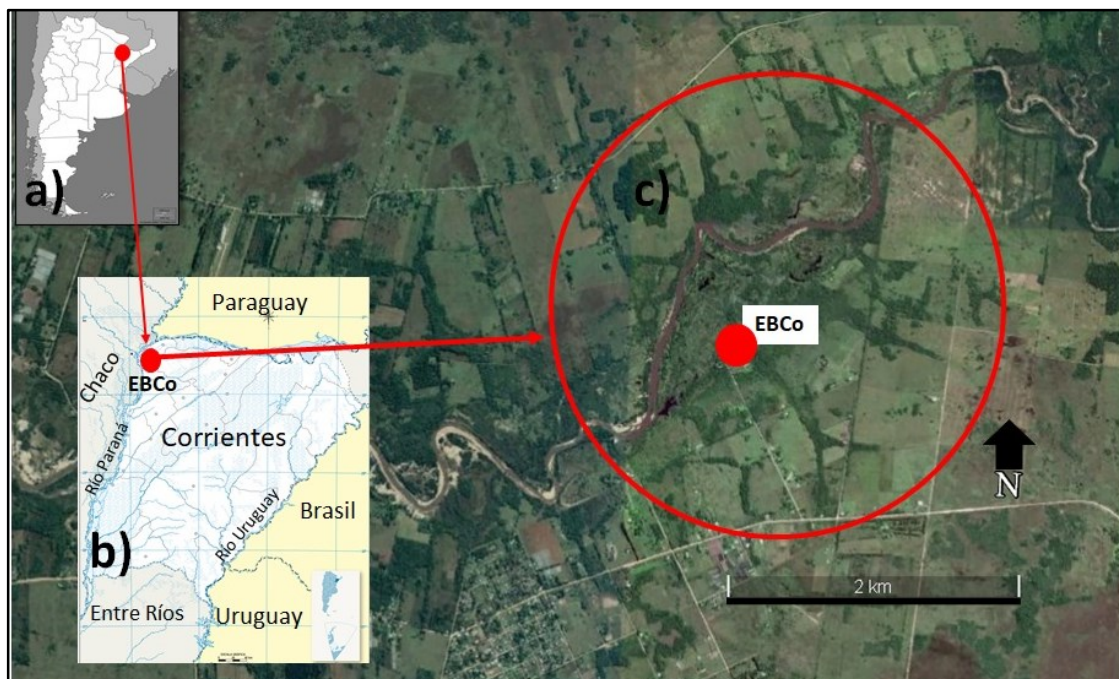
Métodos

En este capítulo describiremos los métodos utilizados para llevar a cabo los objetivos propuestos y poner a prueba las distintas hipótesis presentadas en el capítulo I. Específicamente, describiremos el sitio de estudio, los individuos y grupos seleccionados, los métodos registro de datos comportamentales (junto con la descripción de los comportamientos) y métodos de colecta y análisis de muestras de orina para obtener las concentraciones de hormonas.

2.1. Sitio de estudio

El estudio se llevó a cabo en extensiones del bosque semidecíduo en galería en San Cayetano (27 30' S - 58 41' O) a orillas del arroyo Riachuelo en el noroeste de la provincia de Corrientes en los alrededores de la Estación Biológica Corrientes (MACN- CONICET) y el Parque Provincial San Cayetano (Figura 2.1). La temperatura media anual es de 21.7°C y el nivel de precipitaciones medio es de 1.230 mm (servicio meteorológico nacional).

Figura 2.1. Localización del sitio de estudio (marcado con círculo rojo).



a) dentro de Argentina, b) en la provincia de Corrientes, c) en círculo rojo los fragmentos de bosque utilizados por los grupos de estudio y su distancia relativa a la estación biológica Corrientes (EBCo) (Google Earth).

Las áreas de acción de los grupos de *Alouatta caraya* estudiados en este proyecto se encuentran a una corta distancia (10-1000mts) de la Estación Biológica Corrientes (EBCo), centro de investigación donde se contaron con las instalaciones para almacenar y procesar las muestras obtenidas. Cabe destacar que en septiembre de 2015 (el trabajo de campo ya había finalizado) parte del área de estudio fue declarado como “*Parque Provincial San Cayetano*” por la Prov. de Corrientes (Ley provincial 6360/15). En este Parque quedó incluido 1/3 del área de acción de uno de los grupos seleccionados para este estudio, el grupo Huerta.

El área es plana y se eleva a 60 m sobre el nivel del mar. Consiste en una cuenca de sedimentación a lo largo de la cual fluyen los ríos Paraná y Paraguay (Rumiz, Zunino, Obregozo, & Ruiz, 1986). El bosque en esta región puede considerarse como perteneciente a dos provincias fitogeográficas diferentes; la “Paranaense” y la “Chaqueña” (Cabrera, 1976). Por lo cual su composición florística refleja una combinación de ambas provincias fitogeográficas (Rumiz et al., 1986). El área corresponde a la unidad de paisajes “esteros y bañados” caracterizada por ser una zona baja con un mosaico de pastizales, cañaverales y pajonales, acompañada por zonas elevadas no inundables (lomadas) donde existen sabanas con árboles dispersos o isletas de bosques que sirven de hábitat para *Alouatta caraya*. La vegetación más representativa de los bosques es la Espina corona (*Gleditsia amorphoides*), el Timbó (*Enterolobium contortisiliquum*), el Guayabí (*Cordia americana*), el Ibirá Pitá (*Peltrophorum dubium*), la Mora (*Maclura tinctoria*), el Ñangapirí (*Eugenia uniflora*), el lapacho (*Handroanthus heptaphyllus*) entre otros (Rumiz et al., 1986).

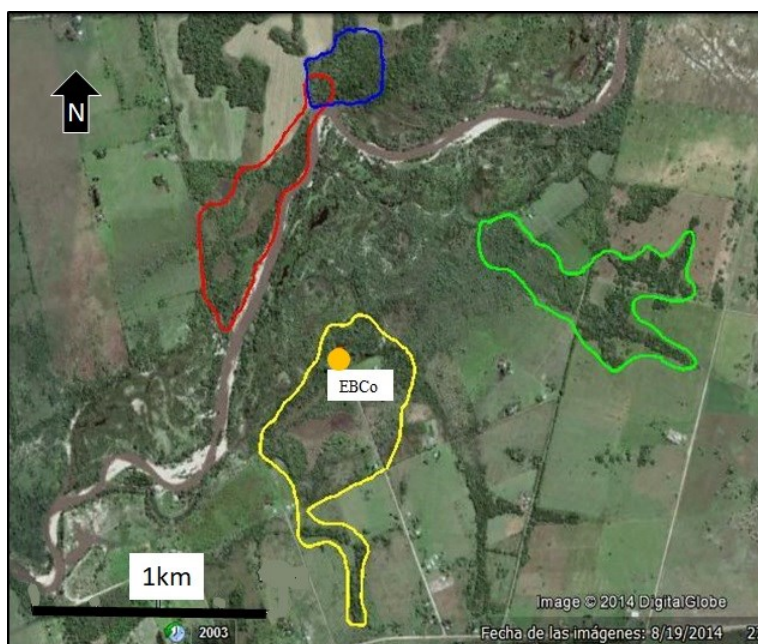
Los bosques están en gran proporción cuadriculados (cuadrados de 20x20 m) y la mayoría de los árboles están identificados (con chapas con números) y mapeados. Algunas áreas fueron mapeadas en estudios previos (área de acción de Alicia y Caravana Naranja) y otras de las áreas fueron mapeadas para este estudio (área de acción de Huerta y Hembra Negra).

2.2. Sujetos y Grupos de estudio

En este sitio de estudio se están llevando a cabo trabajos relacionados con la ecología y el comportamiento de monos aulladores desde 1982 y desde el 2007 se realizan estudios demográficos y de estado de salud de al menos 25 grupos de aulladores en forma continua (Rumiz, 1990; Zunino & Kowalewski, 2008). Por lo tanto, se conoce la historia de estos grupos, y muchos de sus individuos son reconocidos a través de marcas artificiales (caravanas) o naturales (cicatrices, coloración).

Los juveniles de *A. caraya* estudiados fueron seleccionados en un relevamiento preliminar y pertenecen a cuatro grupos (Alicia, Hembra Negra, Huerta, Caravana Naranja) que se distribuyen como está indicado en la Figura 2.2. Algunos de los individuos seleccionados murieron o se perdieron durante el estudio por lo cual se seleccionaron nuevos individuos de los mismos grupos para completar el número. Los individuos seleccionados se encuentran en la Tabla 2.1.

Figura 2.2. Áreas de acción de los grupos de *A. caraya* seleccionados.



Rojo: Alicia, Azul: Caravana Naranja, Amarillo: Huerta, Verde: Hembra Negra. Punto naranja: EBCo. (fuente: google Earth)

La clasificación de los individuos por edad y sexo se realizó siguiendo los criterios de Rumiz (1990):

- Infante (0 a 1 año): Son los más pequeños, de color amarillo claro.
- Juvenil (1 a 3 años en hembras y 1 a 4 años en machos). Las hembras tienen un clítoris delgado y largo, los labios vulvares son también delgados, el color del pelaje en general más claro que las hembras adultas. Los machos se van volviendo más oscuros a medida que crecen. En este estudio el período juvenil está dividido en dos categorías de edad detallado en la Tabla 2.1.
- Subadulto (de 3/3.5 a 4/ 4.5 en hembras y de 4 a 5 en machos) El área genital de las hembras comienza a cambiar, el clítoris se hace más corto y grueso, el tamaño de cuerpo es algo más pequeño que el de las hembras adultas. Los machos tienen un tamaño similar al de las hembras adultas, con testículos blanquecinos, con el pelaje

casi completamente negro con algunos sectores aún dorados (ventralmente el pelaje es castaño)

- Adulto (desde 4/5 en hembras y desde 5 en machos) El clítoris de las hembras es difícil de ver, labios vulvares gruesos con pigmentaciones irregulares. Cuerpo es de coloración dorada con el lomo algo oscurecido. Machos son completamente negros, los testículos son naranja. Son notoriamente más grande que las hembras.

Se estudiaron 13 juveniles distribuidos por sexo y en dos categorías de edad: J1 Y J2 (Tabla 2.1) pertenecientes a cuatro grupos (Tabla 2.2) Durante el período juvenil de *A. caraya* (de 1-4 años en machos y 1-3 años en hembras) el pelaje es de color dorado. Se pueden distinguir dos etapas caracterizadas por presentar distinto tamaño corporal, coloración de la cabeza y estructuras reproductivas (Balcells & Baró, 2009; Rumiz, 1990). La edad aproximada en meses de los individuos fue posible de estimar debido a que se tiene registro de la dinámica de estos grupos y de nacimientos 1 y 2 años antes al comienzo de este trabajo (Brivido, Com. pers.). En la Tabla 2.3 se indican los individuos seleccionados para el estudio.

El criterio de selección de los grupos fue dado por:

1. Todos los grupos debían contar con más de un individuo juvenil en su composición, con el fin de poder contemplar en todos los casos interacciones entre juveniles.
2. En la sumatoria de los grupos seleccionados se debía contar con 3 individuos de cada categoría (12 en total) más individuos extra (en caso de tener que hacer reemplazos).
3. Cercanía (menos de 5 km de distancia entre ellos) entre las áreas de acción de todos los grupos, lo cual garantiza similitud en la vegetación entre las áreas de acción y además es una ventaja logística en el trabajo de campo.

Tabla 2.1 Clasificación de estadios juveniles.

Características físicas	J1 (entre 1 y 2 años)		J2 (entre 2 y 3-4 años)	
	Tamaño corporal pequeño (1-2kg)		Tamaño corporal medio (3-4kg)	
	Hembras: clítoris fino y largo y labios vulvares finos, sin manchas	Machos: testículos blancuzcos y pequeños.	Hembras: clítoris se hace más corto y labios vulvares se engrosan, pueden empezar a aparecer manchas.	Machos: testículos más anaranjados y comienzan a aumentar de tamaño. La coloración del pelaje es más oscura

Tabla 2.2 Composición de los Grupos.

Grupo	MA	HA	MSA	HSA	MJ2	HJ2	MJ1	HJ1	MI	HI
Huerta	3	6	0	0	0	1	2	1	0	3
Hembra Negra	1	4	0	1	1	1	0	1	0	2
Alicia	1	4	0	0	1	2	1	2	2	2
Caravana Naranja	2	2	0	0	1	0	1	0	0	2
TOTAL	7	16	0	1	3	3	4	5	2	9

MA: macho adulto; HA: hembra adulta; MSA: macho subadulto; HSA: hembra subadulto; MJ2: macho juvenil de categoría J2; HJ2: hembra juvenil de categoría J2; MJ1: macho juvenil de categoría J1; HJ1: hembra juvenil de categoría J1; MI: macho infante; HI: hembra infante

Tabla 2.3 Juveniles seleccionados para el estudio.

Sexo /edad cat.	ID	Grupo	Edad (meses)	Madre	Intervalo estudiado
Macho J2	Fco	Al	29	Fea	agosto 2014- septiembre 2015
	Bongó	HN	30	Pandereta	agosto 2014- septiembre 2015
	Rodrigo	CN	24	Antú	agosto 2014- septiembre 2015
	Samba	Hu	24	Frutilla	agosto 2014- junio 2015*
Macho J1	Huevo	Al	13	Ita	agosto 2014- septiembre 2015
	Silvio	CN	14	Berta	agosto 2014- septiembre 2015
	Caramelo	Hu	18	Dulce	agosto 2014- septiembre 2015
Hembra J2	Gramínea	Al	29	Orejas	agosto 2014- septiembre 2015
	Chaucha ¹	Al	29	Ita	agosto 2014- octubre 2014**
	Quena	HN	29	Sanca	agosto 2014- septiembre 2015
	Almendra ²	Hu	24	Crema	octubre 2014-septiembre 2015
Hembra J1	Pepa ³	Al	14	Orejas	noviembre 2014-septiembre 2015
	Lila ¹	Al	14	Fea	agosto 2014- noviembre 2014**
	Calimba	HN	14	Pandereta	agosto 2014- septiembre 2015
	Vainilla	Hu	18	Tramontana	agosto 2014- mayo 2015**

*muere **perdido. (1) hembras no incorporadas al estudio hormonal debido a las pocas muestras de orina disponibles. (2) Se incorporó posteriormente al inicio del estudio como remplazo de Chaucha. (3) Se incorporó posteriormente al inicio del estudio como remplazo de Lila. En naranja aquellos individuos de los cuales no se realizó análisis hormonal de la orina.

Dinámica social de los grupos de estudio

A continuación, se describe la composición de cada grupo y los cambios en estos durante el período de muestreo.

El grupo **Hembra Negra (HN)** estaba conformado originalmente por un macho adulto (Djembe), 4 hembras adultas (Pandereta, Hacha, Sanca, Arpa), una hembra sub-adulta

(Inés), tres juveniles (Bongó, Quena, Calimba) y dos infantes (Anto, Toto). Este grupo tuvo el primer cambio cuando Inés abandonó el grupo en septiembre del 2014. Otro cambio sucedió en el período abril-mayo 2015 cuando se dio un intercambio de macho central: para fines de Mayo (2015) el macho original Djembé abandonó el grupo por completo y fue remplazado por Charles, macho que continuó hasta el final del estudio. Cuando el nuevo macho ingresó al grupo, dos hembras (Pandereta y Hacha) tenían crías de menos de un mes de edad, las cuales muy probablemente fueron víctimas de infanticidio considerando que ambas murieron el mismo día, en la época que solo se podía ver a Charles en el grupo. En ese momento además había dos infantes de cerca de 1 año (Toto y Anto) y los tres juveniles bajo estudio (Bongó, Quena y Calimba), ningunos de los 5 sufrió consecuencias físicas por esto.

En el grupo ***Caravana Naranja (CN)*** no hubo ningún cambio en la composición de los adultos (Pacho, Coco, Berta y Antú) ni en los juveniles (Silvio y Rodrigo). Sin embargo, los dos infantes (nacidos en abril de 2014) murieron en junio y julio de 2015, la única cría que nació en el 2015 (cría de Berta) murió al poco tiempo (menos de un mes de edad).

En el Grupo ***Alicia (Al)*** no hubo ningún cambio en la composición de los adultos (Sandro, Fea, Orejas, Ita y Lasin), sin embargo, entre los juveniles se registraron cambios en la composición. La hembra J2 Chaucha desapareció del grupo en octubre de 2014 (por lo cual lo pocos datos obtenidos de ella no fueron considerados para el análisis), la hembra J1 Lila también desapareció del grupo en diciembre 2014 (las pocas muestras de orina no fueron consideradas para el análisis hormonal). Esta hembra desapareció el día después de haber recibido un ataque por parte de una hembra adulta del grupo (Ita), en el cual la arrojó al suelo, y la mordió causando heridas en la cola. De las 4 crías nacidas en abril 2014, 3 desaparecieron en el período mayo- julio 2015.

El Grupo ***Huerta (Hu)*** estuvo compuesto por 3 machos adultos (Chocolate, Granizado y Oreo) y 6 hembras adultas (Tramontana, Limón, Crema, Frutilla, Dulce, Cereza). Oreo probablemente murió en julio 2015 considerando que los días antes de su desaparición se lo veía muy débil. Los juveniles fueron Caramelo, Almendra, Samba quien murió en junio de 2015 de neumonía (Anexo 1) y Vainilla quien desapareció del grupo en mayo de 2015 y fue vista solitaria en distintas ocasiones en los meses agosto y septiembre 2015.

2.3. Datos comportamentales

Diseño del cronograma de toma de datos

Los datos comportamentales fueron colectados durante doce meses consecutivos desde el amanecer hasta el atardecer. Este trabajo intensivo se realizó desde el 29 de agosto de 2014 hasta el 29 de agosto de 2015 con la ayuda de asistentes de campo previamente entrenados. Para asegurar la confiabilidad inter-observador se utilizaron los métodos generales propuestos en Patterson (2001).

Se observó a cada grupo dos días consecutivos y luego se cambió a otro grupo de forma sistemática, con un orden preestablecido. Cada cuatro días se realizaron descansos de 3 días, dentro de los cuales no se tomaron datos comportamentales (Tabla 2.4). Del diseño de muestreo se completó un total de 222 días de datos comportamentales en total, obteniendo en promedio 55.5 ± 2.84 días de toma de datos para cada grupo. En aquellos casos que no se pudo salir al campo por mal clima (intensas lluvias) el día fue compensado utilizando uno de los días de descanso.

Tabla 2.4. Esquema de muestreo de datos de comportamiento: días de tomas de datos para cada grupo (este esquema se repitió un año de corrido).

Dom	Lun	Mar	Mie	Jue	Vie	Sab	Dom	Lun	Mar	Mier	Jue	Vier	Sab
X	X	X	Al	Al	CN	CN	X	X	X	HN	HN	Hu	Hu

X: día sin toma de datos de comportamiento, Al: Alicia, CN: Caravana Naranja, HN: hembra negra, Hu: Huerta

Metodología de toma de datos de comportamiento

Con el fin de explorar las diferencias sexuales y los cambios en el comportamiento a lo largo del período juvenil, así como su relación con la expresión de hormonas sexuales se registraron los comportamientos de hembras y machos juveniles de las dos categorías de edad (J1 y J2) a partir de la técnica animal foco (Altmann, 1974). La toma de datos focales fue en períodos de 30 minutos. A lo largo del día se cambió de individuo focal aleatoriamente, con la precaución de obtener en el día la misma cantidad de focales en todos los individuos. Además, se empleó la técnica de muestreo de barrido (Altmann, 1974) cada 10 minutos con el fin de estimar la disposición espacial de los individuos, estos datos nos fueron incorporados a esta tesis, serán incorporados en investigaciones posteriores.

Descripción de los comportamientos

La descripción de los comportamientos se realizó con los datos obtenidos de un muestreo piloto realizado durante los meses de mayo y junio del 2014 y de otros etogramas

realizados en *Alouatta caraya* (Albuquerque & Codenotti, 2006; Holzmann, 2011; Raño, 2016) y *Alouatta palliata* (Baldwin & Baldwin, 1978).

Comportamientos generales:

- *Descanso*: individuo inactivo, muchas veces con los ojos cerrados, dentro del cual se distinguen las siguientes posiciones; sentado, acostado lateralmente, acostado de espalda, acostado de panza.
- *Aseo* (También denominado auto-acicalamiento): comportamientos relacionados con la limpieza de alguna parte de su cuerpo utilizando las manos y la boca.
- *Movimiento*: Cualquier traslado de un sitio a otro ya sea por las ramas de los árboles o suelo, distinguiendo caminatas de corridas.
- *Alimentación*: Manipulación e ingesta de plantas, registrando especie e ítem alimenticio.
- *Beber agua*: la obtienen tomándola con la mano de distintos cuerpos de agua del suelo o cavidades en las plantas y luego se ingiere del goteo de los dedos.
- *Eliminación de desechos*: defecar y orinar.

Comunicación acústica:

- *Relincho*: voz que asemeja a un relincho suave de un caballo, se realiza con la boca cerrada y se da en contexto de alimentación.
- “*Muu*” y “*Uhu*” (“llanto”): *Muu* es una vocalización que se asemeja al mugido de una vaca. *Uhu* consiste en una vocalización de *Uuu* seguido de una exhalación donde también se pronuncia la *u*. Ambos tipos de vocalizaciones se perciben y se registran juntas en contextos de aislamiento, en general cuando el juvenil se encuentra perdido.
- “*Aarr*” y “*Ña*”: Emiten estas onomatopeyas en contexto de juego, mientras se muerden suavemente.
- “*Aaaa*” (“grito”): vocalización aguda e intensa, percibida en contextos de pelea.
- *Aullidos*: vocalización de larga distancia.

Comportamientos agresivos: despliegues realizados en contextos de tensión, los cuales son efectuados en dirección a la aparente amenaza, en algunos casos individuos de otros grupos y en otros casos a los observadores en caso de encontrarnos muy cerca de ellos:

- *Morder rama:* el individuo agarra una rama suelta por los extremos con las dos manos y la mordisquea por el centro mientras vocaliza (“ñaa ggrr”)
- *Agitar rama:* el individuo agita energicamente ramas de los árboles.
- *Cabeceo:* movimientos energéticos de la cabeza de derecha a izquierda y viceversa
- *Mostrar los dientes:* apertura parcial de la boca mirando al oponente, a veces presentando piloerección.
- *Pelea:* Interacción con otro individuo, en la cual se posicionan enfrentados con postura cuadrúpeda en el cual hay contacto físico, mordidas, tirones de pelo y cola, suele estar acompañado de vocalizaciones “AAAh”. Al final de esta interacción alguno o ambos participantes pueden resultar heridos.

Comportamientos sociales:

- *Interacción con infantes:* consiste en la exploración de los infantes o recién nacidos, incluye tocar las manos toman suavemente distintas partes del cuerpo de los infantes, puede estar combinado con acicalamiento
- *Cargar infante:* cargar infantes en la espalda o vientre durante los movimientos.
- *Acicalamiento:* interacción social en la cual un individuo toca y remueve suciedades del pelaje del otro individuo, puede utilizar la boca o las manos en esta actividad (GG: cuando el individuo focal realiza acicalamiento, GR: cuando el individuo focal es acicalado)
- *Intento de lactancia:* individuo intenta aproximar la boca a las mamas de hembras lactantes, la hembra aleja al juvenil cuando este se acerca a su mama (puede ser la madre o no).
- *Lactancia:* juvenil toma leche (su boca toma al pezón de una hembra lactante, que por lo general es su madre, pero puede haber excepciones)

Juego:

❖ *Juego individual (JI):*

- *Exploración:* toman ramas y hojas las manipulan, las sueltan, en ocasiones se

las llevan a la boca, las muerden, pero no se alimentan de ellas. (JI-Ex)

- *Exploración en movimiento*: el individuo se mueve sin un desplazamiento fijo hacia un lugar, manipulando ramas, hojas o frutos. (JI-ExM)
- *Correteo individual*: cuando un individuo se mueve, corre, salta, sin ninguna dirección en particular y lo hace en un mismo árbol o entre 1 o 2 árboles cercanos. (JI-corr)

❖ *Juego social (JS) (es un caso especial de comportamiento social)*

- *Solicitud de juego*: con la mano un individuo empieza a tocar y tomar la cola, brazos y cara suavemente de otro individuo. (SJ: Cuando el individuo focal solicita juego, Le-SJ: cuando otro individuo le solicita juego al individuo focal), puede desencadenar en juego o puede ser rechazado mediante vocalizaciones o siendo apartado con las manos.
- *Juego rudo*: Interacción en la cual los individuos están en contacto enfrentados, o colgando de la cola, se toman de distintas partes del cuerpo con las manos y presionan suavemente, se dan pequeños tirones de pelo, empujones y mordiscones suaves. Por momentos hay cortos abrazos, es decir los individuos se mantienen agarrados entre ellos sin tironear y mordisquear. Por lo general acompañado de vocalizaciones de juego (“Aarr”, “Aaaa” y “Ña”). Pueden participar dos o más individuos. (se distingue si es suave o si es brusco por la intensidad del juego). Normalmente denominado en inglés *rough and tumble*.
- *Correteo*: dos o más individuos corren por las ramas en círculos, esto está combinado con saltos. Los individuos no están en contacto.
- *Persecución*: Un individuo persigue a otro, se identifica claramente a uno corriendo delante y otro corriendo atrás, cuando lo alcanza suele combinarse con manotazos y mordiscones, el perseguido vocaliza en forma de “grito”.

Comportamiento sexual:

- *Inspección de genitales*: individuo focal toca con su mano o dedos la vulva de la hembra o testículos y pene del macho y luego puede llevar la mano a la boca. También puede acercar su boca y nariz a la vulva de la hembra, olfatear y lamer.
- *Cópula*: individuo focal monta a hembra y se produce una secuencia de movimientos de introducción de pene en vagina y empuje.
- *Intento de cópula*: Cuando el macho realiza todos los movimientos

relacionados con el comportamiento de cópula, sin embargo, no hay penetración por que el macho está mal posicionado.

2.4. Análisis de hormonas

En el análisis de cortisol y testosterona se utilizaron anticuerpos que detectan estas hormonas directamente, en el caso de la progesterona se utilizó un anticuerpo que detecta PdG (pregnenadiol-3-glucuronide), este es un metabolito común producto de la degradación de la progesterona que puede dar una estimación acertada sobre las concentraciones de la misma (Fujita, Mitsunaga, Sugiura, & Shimizu, 2001). En el caso de los estrógenos se utilizó un anticuerpo para detectar E1G (estrone-glucuronida), que es un metabolito producto de la degradación de estrógenos (O'Connor et al., 2004) el cual, al igual que en el caso de la progesterona, brinda una buena información sobre las concentraciones de estrógenos.

La colecta de orina en monos aulladores negros y dorados en este sitio de estudio no confirió ninguna dificultad debido a que los individuos se mueven en estrato bajos del bosque y son fáciles de reconocer.

Diseño del cronograma de toma de muestras de orina

Los días de toma de muestras de comportamiento se combinaron con la colecta las muestras de orina correspondientes al grupo. Simultáneamente dos asistentes tomaban las muestras de los grupos que en esa semana no serían seguidos para datos de comportamiento. Con este esquema se pudieron colectar 2 muestras por semana a cada individuo (Tabla 2.5).

Tabla 2.5 Esquema de colecta de muestras de orina: días de colecta para cada grupo (este esquema se repitió un año de corrido).

Dom	Lun	Mar	Mie	Jue	Vie	Sab	Dom	Lun	Mar	Mie	Jue	Vie	Sab
X	X	X	Al*	Al*	CN*	CN*	X	X	X	HN*	HN*	Hu*	Hu*
			HN#	HN#	Hu#	Hu#				Al#	CN#	Al#	CN#

x: día sin colecta de muestras, Al: Alicia, CN: Caravana Naranja, HN: hembra negra, Hu: Huerta. (*) Colecta de muestras de orina combinado con toma de datos de comportamiento. (#) Solo se colectan las muestras de orina.

Colecta de muestras de orina

La colecta de orina se realizó evitando la contaminación por heces. Se colectó la primera orina de la mañana para garantizar la mayor concentración de metabolitos (Muller & Lipson, 2003) y para minimizar la variación en los resultados dado por la hora de colecta. En algunos casos esto no fue posible debido a las dificultades del trabajo de campo por lo

cual se colectó la siguiente orina (dificultad para distinguir a los juveniles en la oscuridad, juveniles que orinan en lugares inaccesibles).

Se utilizó un dispositivo de colecta (*“Pee-catching”*) que fue puesto a prueba en el trabajo realizado por Raño (2016), este dispositivo permite la colecta mediante un método no invasivo (Figura 2.3.1). Además, en el muestreo piloto los meses de mayo y junio de 2014 se entrenó esta técnica para maximizar la eficiencia de los colectores. En el campo las muestras fueron reservadas en conservadoras con geles fríos (Figura 2.3.2 y 2.3.3), una vez en el laboratorio de la Estación Biológica Corrientes (EBCo) se registró el valor de SG (gravedad específica, -índice de concentración de la orina, es equivalente al valor de creatinina-) de cada muestra de orina colectada con un refractómetro de mano (Atago 4410 PAL-10S Digital Hand-Held) (Anestis, Breakey, Beuerlein, & Bribiescas, 2009; Raño, 2016; White et al., 2010) (Figura 2.3.4) Este valor sirvió para relativizar las concentraciones de hormonas obtenidas en cada muestra, por ello los valores de cada hormona se expresan en ng/ml/SG. Las muestras fueron almacenadas en tubos Eppendorf de 1.5ml en freezer a -20°C donde se mantuvieron preservadas hasta el análisis.

Figura 2.3. Colecta de muestras de orina.



(1) Colecta de orina con el dispositivo *“pee-catching”*, (2) almacenamiento de la orina en contenedores plásticos. (3) Preservación de las muestras en campo en conservadoras con geles fríos. (4) Medición de gravedad específica (SG) de la orina con refractómetro de mano

Análisis de perfiles hormonales mediante ensayos inmuno-enzimáticos (EIA)

Durante los meses junio, julio y agosto de 2016 se analizaron las muestras de orina en el Laboratorio de Ecología Reproductiva (YREL) de la Universidad de Yale (EE.UU). El

envío fue realizado en cajas especiales con hielo seco por un servicio especial de Aerolíneas Argentinas (con los permisos correspondientes). Mediante ensayos inmuno-enzimáticos (EIA) se analizaron las concentraciones de Cortisol, Testosterona, el metabolito de progesterona PdG (*pregnanediol-3 α -glucuronida*), metabolito de estrógeno E1G (*Estrona-3-Glucuronida*). En los cuatro casos los EIA fueron validados con ensayos de prueba con distintas concentraciones de orina para poder seleccionar la concentración óptima de lectura de cada hormona y de cada categoría de edad y sexo. Se realizó EIA en la orina de los 13 juveniles seleccionados para el análisis hormonal (ver Tabla 2.3) (Figura 2.4).

Cortisol (uGC): Por motivos de costos y tiempo no se pudo realizar análisis en la totalidad de las muestras (1100 muestras de orina en total) por lo que fueron seleccionadas 36 muestras de cada individuo, completando 3 muestras por mes, lo cual proporciona una buena representación de la expresión hormonal durante un año en todos los individuos. Previamente se realizó una validación y puesta a punto de los reactivos. Se utilizó la orina con una dilución en *buffer fosfato* (Agua destilada, NaH₂PO₄, Na₂HPO₄, NaCl, Albumina bovina) de 1:2560. Los valores obtenidos son en: *ng/ml/SG*. Para detectar los niveles de Cortisol se realizó un EIA utilizando anticuerpos y conjugados provistos por el Laboratorio de Endocrinología Clínica de la Universidad de California, Davis. Los coeficientes de variación intra e inter-ensayo para uGC promediaron respectivamente entre 5.1 y 15.7% para el control alto y 7.0 y 22.6% para el control bajo.

Testosterona: Se analizó la testosterona en la orina de los machos juveniles. Se utilizó la orina diluida en *assay buffer* en una proporción de 1:25. Los resultados son expresados en *ng/ml/SG*. Para detectar la testosterona se utilizó el Kit: *Testosterone-DetectX®-Arbor Assay®*. Los coeficientes de variación intra e inter-ensayo para testosterona promediaron respectivamente entre 12.64 y 17.4% para el control alto y 28.9 y 14.34% para el control bajo.

PdG (pregnanediol-3 α -glucuronida): Se analizó el PDG en la orina de las hembras juveniles. Se utilizó la orina diluida en *assay buffer* con las diluciones; 1:5, 1:10 y 1:25. Los resultados son expresados en *ng/ml/SG*. Para detectar PDG se utilizó el Kit: *PDG-DetectX®-Arbor Assay®*. Los coeficientes de variación intra e inter-ensayo para PdG promediaron respectivamente entre 15.06 y 17.94% para el control alto y 11.73 y 30.99% para el control bajo.

E1G (Estrona-3-Glucuronida): Se analizó el E1G en la orina de hembras juveniles. Se utilizó la orina diluida en *assay buffer* con la dilución: 1:400. Los resultados son expresados en *ng/ml/SG*. Para detectar E1G se utilizó el Kit: *E1G-DetectX®-Arbor Assay®*.

Los coeficientes de variación intra e inter-ensayo para E1G promediaron respectivamente entre 14.07 y 23.31% para el control alto y 18.67 y 28.75% para el control bajo.

Todos los valores fueron leídos con un espectrofotómetro marca *BioTek* y su software (Figura 2.4.5).

Figura 2.4. Ensayos inmuno-enzimáticos de las muestras de orina.



1. Muestras de orina organizadas cronológicamente, 2. Dilución de orina en buffer, 3. Incorporación de solución de *stop* en placa con micro-pipeta multicanal 4. Placa de EIA. 5. Espectrofotómetro.

Descripción de métodos no invasivos para estimar niveles de hormonas.

La metodología para el análisis de hormonas ha sido extensivamente utilizada exitosamente en estudios en primates tanto silvestres como en cautiverio. Estudios a lo largo de los años han demostrado la validez del uso de orina para análisis hormonales (Tabla 2.6) y han ampliado en gran forma los conocimientos sobre la endocrinología del comportamiento (Anestis, 2010; Fujita et al., 2001; Whitten, Brockman, & Stavisky, 1998).

El análisis hormonal en primates a través de las muestras de orina (y heces) confiere una ventaja muy importante: el poder hacer análisis de aspectos fisiológicos en animales silvestres de manera no invasiva, que no requieren la captura, ni tratamientos de los animales. Este tipo de metodología, además, es ideal en estos estudios ya que se pueden obtener una gran cantidad de muestras del mismo individuo un largo período de tiempo sin someterlo a condiciones estresantes (Lasley & Kirkpatrick, 1991).

Para este trabajo se eligió analizar orina debido a que metodológicamente requiere un paso menos que el análisis de heces ya que el EIA se realiza directamente con la orina diluida (en el caso de las heces debe hacerse una extracción previa). Además, el tiempo de

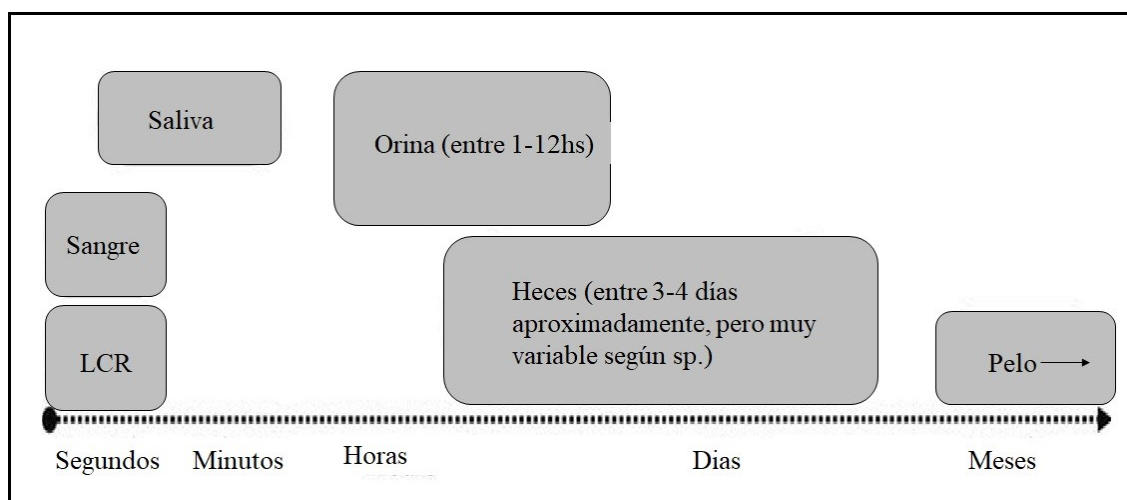
la liberación de la hormona y su aparición en la orina es de horas, cuando en el caso de las heces es de días (Fujita et al., 2001; Heistermann, Möhle, Vervaecke, van Elsacker, & Hodges, 1996; Whitten et al., 1998) (Figura 2.4) lo que permite una mayor exactitud en la comparación con los comportamientos.

Tabla 2.6. Estudios hormonales a partir de orina realizados en distintos primates.

Especie	Hormonas	Estudio	Autor
<i>Callicebus moloch</i>	E1C, PdG	Biología reproductiva de las hembras	(Valeggia et al., 1999) /c
<i>Callithrix kuhlii</i>	Estrógeno, testosterona y cortisol	Comportamiento paternal	(Nunes, Fite, Patera, & French, 2001) /s
<i>Cercopithecus aethiops</i>	PdG	Biología reproductiva de las hembras	(Andelman et al., 2009) /s
<i>Pan paniscus</i>	PdG, E1C, E	Ciclo ovárico	(Heistermann et al., 1996) /c
	Testosterona	Rangos de dominancia	(Sannen, van Elsacker, Heistermann, & Eens, 2004; van Elsacker, Sannen, Möhle, Eens, & Heistermann, 2003) /c (Marshall & Hohmann, 2005) /s
<i>Pan troglodytes</i>	Cortisol	Personalidad Dominancia y estrés	(Anestis & Bribiescas, 2004) /c (Muller & Wrangham, 2004b) /s
	Testosterona	Dominancia, agresión, comportamiento.	(Anestis, 2006) /c (Muller & Wrangham, 2004a) /c (van Elsacker et al., 2003) /c
<i>Macaca fascicularis</i>	Cortisol, Prolactina, Testosterona	Estrés, estatus, edad. Variación diaria	(van Schaik, van Noordwijk, van Bragt, & Blankenstein, 1991)/s
<i>Gorilla gorilla gorilla</i>	Cortisol	Cuidados maternos	(Bahr, Pryce, Döbeli, & Martin, 1998) /c
<i>Alouatta seniculus</i>	Progesterona	Ciclo ovárico	(Herrick, Agoramoorthy, Rudran, & Harder, 2000)/s
<i>Alouatta caraya</i>	PdG, E1C	Ciclo ovárico, estrategias reproductivas	(Raño, 2016; Raño, Valeggia, & Kowalewski, 2018) /s

c/s: cautiverio/silvestres.

Figura 2.5. Tiempo de expresión hormonal en distintos tipos de muestra (LCR=líquido cefalorraquídeo) (Adaptado de Anestis, 2010).



2.5. Análisis estadísticos

Se analizaron los datos aplicando modelos lineales mixtos generalizados (GLMM) (Bolker, 2015) para evaluar las diferencias de comportamientos y expresión hormonal según la categoría de edad y sexo, también se usaron estos modelos para analizar la relación entre la expresión hormonal y los comportamientos, todos los análisis fueron realizados con el software R versión 3.2.1 (R Core Team, 2016), mediante la plataforma *R studio*. Las descripciones de los análisis serán especificadas en los respectivos capítulos dedicados a los resultados.

CAPITULO III

El comportamiento de juveniles de *Alouatta caraya*

3.1. Introducción

El objetivo de este capítulo fue analizar la relación entre el tiempo invertido en distintos comportamientos sociales y el desarrollo de comportamientos característicos de adultos (tales como; interacción con crías, acicalamiento de pares, comportamientos agresivos, participación en aullidos, juego social y comportamientos sexuales) con el fin de poner a prueba la hipótesis 1 (H1) de esta investigación. Por otro lado, se estimó el tiempo invertido tanto por machos como por hembras juveniles en cada actividad general del repertorio comportamental de estos aulladores: descanso, movimiento, alimentación e interacciones sociales. Con esto se pretendió explorar si presentan patrones de comportamiento similares a los adultos y corroborar que siguen el patrón de comportamientos reportados para la especie en estado salvaje.

El patrón de comportamiento general del género *Alouatta* está caracterizado principalmente por el descanso, seguido de movimiento, alimentación y, en menor medida, comportamientos sociales (Tabla 3.1). En términos generales el tiempo dedicado a el descanso aumenta con la edad mientras que disminuyen los comportamientos más activos como movimientos y comportamientos sociales (Miranda, et al., 2005; Prates & Bicca-Marques, 2008).

Como se mencionó en el capítulo I (sección 1.3), algunas de las hipótesis sobre el período juvenil extendido en el orden primates hacen referencia a los patrones comportamentales, en particular la *hipótesis del tiempo de aprendizaje* sugiere que el período juvenil extendido permite a los individuos adquirir aptitudes asociadas a las estrategias comportamentales de la vida adulta (Joffe, 1997). Diversos estudios (Agostini & Visalberghi, 2005; Cheney, 1978; Cords et al., 2010; Lovejoy & Wallen, 1988; Maestripieri & Ross, 2004; Nikolei & Borries, 1997; Pereira, 1988; Rowell & Chism, 1986; van Noordwijk et al., 2003) en primates han sugerido que los individuos inmaduros exhiben comportamientos típicos de su sexo (ver Tabla 1.1, Capítulo I). Este hecho plantea interrogantes ya que estos repertorios comportamentales diferentes entre sexos no parecen proveer ventajas adaptativas aparentes durante el período juvenil, por lo cual se ha propuesto

que los comportamientos típicos de machos y hembras surgen tempranamente en el desarrollo como preparación a las demandas de la vida adulta (Rodrigues, 2007) (Tabla 3.2).

Tabla 3.1. Porcentaje (%) de tiempo dedicado a cada comportamiento general en el género *Alouatta* en distintos períodos (todos son estudios en grupos silvestres).

Especie	comportamiento general	AD	SAD	JUV	INF	Autor
<i>A. caraya</i>	Descanso	65-75	60-45	45-55	45	(Prates & Bicca-Marques, 2008)*
	Movimiento	15-20	25-30	30-25	20	
	Alimentación	15	15	15-20	30	
	Sociales	5	10-15	10	5	
	Descanso	57.2	51.8	56.3	56.6	(Kowalewski, 2007)
	Movimiento	18.8	24.2	23.6	23.4	
	Alimentación	17.1	13.7	13.2	11.1	
	Sociales	6.8	10.8	6.9	8.7	
<i>A. palliata</i>	Descanso	78	-	66.6	14.3	(Muñoz, et. at., 2001)*
	Movimiento	8.3	-	11.6	22.2	
	Alimentación	6.6	-	13.3	24.5	
	Sociales	3.3	-	8.3	39	

AD: adultos, SAD: subadultos, JUV: juvenil; INF: infantes. *Datos obtenidos a partir de los gráficos de los artículos, por lo cual los valores son aproximados, en los otros casos los datos fueron obtenidos directamente de tablas que los artículos proporcionan.

Tabla 3.2. Resumen de estrategias de la vida adulta, los comportamientos asociados y los comportamientos relacionados a estas estrategias efectuados durante el período juvenil.

Sexo	Estrategias implementadas por adultos	Comportamientos en adultos	Comportamientos esperados en juveniles
H	Cuidados parentales	Acicalar, amamantar, cargar cría.	- <i>Interacción con cría</i> (acicalar, explorar o cargara las crías)
	Cohesión de grupo, cooperación	Acicalamiento de pares, ser acicalado.	- <i>Acicalamiento de pares</i>
M	Defensa de la pareja, defensa de grupo	Comportamientos agresivos (peleas, demostración agresiva, persecuciones) Participación activa en encuentros ente-grupos	- <i>Comportamientos agresivos</i> - <i>Participación con vocalizaciones en encuentros entre grupos</i> - <i>juego social rudo (rough and tumble)</i>
H /M	Apareamiento	Monta, inspección de genitales, presentación, cópulas.	- <i>Comportamientos sexuales</i> Monta, inspección de genitales, intentos de copula/copulas

Con el fin de explorar si durante el período juvenil hembras y machos realizan comportamientos asociados a las estrategias implementadas en la adultez (Tabla 3.2) se analizó la frecuencia y tiempo invertido por los juveniles en los siguientes comportamientos sociales:

Interacción con crías:

En muchas especies de primates los cuidados parentales son desempeñados casi exclusivamente por las hembras (por ejemplo; *Alouatta palliata* (Clarke, 1990); *A. caraya* (Kowalewski, 2007; Pavé et al., 2015); *Sapajus apella* (Fragaszy, Baer, & Adams-Curtis, 1991); *Saimiri boliviensis* (Williams et al., 1994); *S. sciureus* (Fragaszy et al., 1991); *Cercopithecus aethiops* (Fairbanks, 1990; Struhsaker, 1971); *Erythrocebus patas* (Chism, 1986); *Colobus polykomos*, *C. guereza* (Horwich & Manski, 1975); *Papio cynocephalus ursinus* (Lycett, Henzi, & Barrett, 1998); *Pan paniscus* (Kano, 1980); *P. troglodytes* (Nishida, 1983)). Diferentes estudios en especies de primates en las cuales los cuidados parentales son exclusivos de las hembras han indicado que las interacciones con crías son comportamientos más frecuentes entre hembras juveniles que entre machos juveniles (por ejemplo; *Macaca mulatta* (Lovejoy & Wallen, 1988); *E. patas* (Rowell & Chism, 1986); *C. mitis stuhlmanni* (Cords et al., 2010); *C. aethiops* (Lancaster, 1971)). Esto sugiere que este comportamiento puede ser importante para el desarrollo de aptitudes relacionadas con los cuidados maternos (Lovejoy & Wallen, 1988; Wallen, 2005).

Acicalamiento de pares:

Además de los cuidados parentales, otro comportamiento afiliativo observado extensamente en el orden primates es el acicalamiento, al cual se le atribuye una función social asociado a mantener cohesión grupal, reducción de tensión (Dunbar, 1991; Schino, Scucchi, Maestriperi, & Turillazzi, 1988; Seyfarth, 1977) y secundariamente una función de higiene (limpieza y remoción de ectoparásitos) (Hutchins & Barash, 1976). Este comportamiento suele ser característico de las hembras en una gran variedad de primates (por ejemplo; *Alouatta seniculus*, (Neville, 1972); *A. guariba clamitans* (Chiarello, 1995); *Ateles geoffroyi* (Ahumada, 1992); *Sapajus nigritus* (Di Bitetti, 1997); *Macaca assamensis* (Cooper & Bernstein, 2000) *Papio anubis* (Frank & Silk, 2009)). En términos generales, se considera al acicalamiento como un comportamiento importante para mantener la cohesión del grupo, función que ocupan las hembras en varias especies de primates incluido el género *Alouatta* (Cords, 2002; Matheson & Bernstein, 2000; Mitchell & Tokunaga, 1976). Algunos

estudios en juveniles demuestran que este patrón es observable en el período juvenil siendo las hembras quienes más participan en este tipo de comportamiento (por ejemplo; *E. patas*, (Rowell & Chism, 1986); *C. mitis stuhlmanni* (Cords et al., 2010); *S. entellus* (Nikolei & Borries, 1997)).

Comportamientos agresivos:

En primates que viven en grupo la agresión es un componente esencial para determinar que individuo tienen acceso a los recursos (como el alimento, agua, sitios de descanso o pareja) (Honeiss & Marin, 2006; Kulik, Amici, Langos, & Widdig, 2015). Además, la agresión puede tener un efecto positivo generando cohesión dentro de un grupo social (Bercovitch, Sladky, Roy, & Goy, 1987; Fan, Xiao, Huo, & Jiang, 2009). En la adultez, estos comportamientos tienen diferente función según el sexo. Entre las hembras se asume que las agresiones entre ellas están más asociadas a una competencia por los recursos alimenticios (Silk, Samuels, & Rodman, 1981) dado que el costo energético de los cuidados maternos las lleva a una alimentación más exigente en general (Asensio, Korstjens, Schaffner, & Aureli, 2008; Heesen, Rogahn, Macdonald, Ostner, & Schülke, 2014). Sin embargo, es importante considerar que en muchas especies folivoro-frugívoras la competencia ligada a los recursos alimenticios no tiene un gran impacto (Heesen et al., 2014; Isbell, 1991; Wrangham, 1980). En muchos casos, los comportamientos agresivos son más frecuentes en los machos que en hembras (Alexander & Roth, 1971; Eaton, Modahl, & Johnson, 1981; Reinhardt, 1987), teniendo una función en la defensa o búsqueda de pareja (Campbell, 2006; Trivers, 1972), y la protección del grupo social durante los encuentros entre-grupo (Fernández et al., 2013; Kowalewski, 2007; Majolo, Ventura, & Koyama, 2005). En adultos de *A. caraya* se ha reconocido que los comportamientos agresivos son más frecuentes en machos que en hembras debido a que son ellos los encargados principalmente de la defensa del grupo en general (y de las hembras) además de la necesidad de evitar ser expulsados del grupo por machos invasores (Bravo & Sallenave, 2003; Di Fiore & Campbell, 2011). La aparición temprana en la ontogenia de los comportamientos agresivos puede servir como una práctica de estrategias agonistas que serán útiles en la vida adulta y proveer ventajas a largo plazo sobre la capacidad de obtener recursos limitantes (Watts & Pusey, 2002; Wolfheim, 1977; Young, Coelho, & Bramblett, 1982).

Aullidos:

Asociado a lo anterior, es importante destacar la participación en sesiones de aullidos. A las vocalizaciones de larga distancia se les ha atribuido distintas funcionalidades como la defensa del área de acción/ recursos alimenticios (Da Cunha & Byrne, 2006; Da Cunha & Jalles-Filho, 2007; Fan et al., 2009; Horwich & Gebhard, 1983), evasión del infanticidio (Kitchen, 2004) y la defensa de pareja (Holzmann, 2011; Kitchen, 2004; Sekulic, 1982). En el estudio realizado por Holzmann (2011) en *A. caraya* (N=34, 2 grupos) y *A. guariba* (N=45, 2 grupos) silvestres en Misiones Argentina, se encontró que los aullidos son realizados principalmente por los machos quienes participaron en el 100% de las sesiones de aullidos, mientras las hembras solo participaron el 23% (N total de aullidos=79), además no se encontraron asociaciones entre las frecuencias de aullidos con la disponibilidad de alimento ni con la presencia de crías lactantes. La autora sugiere que los aullidos son principalmente un despliegue agonista que funciona para la defensa de la pareja y descartan su función en la defensa del área de acción/alimento o la evasión del infanticidio. Opuestamente a estos resultados, los experimentos de *play-back* realizados por Da Cunha & Byrne (2006) en un grupo silvestre de *A. caraya* (N=11-14) concluyen que la función principal de los aullidos es la regulación de uso de espacio (del área de acción), lo cual consistió en mantener a otros grupos alejados de su área de acción, aunque los autores admiten que es posible que en parte los aullidos de los machos tengan función secundaria en la defensa de la pareja y aullidos de las hembras puedan cumplir una función en la protección de los infantes (Sekulic, 1983). Aunque las funciones de los aullidos en el género *Alouatta* esta discutida, parecerían estar liderados y realizados más frecuentemente por machos (Fernández et al., 2013; Kitchen, 2004; Kowalewski, 2007).

Juego social:

El juego social es un comportamiento típico del período juvenil en primates (por ejemplo; *Saimiri sciureus* (Baldwin, 1969); *Papio anubis*: (Owens, 1975); *P. hamadryas*: (Leresche, 1976); *Pan troglodytes* (Hayaki, 1985; Lonsdorf et al., 2014)). El juego es considerado una forma de entrenamiento de aptitudes motoras y sociales (Bekoff & Byers, 1998; Biben, 1998; Burghardt, 2005; Govindarajulu et al., 1993; Pellis, Pellis, & Bell, 2010) y por ello tiene un rol fundamental en el desarrollo. El juego rudo ("*rough and tumble*") en particular, ha sido observado ampliamente en muchos primates, y se ha propuesto que sirve como entrenamiento para adquirir aptitudes para peleas (Burghardt, 2005), en este caso este comportamiento estará más difundido en el sexo más vinculado con la defensa del grupo o

pareja (Kulik et al., 2015; Lonsdorf et al., 2014; Maestripieri & Ross, 2004; Paukner & Suomi, 2008).

Comportamientos sexuales:

Aunque hay pocas investigaciones durante el período juvenil, algunos estudios han observado la presencia de estos comportamientos en individuos inmaduros (*P. cynocephalus* (Gesquiere et al., 2005); *Macaca mulatta* (Lovejoy & Wallen, 1988); *Erythrocebus patas* (Rowell & Chism, 1986)). En *A. caraya* adultos tanto machos como hembras expresan comportamientos sexuales característicos (por ejemplo; en hembras: inspección de genitales, sacar la lengua, presentación; y en machos: inspección de genitales, monta) (Raño, 2016). En este trabajo se exploraron si estos comportamientos se exhiben tempranamente en el desarrollo de *A. caraya*.

Los objetivos de este capítulo consisten en describir los patrones de comportamiento de los juveniles de *Alouatta caraya* y observar las diferencias según el sexo en los distintos comportamientos. Además, intentaremos interpretar en qué etapa del período juvenil van surgiendo estos comportamientos.

Para ello se pone a prueba la siguiente hipótesis (H1) (capítulo I):

H1. El período juvenil extendido es una etapa en la cual los individuos adquieren aptitudes útiles para la vida adulta. Los adultos de ambos sexos expresan diferentes estrategias comportamentales, por lo tanto, los individuos de cada sexo comienzan a expresar comportamientos característicos de su sexo a medida que van creciendo.

- ❖ P1 Las hembras juveniles invertirán más tiempo que los machos juveniles en la interacción con las crías y esto aumentará con la edad.
- ❖ P2 Las hembras juveniles invertirán más tiempo que los machos juveniles en los acicalamientos de pares y esto aumentará con la edad.
- ❖ P3 Los machos juveniles invertirán más tiempo que las hembras juveniles en los comportamientos agresivos y esto aumentará con la edad.
- ❖ P4 Los machos juveniles invertirán más tiempo que las hembras juveniles en los aullidos y esto aumentará con la edad.
- ❖ P5. Los machos juveniles invertirán más tiempo que las hembras juveniles en los juegos sociales y esto aumentará con la edad

- ❖ P6. El tiempo invertido en comportamientos sexuales (monta, inspección de genitales) aumentará con la edad en ambos sexos

3. 2. Métodos

La colecta de los datos está detallada en la sección 2.3, del capítulo II. A continuación, se describen los análisis estadísticos específicos para responder a las preguntas de este capítulo.

Modelo estadístico:

Con el propósito de poner la prueba nuestra hipótesis se comparó en detalle distintos comportamientos sociales: interacción con crías, acicalamiento dado, comportamientos agresivos, aullidos, juego social y comportamientos sexuales en relación al sexo y edad. Se realizaron 6 GLMMs (aproximación de máxima verosimilitud) con la función *glmmadmb* del paquete “glmmADMB” (Fournier et al., 2012). La unidad de muestreo está dada por cada individuo por mes, y la variable dependiente (VD) en cada caso es una proporción: *tiempo (segundos) del comportamiento/tiempo (segundos) de observación total* (proporción de tiempo empleado por cada individuo en una determinada actividad por mes), los efectos fijos (variables explicativas) son el sexo (macho- hembra) y la edad (en meses) y se consideró a la identidad del individuo (ID) anidado en el grupo al que pertenece como efecto aleatorio (Tabla 3.3). Debido a que la variable respuesta consiste en una proporción se realizaron GLMMs con la familia “beta” (función de enlace: “*logit*”). Como la función de enlace “logit” no está definida para los valores de 0 y 1, debió emplearse una corrección de la VD ($VD' = (VD \times (n-1) + 0.5)/n$; donde n es el número de datos total) (Smithson & Verkuilen, 2006). El ajuste del modelo se evaluó utilizando un test de razón de máxima verosimilitud (LRT), para ello compramos modelos con variaciones en un efecto fijo, este análisis es válido teniendo en cuenta que en todas las comparaciones los efectos aleatorios son los mismos (individuo anidado en grupo) (Bolker et al., 2009). En los casos que la variable explicativa categórica (sexo) resultara significativa en el modelo se realizó un test a posterior del tipo *Bonferroni* (corrección de tipo *fdr*) (Verhoeven, Simonsen, & McIntyre, 2005) con la función *glht* del paquete de R *multcomp* (Hothorn, Bretz, & Westfall, 2008). La no-correlación entre efectos fijos y la homogeneidad de residuos también fue verificada gráficamente (qq-plot y grafico de efectos fijos versus residuos). Todos los análisis estadísticos fueron realizados con R a través de la plataforma R-studio, versión 3.2.1 (R Core Team, 2016). La significancia estadística fue fijada en 0.05 para todas las interpretaciones.

Análisis cualitativo:

Con el fin de investigar los resultados de una forma cualitativa (dado que el análisis de las subcategorías dentro de cada comportamiento en algunos casos arrojó un bajo número de datos) para comprender otros aspectos dentro de cada comportamiento se exploraron las frecuencias de comportamientos sociales y sus subcategorías en relación a cada categoría de sexo y edad (en este caso la edad como variable categórica J1 y J2); interacción con cría (exploración, cargar cría y comportamientos agresivos hacia la cría), agresivos (pelea, persecución), en este caso también se analizó gráficamente a quien estaban dirigidos estos comportamientos (edad y sexo del contrincante y si pertenece al grupo o no), juego social (rudo, correteo y mixto), comportamientos sexuales (cópula, inspección de genitales, intento de cópula.). Para realizar estas comparaciones se calcularon las tasas para cada categoría sexo x edad [(frecuencia de comportamiento / horas de observación total) * 100].

Tabla 3.3. Definición de variables de los modelos GLMM.

VARIABLE	DEFINICIÓN
Variable dependiente (VD`) (proporción)	
M1: Interacción con cría (IC)	min.=0.003; máx.=0.05; $\bar{X}$ = 0.006±0.007
M2: Acicalamiento (AC)	min.=0.003; máx.=0.11; $\bar{X}$ =0.01±0.02
M3: Agresivo (AG)	min.=0.003; máx.=0.004; $\bar{X}$ =0.01±0.002
M4: Aullidos (AULL)	min.=0.003; máx.=0.049; $\bar{X}$ =0.005±0.001
M5: Juego social (JS)	min.=0.003; máx.=0.187; $\bar{X}$ =0.04±0.05
M6: Sexuales (SEX)	min.=0.003; máx.=0.01; $\bar{X}$ =0.003±0.002
Variables independientes	
Efectos fijos	
Sexo	Factor: 2 niveles, hembra (H), macho (M)
Edad	min.=12; máx.=42; $\bar{X}$ =27.73 ±7.29
Efectos aleatorios	
Individuo (ID)	Factor: 13 niveles (13 individuos)
Grupo	Factor: 4 niveles (grupos: HN, Hu, Al, CN)

3.3. Resultados

Patrones de comportamiento de actividad diaria:

Se completaron 222 días de seguimiento en total con el fin de registrar las tendencias comportamentales en machos y hembras durante el período juvenil. Se colectaron un total 1800 horas de observación animal-foco sobre los 13 juveniles del estudio. En la Tabla 3.4 se observa el detalle de la cantidad de días y horas durante los cuales se colectaron de datos comportamentales por cada individuo.

Tabla 3.4. cantidad de horas comportamiento animal focal obtenidas para cada individuo.

Grupo	días	Individuo	Horas focal
Hu	55	Almendra	115
		Vainilla	85
		Caramelo	227.12
		Samba	86
HN	56	Calimba	188.61
		Quena	147.12
		Bongó	157.61
Al	59	Gramínea	97
		Pepa	79
		Feo	113.28
		Huevo	94.78
CN	52	Silvio	217
		Rodrigo	192.62

Para la descripción general de los comportamientos se consideraron las categorías descanso, movimiento, alimentación y comportamiento social. El análisis de los perfiles de comportamiento de los juveniles estudiados indica un patrón similar entre ellos (Figura 3.1). Invirtiendo mayor cantidad de tiempo de su actividad en el descanso (55.3 ± 2.9 %, $CV=5.25\%$), seguido por la alimentación (19.6 ± 2.56 %, $CV= 13.38\%$), el movimiento (17.6 ± 2.21 %, $CV=12.56\%$), y las interacciones sociales ($7.6 \pm 1.78\%$, $CV = 23.5\%$), siendo similares para todas las categorías de sexo y edad (J1-J2) (Figura 3.2).

Figura 3.1. Porcentaje de tiempo empleado en cada actividad por individuo.

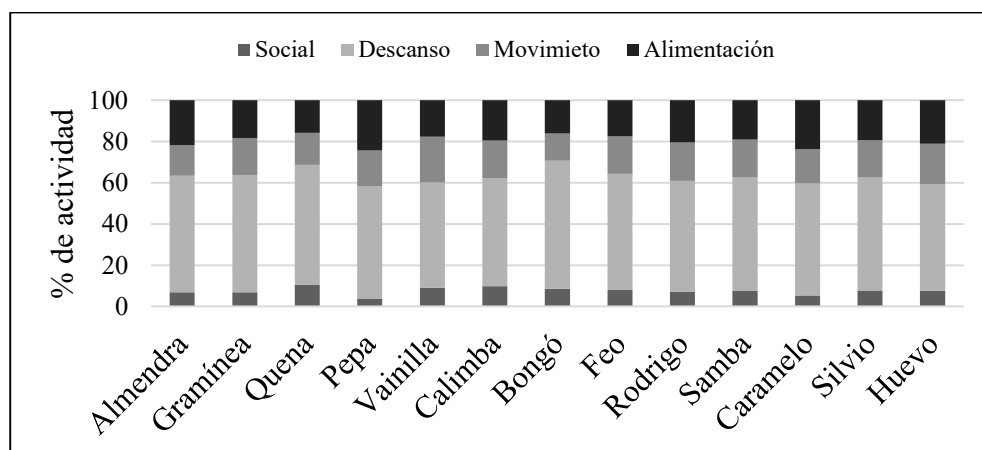
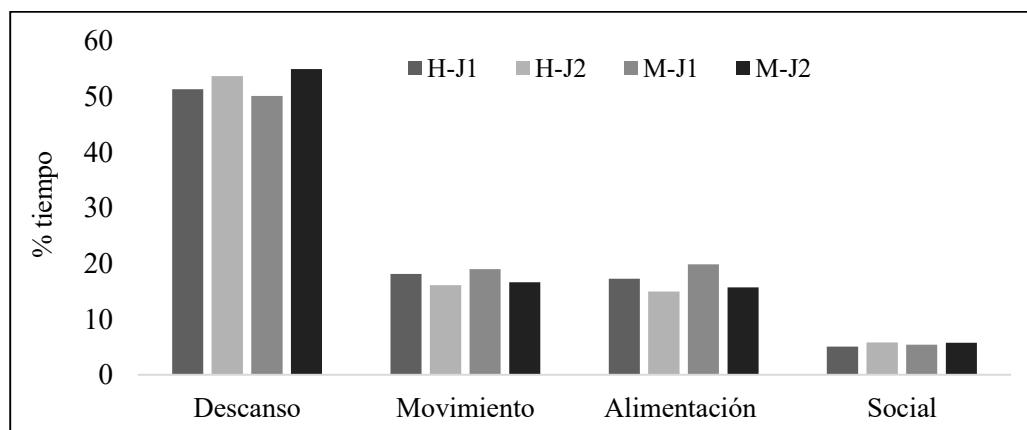


Figura 3.2. Porcentaje (%) de comportamientos generales para cada categoría de sexo y edad.



Diferencias en los distintos comportamientos sociales en relación al sexo y la edad:

En términos generales los comportamientos sociales consisten en el 7.6% del tiempo de observación. En otras palabras, de 1540 horas de observación total 116.73 horas corresponden a interacciones sociales (4.56 min/hora). El tiempo (minutos/hora observación) de cada individuo dedicado a cada comportamiento social se resume en la tabla 3.5.

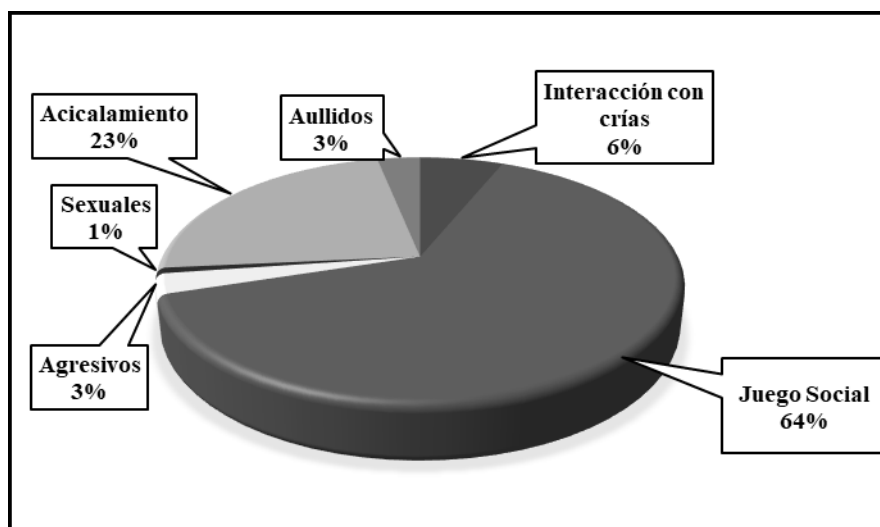
Tabla 3.5. Tiempo (minutos /hora de observación) dedicada a cada comportamiento social en cada individuo.

Individuo	IC	AC	AGR	AULL	JS	SEX	sexo /edad
ALMENDRA	0.967	0.205	0.069	0.015	1.996	0.003	H-J2
QUENA	0.088	2.497	0.175	0.000	1.184	0.000	H-J2
GRAMINEA	0.436	0.320	0.142	0.010	1.986	0.000	H-J2
PEPA	0.115	0.163	0.002	0.000	0.936	0.004	H-J1
VAINILLA	0.857	0.455	0.043	0.012	2.509	0.000	H-J1
CALIMBA	0.091	2.561	0.123	0.000	1.431	0.000	H-J1
BONGO	0.020	2.270	0.073	0.746	1.302	0.014	M-J2
FEO	0.160	0.351	0.081	0.486	2.590	0.064	M-J2
RODRIGO	0.070	0.136	0.099	0.006	3.103	0.000	M-J2
SAMBA	0.031	0.293	0.020	0.000	3.172	0.105	M-J2
CARAMELO	0.216	0.169	0.073	0.030	2.186	0.144	M-J1
SILVIO	0.068	0.198	0.089	0.000	3.217	0.002	M-J1
HUEVO	0.152	0.037	0.176	0.037	2.783	0.002	M-J1

IC: interacción con cría, AC: acicalamiento, AGR: comportamientos agresivos, AULL: participación en aullidos, JS: juego social, SEX: comportamientos sexuales.

Para comprender como se desarrollan las diferencias sexuales durante el período juvenil se analizaron diferentes comportamientos sociales en detalle. En general, el comportamiento social más frecuente fue el juego social (64%), seguido del acicalamiento (23%) y en menor medida los otros comportamientos (Figura 3.3).

Figura 3.3. Porcentaje de tiempo dedicado a cada comportamiento social por todos los juveniles de *A. caraya*.



En el análisis estadístico (GLMM) de cada comportamiento social, se hallaron resultados estadísticamente significativos en los comportamientos de interacción con crías (IC), acicalamiento de pares (AC), aullidos (AULL) y juego social (JS) para alguna de las variables explicativas (sexo o edad) (Tabla 3.6). En el caso de las interacciones con cría y acicalamiento de pares la variable *sexo* resultó relevante para el modelo, en el caso de los aullidos la interacción de ambas variables (*sexo x edad*) y en el caso del juego social también ambas variables (pero no en interacción, es decir: *sexo + edad*) (Tabla 3.7). En los comportamientos agresivos (AG) y sexuales (SEX) no se hallaron relaciones estadísticamente significativas entre el tiempo dedicado a cada comportamiento y las variables explicativas (*sexo y edad*).

Tabla 3.6. Selección de modelo mediante test de razón de máxima verosimilitud (LRT).

MODELO	MÁXIMA VEROSIMILITUD	DEVIANZA	GL	Pr. (Chisq)
Interacción con cría	Modelo seleccionado: IC~sexo			
Modelo completo				
IC ~sexo x edad	666.99			
Modelo reducido 1 (sin interacción)				
IC~sexo + edad	666.4	1.18	1	0.28
Modelo reducido 2 (sin edad)				
IC~sexo	666.29	0.23	1	0.63
Modelo reducido 3 (sin sexo)				
IC~1	662.29	7.84	1	0.01**
Acicalamiento	Modelo seleccionado: AC~ sexo			
Modelo completo				
AC ~sexo x edad	575.42			
Modelo reducido 1 (sin interacción)				
AC~sexo+edad	574.95	0.94	1	0.33
Modelo reducido 2 (sin edad)				
AC~sexo	573.83	2.25	1	0.13
Modelo reducido 3 (sin sexo)				
AC~ 1	571.89	3.87	1	0.05*
Comportamientos agresivos	Modelo seleccionado: AG~ 1 (nulo)			
Modelo completo				
AG ~sexo x edad	754.75			
Modelo reducido 1 (sin interacción)				
AG~sexo+edad	754.26	0.98	1	0.32
Modelo reducido 2 (sin edad)				
AG~edad	754.21	0.11	1	0.74
Modelo reducido 3 (sin sexo)				
AG~ 1	754.2	0.004	1	0.95·
Aullidos	Modelo seleccionado: AULL~sexo x edad			
Modelo completo				
AULL ~sexo x edad	737.47			
Modelo reducido 1 (sin interacción)				
AULL~sexo+edad	737.47	10.27	1	0.01**
Juego Social	Modelo seleccionado: JS~sexo + edad			
Modelo completo				
JS~sexo x edad	367.23			
Modelo reducido 1 (sin interacción)				
JS~sexo+edad	366.78	0.906	1	0.34
Modelo reducido 2 (sin edad)				
JS~sexo	361.11	11.33	1	0.001***
Modelo reducido 3 (sin sexo)				
JS~edad	364.77	4.01	1	0.05*
Comportamientos sexuales	Modelo seleccionado: SEX~1 (modelo nulo)			
Modelo completo				
SEX~sexo x edad	789.92			
Modelo reducido 1 (sin interacción)				
SEX~sexo+edad	789.92	0.002	1	0.96
Modelo reducido 2 (sin edad)				
SEX~sexo	789.91	0.002	1	0.96
Modelo reducido 3 (sin sexo)				
SEX~1	789.4	0.034	1	0.31

Tabla 3.7. Resumen de los modelos GLMM seleccionados para cada comportamiento social.

	$\beta \pm SE$	VALOR Z	P
Interacción con cría: modelo seleccionado contiene VE: sexo			
Intercepto	-4.77 $\pm$ 0.13	-37.46	0.00
Sexo (M)	-0.48 $\pm$ 0.13	-3.53	0.001***
Varianza de los efectos aleatorios 0.02 $\pm$ 0.15			
Acicalamiento : modelo seleccionado contiene VE: sexo			
Intercepto	-4.41 $\pm$ 0.16	-27.65	0.00
Sexo (M)	-2.26 $\pm$ 0.13	1.97	0.05*
Varianza de los efectos aleatorios 0.2.29e-6 $\pm$ 0.01			
Agresivo : modelo seleccionado es el nulo			
Aullidos modelo seleccionado contiene VE: edad $\times$ sexo			
Intercepto	-5.48 $\pm$ 0.29	-18.52	0.00
Sexo (M)	-1.11 $\pm$ 0.43	-2.62	0.01**
Edad (meses)	0.001 $\pm$ 0.01	0.08	0.94
Sexo(M) $\times$ edad	0.05 $\pm$ 0.01	3.29	0.01**
Varianza de los efectos aleatorios 5.84e-5 $\pm$ 0.0003			
Juego Social modelo seleccionado contiene VE: edad + sexo			
Intercepto	-2.55 $\pm$ 0.25	-9.96	0.00
Sexo (M)	0.33 $\pm$ 0.13	2.49	0.05*
Edad (meses)	-0.28 $\pm$ 0.01	-3.41	0.001***
Varianza de los efectos aleatorios 3.47e-7 $\pm$ 0.0006			
Sexual modelo seleccionado es el nulo			

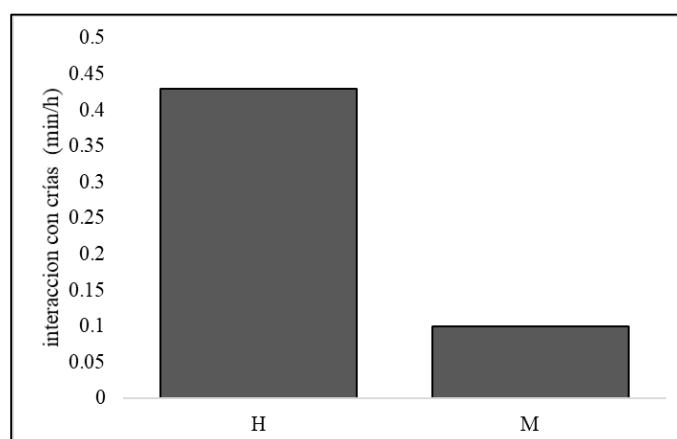
En todos los casos el intercepto está dado por los valores de las hembras cuando la edad es igual a cero. VE: variable explicativa.

A continuación, se expresan en detalle los resultados obtenidos para cada tipo de comportamiento social (interacción con crías, acicalamiento de pares, comportamientos agresivos, aullidos, juego social y comportamientos sexuales):

Interacción con las crías:

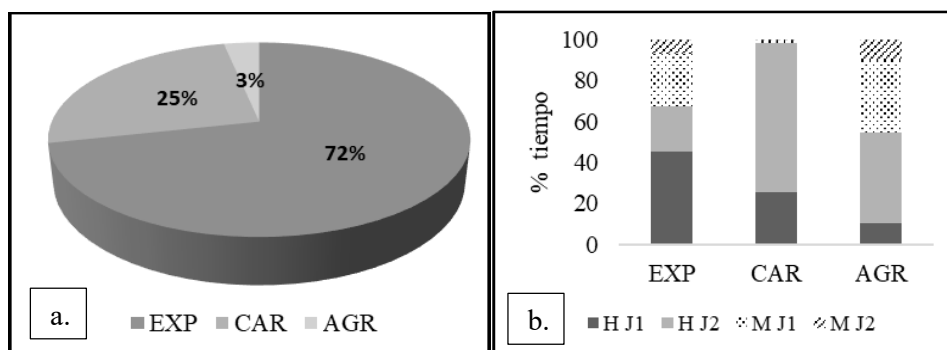
En el análisis estadístico (GLMM) no se encontró un efecto estadísticamente significativo dado por la edad. Sin embargo, se hallaron diferencias entre sexos (Tabla 3.6); las hembras (0.43 $\pm$ 0.4 min/h) participaron más en interacciones con crías que los machos (0.1 min/h) (Figura 3.4) (Test de comparación múltiple tipo “Bonferroni” método de ajuste fdr: M<H, estimado= -0.48 $\pm$ 0.13, p<0.001). Expresado en tamaño del efecto; las hembras realizaron este comportamiento 0.33min/h más que los machos (en otras palabras, por día, las hembras realizan este comportamiento 7.92 min más que los machos).

Figura 3.4. Tiempo (min /horas de observación) dedicado al comportamiento de interacción con cría para cada sexo.



En el análisis cualitativo de las interacciones con crías se encontró que el 72% fueron casos de exploración y acicalamiento de la cría, el 25% estuvo dado por cargar a la cría en los desplazamientos y el 3% dado por agresiones hacia la cría, ya sea demostraciones agresivas, peleas o persecuciones (en ningún caso se registraron daños físicos) (Figura 3.5a). En el análisis de estos tres tipos de interacción con cría en relación a las categorías discretas sexo (M–H) y edad (J1–J2), hubo diferencias en el comportamiento de cargar crías siendo predominante en hembras J2 (73.14%). Además, mientras que la exploración de la cría fue mayor en hembras J1 (45.13%), los comportamientos agresivos fueron pocos en general (3%) siendo mayor en machos J1 y hembras J1 (34.74 y 44.23% respectivamente) (Figura 3.5b).

Figura 3.5. Porcentaje de tiempo dedicado a: (a) cada tipo de interacción con crías en general y (b) según cada categoría de sexo y edad.

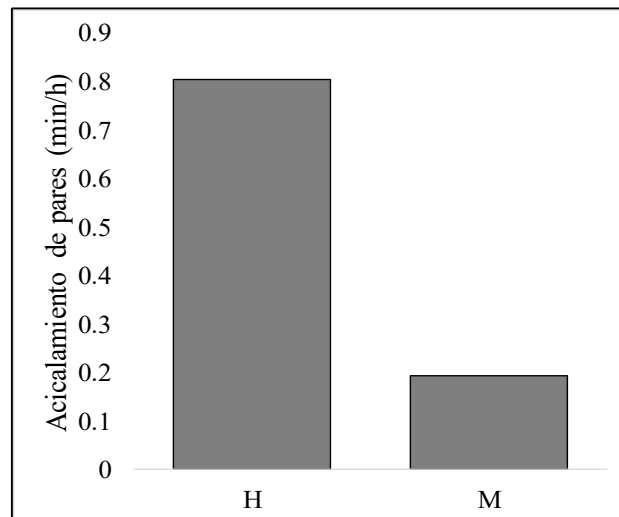


INT: exploración de cría, CAR: carga cría, AGR: comportamiento agresivo hacia la cría.

Acicalamiento:

En el análisis estadístico (GLMM) de los acicalamientos dados no se encontró una relación con la edad, pero si se hallaron diferencias estadísticamente significativas en relación al sexo (Tabla 3.6). Las hembras (0.8 ± 0.9 min/h) pasaron más tiempo acicalando a otros individuos que los machos (0.2 ± 0.8 min/h) (Test de comparación múltiple tipo “Bonferroni” método de ajuste fdr: $M < H$, estimado = -0.26 ± 0.13 , $p < 0.05$) (Figura 3.6). Expresado en tamaño del efecto; las hembras realizaron este comportamiento 0.6 min/h más que los machos (en otras palabras, por día, las hembras realizaron este comportamiento 14.4 min más que los machos).

Figura 3.6. Tiempo (min /horas de observación) dedicado al acicalamiento para cada sexo.

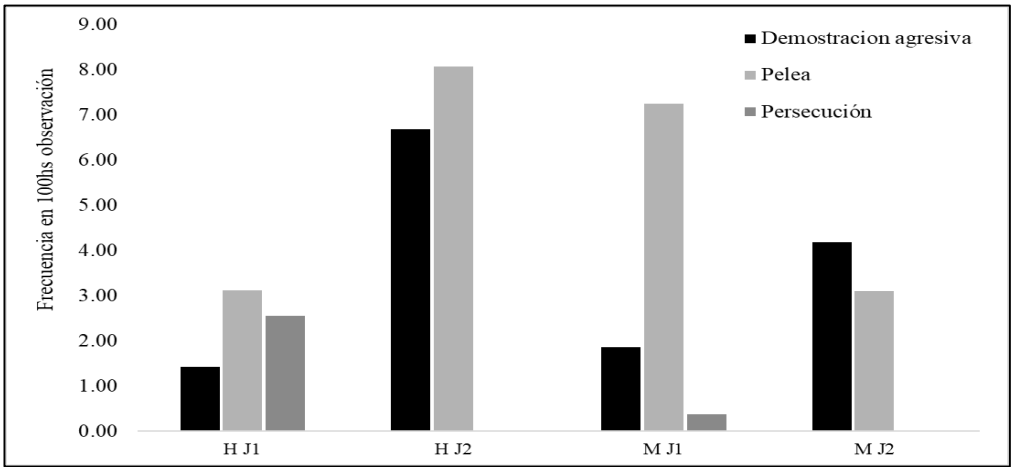


Comportamientos agresivos:

En este caso, no se encontró una relación significativa entre los comportamientos agresivos y el sexo o edad de los individuos (Tabla 3.6).

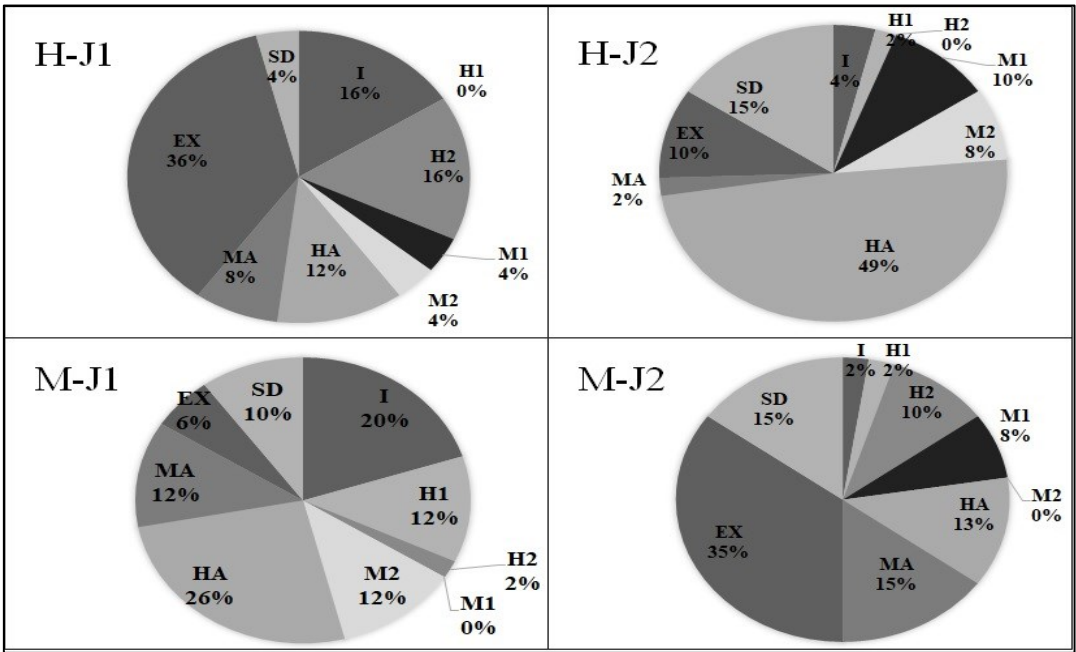
En el análisis cualitativo, al considerar los tres tipos de interacciones agresivas (demostración agresiva, pelea, persecución) se observó una diferencia en relación a las categorías discretas de edad y el sexo. Mientras que la pelea fue el comportamiento más común en hembras J1 y J2 y machos J1, en machos J2, la demostración agresiva fue más importante que la pelea (Figura 3.7).

Figura 3.7. Tasas de los distintos tipos de comportamiento agresivo según sexo (M, H) y edad (J1, J2).



Además, en el análisis de la dirección de las interacciones agresivas se observaron patrones distintos según el sexo y la edad (Figura 3.8). En hembras J1 la mayor cantidad de comportamientos agresivos fue hacia individuos de otros grupos (36%), en hembras J2 hacia hembras adultas del mismo grupo (49%), en machos J1 a hembras adultas e infantes (26 y 20% respetivamente) y en machos J2 a individuos de otros grupos (35%).

Figura 3.8. Dirección de las interacciones agresivas para cada categoría de edad y sexo de los juveniles. Porcentajes de eventos de interacción agresiva de los juveniles con cada categoría sexo/edad del otro individuo.



I: infante, H1: hembra J1, H2: hembra J2, HA: hembra adulta, M1: macho J1, M2: macho J2, MA: macho adulto, EX: individuo de otro grupo, SD: sin dato.

Aullidos:

En el análisis GLMM la interacción entre ambas variables (sexo x edad) resultó estadísticamente significativa (Tabla 3.6). Si bien cuando son más pequeños el tiempo dedicado a los aullidos fue similar en machos y hembras, a medida que crecieron los machos aumentaron el tiempo dedicado a este comportamiento mientras que las hembras mantuvieron los bajos valores durante todo el período juvenil (Figura 3.9). En términos generales el tiempo dedicado a los aullidos fue mayor en machos (0.18 ± 0.3 min/h) que en hembras (0.006 ± 0.006 min/h). En el análisis cualitativo, teniendo en cuenta las frecuencias de todos los aullidos ($N_{\text{tot}}=103$) registrados en juveniles, el 93 % ($N=97$) estuvo dado por machos J2.

Figura 3.9. Proporción de tiempo dedicada a los aullidos (tiempo en seg aullando/tiempo total de observación en seg) a lo largo del período juvenil en machos y hembras de *A. caraya*.

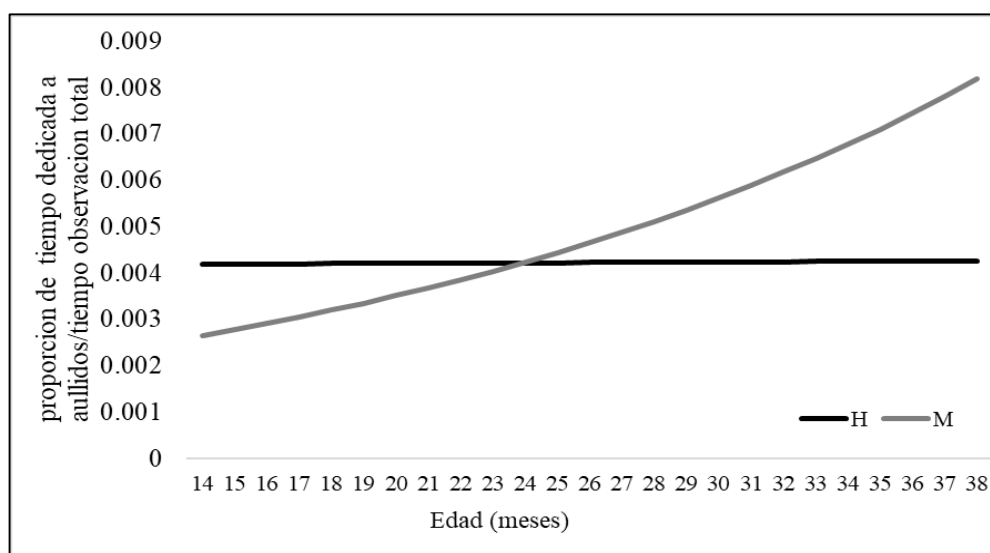


Gráfico resultante del modelo GLMM seleccionado con los estimados de la Tabla 3.7 para el comportamiento aullidos.

Juego social:

Para este comportamiento, en los análisis GLMM ambas variables explicativas resultaron significativas (Tabla 3.6). Por un lado, el tiempo dedicado al juego social fue mayor en machos (2.62 min/h) que en hembras (1.67 min/h) (análisis *a posteriori*, ajuste *bonferrini*, corrección de tipo “fdr”: estimado= 0.33 ± 0.13 , $p < 0.05$). Además, el tiempo dedicado al juego disminuyó con la edad (Figura 3.10). Esto indica que los machos dedicaron 22 minutos más por día a esta actividad que las hembras (magnitud de efecto de 0.91 min/hs).

En la Figura 3.11 se pueden observar las variaciones observadas mes a mes en el porcentaje de tiempo dedicado al juego social en hembras y machos.

Figura 3.10. Proporción de tiempo dedicada a juego social (tiempo en seg en juego social/tiempo total de observación en seg) a lo largo del período juvenil en machos y hembras de *A. caraya*.

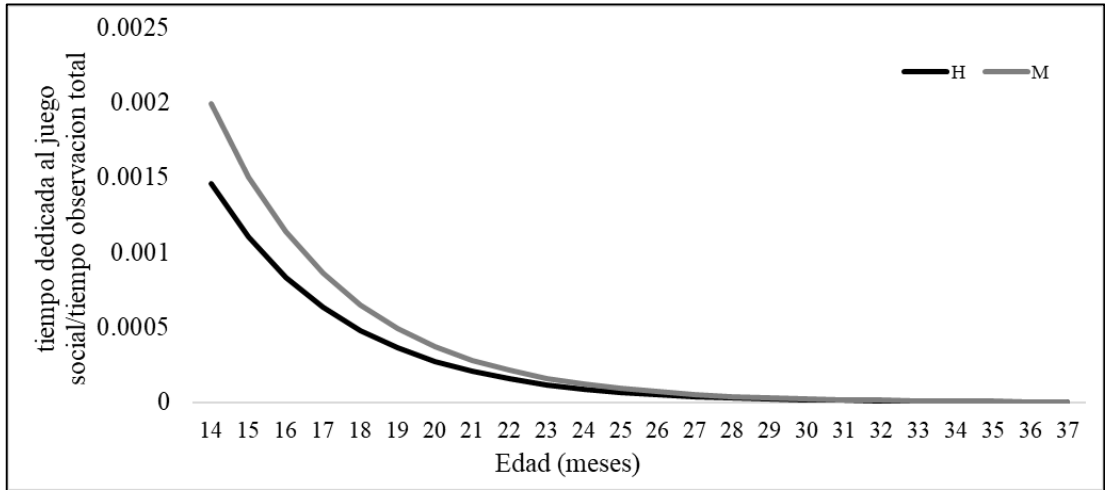
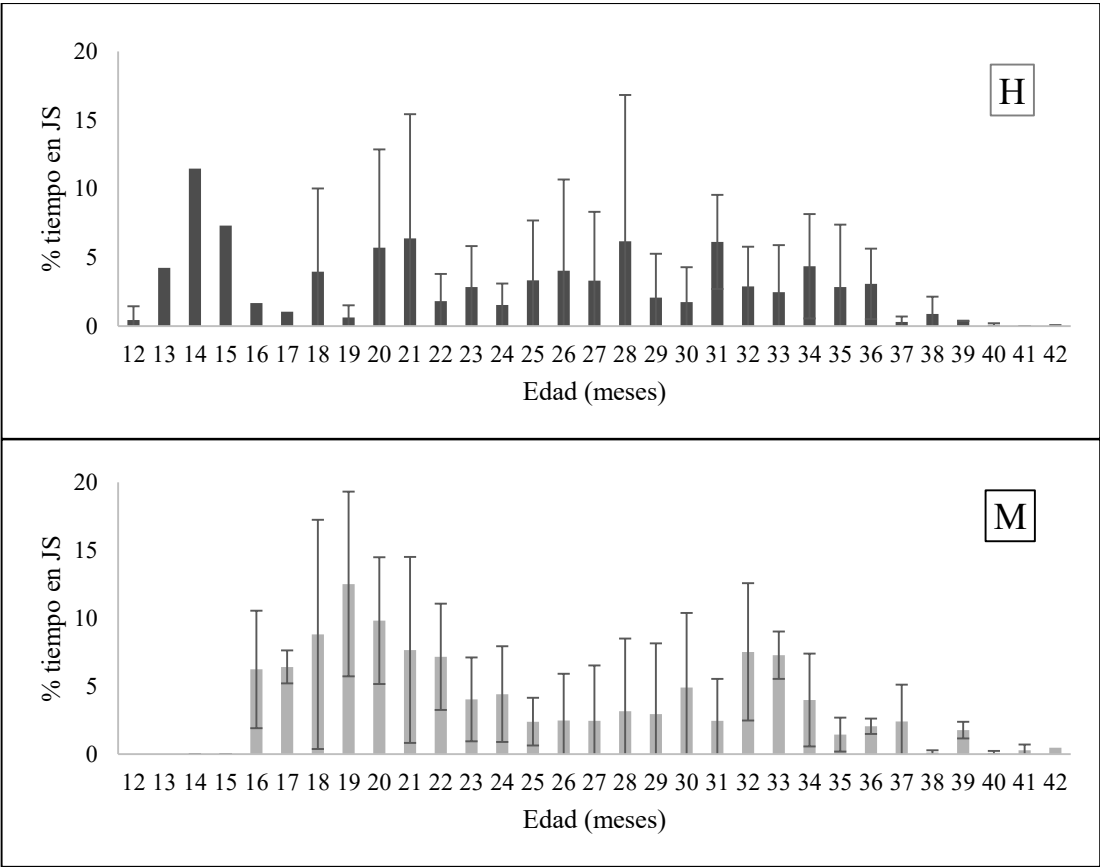


Gráfico resultante del modelo GLMM seleccionado con los estimados de la Tabla 3.7 para el comportamiento juego social.

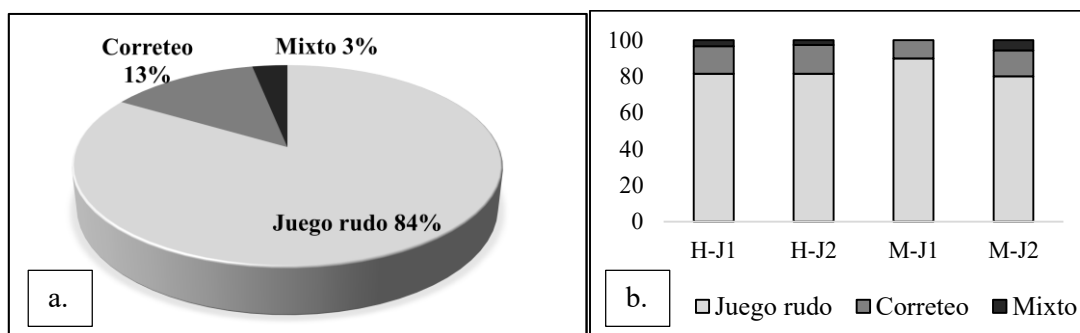
Figura 3.11. Porcentaje (%) de tiempo dedicado al juego social en (H) hembras y (M) machos.



Las barras corresponden a los promedios de la proporción de JS para cada edad (meses). Barras de error con desvío estándar.

En el análisis cualitativo se observó que de los juegos sociales predominó el rudo (83%, N=2306), seguido de correteos (corr) (13%, N=369) y en menor medida juegos que consisten en una combinación de ambos (mix) (3%, N= 87), dichos tipos de juego se distribuyen de forma similar en las categorías de sexo y edad (Figura 3.12).

Figura 3.12. Porcentaje de tiempo dedicado a (a) cada tipo de juego social en general, (b) para cada categoría de sexo y edad.

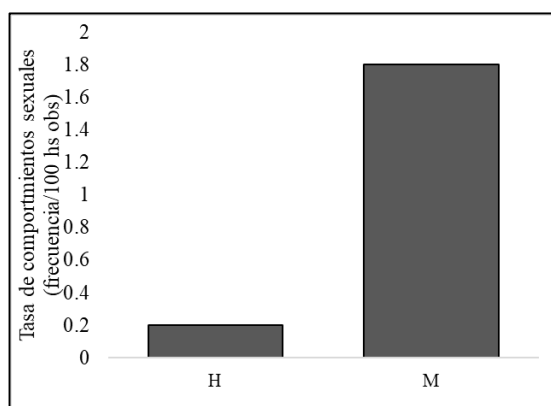


Comportamiento sexual:

En el análisis GLMM ninguna variable explicativa (sexo, edad) resultó significativa (Tabla 3.5).

En el análisis cualitativo, se puede ver que la frecuencia de comportamientos sexuales fue mayor en machos que en hembras (Figura 3.13). La falta de diferencias en el análisis estadístico puede deberse a que la frecuencia de este comportamiento fue muy baja (38 eventos en 1800 horas de observación) y la proporción de tiempo dedicado a ellos también por lo cual los análisis estadísticos empleados no tuvieron el poder de encontrar diferencias estadísticamente significativas.

Figura 3.13. Tasa de comportamientos sexuales en hembras (H) y machos (M).



Estos comportamientos se dieron principalmente en machos J2 (50%, N =19) y J1 (39.47%, N=15) y en mucha menor medida en hembras J2 (7.89%, N=3) y J1 (2.63%, N=1). De estos comportamientos sexuales la mayoría corresponde a inspección de genitales (65.79%, N=25), en menor medida intento de copula (21.05%, N=8), y hubo 4 casos de cópulas (10.53%, N=4) que se dieron en un solo individuo (Caramelo: macho J1).

3.4. Discusión

Los comportamientos generales (descanso, alimentación, movimiento y sociales) exhibieron patrones similares a los encontrados en otros estudios en la especie. En el análisis de los comportamientos sociales se encontró diferentes tendencias según el comportamiento estudiado, algunas apoyando nuestras predicciones (interacción con cría (P1), acicalamiento de pares (P2), participación en aullidos(P4), juego social (P5)) y otras no (comportamientos agresivos (P3), comportamientos sexuales (P6)).

Patrones de actividad generales

La proporción de tiempo dedicada a cada actividad general (descanso, movimiento, alimentación, socia) resultó similar a otros estudios realizados con esta especie (Tabla 3.8).

Tabla 3.8. Porcentaje de tiempo dedicado a el descanso, movimiento, alimentación y comportamientos sociales en distintos estudios en *Alouatta caraya*.

Estudio	Descanso	Movimiento	alimentación	Sociales	Sexo y edades	Sitio
(Bicca-Marques & Calegari-Marques, 1994)	80-55	30-15	20-10	5-12	todos*	Brasil
(Bravo & Sallenave, 2003)	57	16	19	8	todos	Chaco, Argentina
(Kowalewski, 2007)	58.65	18.97	15.53	6.87	todos	Chaco, Argentina
(Prates & Bicca-Marques, 2008)	56	23	15	4	todos	Brasil
(Raño, 2016)	58.3	17.5	16.83	5.67	hembras adultas	EBCo
Este estudio	55.28	19.56	17.58	7.58	Juveniles ambos sexos	EBCo

*Todos incluye todas las categorías de sexo (machos y hembras) y edad (adultos, subadultos, juveniles, infantes)

Comportamientos sociales

En el análisis de los distintos comportamientos sociales se pueden observar ciertas diferencias según sexo y edad. En términos generales, de forma similar a lo que ocurre en otros estudios (Tabla 3.9) nuestros resultados soportan la hipótesis 1 (H1: “El período juvenil

extendido es una etapa en la cual los individuos adquieren aptitudes útiles para la vida adulta. Los adultos de ambos sexos expresan diferentes estrategias comportamentales, por lo tanto, los individuos de cada sexo comienzan a expresar comportamientos característicos de su sexo a medida que van creciendo”). Por lo cual, este estudio consiste en una evidencia más que reconoce al período juvenil como una instancia de aprendizaje para la vida adulta.

Tabla 3.9. Diferencias sexuales y en la edad en el comportamiento en distintos estudios en primates juveniles.

Especie	<i>M. mulatta</i> (c) (Lovejoy & Wallen, 1988)	<i>C. mitis</i> (s) (Cords et al., 2010)	<i>S. entellus</i> (s) (Nikolei & Borries, 1997)	<i>E. patas</i> (c) (Rowell & Chism, 1986)	<i>A. caraya</i> (s) Este estudio
N	6M /5H	13M /11H	4M / 4H	11M / 9H	7M / 6H
Interacción con cría	M:4.1± 0.9	M < H		M:0.02	M:0.1 ± 0.07
	H:12.5± 0.8 (n/h)	H: aumenta con edad	-	H: 0.23 (min/h)	H:0.42 ± 0.04 (min/h)
Acicalamiento de pares	M:2.6± 0.7		M:2.5%	M:0.5	M:0.19 ± 0.17
	H:2.6± 0.8 (n/h)	M < H	H:10.9%	H:4.0 (min/h)	H:0.8 ± 0.9 (min/h)
Comp. agresivos	M:0.3± 0.6	M:0.34± 0.65	M:0.17	M: disminuye con la edad	M:0.09 ± 0.04
	H:0.2± 0.1 (n/h)	H:0.3± 0.06 (n/h)	H:0.24 (n/h)	H: aumenta con la edad	H:0.09 ± 0.06 (min/h)
Vocalizaciones de larga distancia	-	-	-	-	M:0.18 ± 0.3, aumenta con edad H: 0.006±0.006 (min/h)
Juego social	M:12.3			M:10.0	M:2.62 ± 0.68
	H:3.9 (n/h)	-	-	H:5.0 (min/h) M/H: disminuye con la edad	H:1.67 ± 0.59 (min/h) M/H : disminuye con edad
Comp. sexuales	M:2.1				M:0.05 ± 0.06
	H:1.8 (n/h)	-	-	M > H	H:0.001 ± 0.002 min/h*

M: machos, H: hembras, (c): cautiverio y (s): silvestres;; en negrita los casos con efecto estadísticamente significativo en los comportamientos dado por la edad o el sexo. * en este estudio las diferencias en comportamientos sexuales no son estadísticamente significativos en análisis GLMM pero sí en análisis cualitativo (ver texto).

Interacción con crías:

Los resultados de este estudio apoyan parcialmente la predicción (P1). Si bien es un comportamiento más difundido entre las hembras (0.42 ± 0.1 min/h) que entre los machos (0.1 ± 0.07 min/h), no se observa un efecto marcado de la edad. Estos resultados son similares a estudios realizados en otras especies como el mono patas (*E. patas*) donde las hembras inmaduras participan más en estos comportamientos que los machos (Rowell & Chism, 1986), en mono azul (*C. mitis stuhlmanni*) donde las hembras juveniles se aproximan a los infantes más que los machos juveniles (Cords et al., 2010) y macaco rhesus (*M. mulata*) juveniles donde la frecuencia de aproximación a las crías es mayor en hembras que en machos (Lovejoy & Wallen, 1988) (Tabla 3.9). Junto con estas investigaciones, los resultados de nuestro estudio consisten en una evidencia más para apoyar la hipótesis que sostiene que la interacción con crías y cuidados alo-parentales dado por hembras juveniles podría constituir un entrenamiento para el futuro (Lancaster, 1971), considerando que en el género *Alouatta* el comportamiento de cuidados parentales es desempeñado casi exclusivamente por las hembras (Calegaro-Marques & Bicca-Marques, 1993; Di Fiore & Campbell, 2011).

A diferencia de los estudios en mono azul (*C. mitis stuhlmanni*) (Cords et al., 2010) donde las interacciones con cría aumentan con la edad, en este estudio no se encontró una relación entre el tiempo dedicado a la interacción con infantes y la edad, lo que sugiere que en *A. caraya* este proceso de aprendizaje comienza tempranamente. Sin embargo, la forma en que las hembras juveniles interactúan con los infantes varía con la edad. Cuando son más pequeñas (J1) las interacciones con las crías consisten principalmente en acicalarlas y explorarlas. Cuando crecen (J2) el comportamiento de cargar a las crías se hace más frecuente. Este comportamiento adquiere relevancia ya que además de ser una actividad útil para adquirir aptitudes para la vida adulta (Calegaro-Marques & Bicca-Marques, 1993; Förster & Cords, 2005), consiste en ser un cuidado alo-parental lo cual confiere una ventaja también para las madres (Ross & MacLarnon, 2000).

Los cuidados alo-parental ocurren cuando un individuo distinto de la madre pasa tiempo cargando y cuidando de los infantes (Ross & MacLarnon, 2000). En *A. caraya*, las hembras subadultas son aquellas en las que predomina este tipo de comportamiento (Calegaro-Marques & Bicca-Marques, 1993). En el estudio realizado por Calegaro-Marques & Bicca Marques (1993) en *Alouatta caraya* silvestres observaron que el 67.4% de los cuidados consistían en cargar a las crías durante desplazamientos (ya sean cortos o largos), 29.2% en descansar junto a las crías y el 3.4% ayudar a las crías en momentos de peligro

(principalmente cruzar de un árbol a otro en lugares abiertos). En general los machos adultos de *A. caraya* no participan activamente en el cuidado de crías, esto es consistente con los resultados de este estudio en el cual para machos juveniles la interacción con crías es baja (significativamente menor que en las hembras).

Acicalamiento:

En el análisis de los acicalamientos dados vemos que nuestra predicción (P2) se cumple parcialmente; aunque hay diferencias con el sexo del individuo, siendo las hembras las que más realizan acicalamientos (hembras: 0.8 ± 0.9 vs. machos: 0.19 ± 0.17), no hay una variación apreciable en este comportamiento con la edad. De forma similar con el caso de la interacción con cría, este comportamiento afiliativo parece surgir tempranamente en el desarrollo. Los estudios en langur común (*Semnopithecus entellus*) atribuye la mayor cantidad de acicalamientos dados por las hembras juveniles (Tabla 3.9) a la ventaja dada por adquirir una posición social en la jerarquía del grupo (Nikolei & Borries, 1997), sin embargo en *A. caraya* las hembras juveniles dispersan del grupo natal además de no contar con estructura jerárquica marcada, por lo cual sugerimos que en este caso la mayor tasa de participación de las hembras en la realización de acicalamientos está asociada a una adquisición de aptitudes para la vida adulta.

Comportamientos agresivos:

Alouatta caraya es una especie sin jerarquías sociales marcadas en ninguno de los dos sexos, donde en la cual las agresiones intra-grupo son escasas (0.005 eventos por individuo/hora) (Kowalewski, 2007), las pocas interacciones agresivas que se evidencian en adultos se dan en los encuentros con otros grupos (sesiones de aullidos, demostraciones agresivas dadas por cabeceos y agite de ramas) y en menor medida peleas con contacto físico casi exclusivamente dirigida a machos satélites (Fernández et al., 2013; Kowalewski, 2007). Es razonable entonces, que durante el período juvenil solo el 2% de las interacciones sociales corresponden a interacciones agresivas (promedio 0.09 ± 0.05 min/h). Nuestras predicciones (P3) para este comportamiento no se cumplieron; así como no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre machos (0.09 ± 0.04 min/h) y hembras (0.09 ± 0.06 min/h), tampoco se observaron cambios en la agresión asociados a la edad. Estos resultados sugieren que en términos generales la ejecución de esta actividad no se relaciona con los roles que adquirirán de adultos (en los cuales los machos están más asociados a defensa de territorio y peleas que las hembras).

Aunque en términos generales nuestra predicción no se cumple, en el análisis cualitativo cuando se exploró a quien están dirigidas dichas interacciones, encontramos en los comportamientos agresivos de los juveniles cierta relación con los comportamientos de los adultos. En particular, es notable que las interacciones agresivas en machos J2 estuvieron dirigidas principalmente a individuos de otros grupos (35%, N= 14) (Figura 3.8) (tendencia que no se observa en hembras J2), lo cual sugiere que durante las últimas etapas de período juvenil en machos de *A. caraya* se comiencen a desarrollar comportamientos asociados a la interacción agresivas con otros grupos, comportamiento difundido en esta especie principalmente entre los machos (Fernández et al., 2013; Kowalewski, 2007).

Al tener en cuenta que tipo de interacciones agresivas predominan (pelea, demostración agresiva o persecuciones) surgieron observaciones interesantes. En el caso de los machos las interacciones de pelea disminuyeron con la edad (J1: 7.24 vs J2: 3.09 n/100hs) (Figura 3.7). Esto sugiere que a lo largo del período juvenil los machos podrían aprender gradualmente a controlar situaciones de conflicto, es decir evitar contacto físico en los encuentros o interacciones agresivas con otros individuos del grupo (evitando causar heridas o la muerte) (Palombit, 1993; Korstjens, Nijssen, & Noë, 2005; Watts et al., 2006; Pavé et al., 2012; Campbell 2006). Sin embargo, es necesario realizar más estudios para verificar si esta tendencia no es un producto del azar considerando la baja proporción de comportamientos agresivos hallados en este estudio.

Aullidos:

Con respecto a la participación en sesiones de aullidos nuestra predicción (P4) se cumplió. Es decir, encontramos distintas tendencias en la participación de aullidos entre hembras y machos; mientras que en las hembras la participación en aullidos es baja durante todo el período juvenil, en machos los aullidos aumentan a medida que crecen (Figura 3.9). Estos resultados reflejan las tendencias observadas en los adultos (Holzmann, 2011; Kowalewski, 2007), lo cual sugiere que, durante el período juvenil, los machos adquieren aptitudes para la vida adulta asociadas con la defensa del grupo y la protección de pareja.

Un caso particular consiste en el del individuo Bongó, perteneciente al grupo Hembra Negra, donde desde el mes de febrero 2015 comenzó a observarse machos satélites y finalmente en abril de 2015 se produjo un recambio de macho central (Djembe por Charles) (Anexo 2), este proceso llevo varias semanas, en ese período Bongó participó activamente

en las sesiones de aullidos lo cual se observó inclusive 2 días en que el grupo no contaba con machos adultos.

Juego social:

En primer lugar, en *A. caraya*, al igual que otras especies de primates (Hayaki, 1985; Leresche, 1976; Lonsdorf et al., 2014; Owens, 1975), durante el período juvenil el juego social es el comportamiento social más difundido (62%).

Para este comportamiento nuestras predicciones (P5) se cumplieron siendo un comportamiento más predominante en machos juveniles (2.6 ± 0.7 min/h) en comparación con las hembras juveniles (1.7 ± 0.6 min/h) (en otras palabras, los machos juegan 22 minutos más por día que las hembras). Estos resultados son similares a los observados en otros estudios en primates juveniles (*Saimiri sciureus* (Baldwin, 1971), *Sapajus apella* (Paukner & Suomi, 2008), *M. mulatta* (Lovejoy & Wallen, 1988; Maestripieri & Hoffman, 2012); *E. patas* (Rowell & Chism, 1986); *Papio anubis* (Owens, 1975); *P. hamadryas* (Leresche, 1976); *Rhinopithecus roxellana* (Li et al., 2011); *Pan troglodytes* (Hayaki, 1985; Lonsdorf et al., 2014); *Gorilla gorilla* (Maestripieri & Ross, 2004)). El tipo de juego social que predomina es el rudo (*rough and tumble*) (84%), el cual tradicionalmente se ha asociado con las aptitudes adultas en peleas relacionadas con la defensa del grupo (Paukner & Suomi, 2008) o protección de pareja (Maestripieri & Ross, 2004). En *A. caraya*, estas actividades son predominantes en los machos (Holzmann, Agostini, & Di Bitetti, 2012; Kowalewski, Raño, & Gennuso, 2018; Kowalewski & Garber, 2010). Esto sugiere que en esta especie el juego social puede constituir un entrenamiento motor y social (Burghardt, 2005) que confiere ventajas en la vida adulta.

Sin embargo, cabe destacar que, aunque en menor proporción que los machos, el juego social es el comportamiento social más difundido entre las hembras juveniles, lo que sugiere que este comportamiento también podría tener un rol en las hembras juveniles. Estos resultados podrían sugerir que

1. Aunque en *A. caraya* los comportamientos de pelea sean más comunes entre machos, es una aptitud necesaria también para la vida adulta de las hembras.
2. El juego social provee más beneficios, no solamente relacionados con adquirir aptitudes relacionadas con comportamientos agresivos.

Nosotros consideramos que ambas explicaciones son parcialmente correctas: por un lado, es posible que los aprendizajes resultantes del juego social sean útiles para ambos sexos, ya sea porque ambos tienen la potencialidad de tener interacciones agresivas, en el

caso de las hembras una posible competencia (Crockett, 1984), o defensa de las crías ante la posibilidad de infanticidio (Pavé et al., 2012), pero también porque este tipo de actividad provee otros aprendizajes, por ejemplo proveer a los individuos de flexibilidad comportamental (Fagen, 1981; Gennuso et al., 2018; Montgomery, 2014). Esta habilidad se considera importante para la supervivencia de primates permitiéndole enfrentar un ambiente ecológico cambiante (Poirier, 1969) que también puede ser considerada como una cualidad adaptativa en un ambiente social dinámico (cambio de macho central, llegada de nuevas hembras, migraciones, posible separación del grupo en grupos más pequeños). El juego social es una actividad que implica cierta comunicación (dada por vocalizaciones, intensidad del contacto, observación del contrincante) entre los participantes, mediante estas interacciones los juveniles pueden observar distintos tipos de reacciones en otros individuos y aprender a interpretarlas (Tacconi & Palagi, 2009), de esta forma tener mayor experiencia en las relaciones sociales ya sean agonistas o afiliativas.

En forma opuesta a lo esperado (P5), encontramos que el tiempo dedicado al juego social disminuye gradualmente con la edad (Figura 3.10). De forma similar a los hallazgos en gorilas (*G. gorilla*) (Maestripieri & Ross, 2004) y mono patas (*E. patas*) (Rowell & Chism, 1986), en *A. caraya* hay una gran disminución del juego a partir de mes 36 (3 años de edad) (Figura 3.11), tanto para hembras como para machos. Como en el caso de los gorilas, el decline general en esta actividad a los 3 años puede estar asociado con cambios en la tasa de actividades generales (aumento de tiempo dedicado al descanso) y un aumento en otras actividades sociales (Maestripieri & Ross, 2004; Watts & Pusey, 2002). Una explicación alternativa se relaciona con las etapas del desarrollo cerebral. Aunque a los 3 años de edad esta especie no está próxima a la edad de madurez sexual (4 años en hembras y 5 en machos) estudios comparativos en primates han demostrado que la edad de maduración no tiene una relación directa con la tasa de desarrollo cerebral o el tamaño del cerebro (Leigh, 2004), por lo cual es posible que el cese en los juegos comience a ser evidente debido a que en este momento haya alcanzado un desarrollo cerebral casi completo. Si bien no hay disponible estudios ontogenéticos del desarrollo cerebral en *A. caraya*, estudios morfométricos realizados por Coppo y Resoagli (1978) demuestran que el cerebro tiene un desarrollo gradual (Capítulo I, Figura 1.7) (baja tasa de crecimiento), esto concuerda con el tipo de crecimiento cerebral que se da, por ejemplo, en tamarino marrón (*Saguinus fuscicollis*) en el cual la gestación es relativamente corta y la mayor parte del desarrollo cerebral ocurre luego del nacimiento (período infante y juvenil), lo cual se asocia a un aprendizaje más gradual de las aptitudes de adulto (Leigh, 2004). Sin embargo, son

necesarios análisis ontogenéticos tanto de la tasa en el desarrollo del cerebro en general y de las áreas funcionales del cerebro asociadas con el aprendizaje y la cognición (neocorteza; (Reader & Laland, 2002), amígdala e hipotálamo; (Lewis & Barton, 2006)) en esta especie para poder comprender como es la relación del desarrollo cerebral con los distintos comportamientos.

Comportamiento sexual:

En este caso nuestra predicción no se cumplió (P6); no hubo un aumento en el tiempo dedicado a comportamientos sexuales con la edad en ninguno de los dos sexos. Además, aunque en los análisis estadísticos no hubo diferencias sexuales significativas, en el análisis cualitativo de la frecuencia se encontró que estos comportamientos predominaron en machos (89.47%). Es posible que el análisis estadístico (GLMM) no haya encontrado estas diferencias considerando que la frecuencia de este comportamiento es muy baja.

De forma similar a los estudios de Lovejoy (1988) en *M. mulatta* juveniles, los comportamientos sexuales parecen ser más evidentes en machos que hembras (Tabla 3.9), los autores atribuyen esas diferencias a aspectos fisiológicos dado por los andrógenos prenatales, aunque con nuestros resultados no podemos generar este tipo de inferencias, en el próximo capítulo sin embargo analizaremos como intervienen las hormonas sexuales en estos comportamientos para de esta forma analizar si estas diferencias entre machos y hembras se debieron a distintas tendencias en la expresión de hormonas sexuales.

Cuando se compararon estos comportamientos entre las categorías de edad vemos que las diferencias ya no resultaron tan evidentes (50 vs. 39.47%), esta falta de diferencias sugiere que este tipo de comportamientos en los machos comienza a desarrollarse tempranamente, pero cabe destacar que 13 de los 15 comportamientos sexuales encontrados en machos J1 corresponden a un individuo (Caramelo). Estos resultados generan nuevas preguntas acerca de la relevancia de características individuales en este tipo de comportamiento dado por la “personalidad”. Este término hace referencia a diferencias individuales en el comportamiento que persisten en el tiempo y en diferentes situaciones (Weinstein & Capitano, 2008). Si bien los análisis aquí nos permiten hacer inferencias sobre el comportamiento sexual en juveniles, consideramos que para hacer una correcta interpretación de las diferencias según la edad sería necesario un estudio que contemple las personalidades (Neuman, 2014).

En términos generales, nuestros resultados aportan evidencia para considerar que durante el período juvenil se desarrollan ciertos comportamientos relacionados con la ganancia de aptitudes para la vida adulta, soportando la hipótesis que considera la evolución del período juvenil extendido en primates proporciona tiempo para el aprendizaje social (*Hipótesis del aprendizaje social*). En particular, la interacción con crías permite un aprendizaje asociado a los cuidados maternos en las hembras, el acicalamiento de pares está asociado a la función de las hembras en la cohesión social del grupo, en el caso de los machos la participación en los aullidos los prepara para una participación más protagónica en los encuentros entre grupo asociada a su función en la defensa del grupo y protección de la pareja. El juego social por su parte, también cumple una función en la adquisición de aptitudes para la defensa y la pelea en los machos, pero no se descarta que también pueda cumplir una función similar en las hembras, la disminución de este comportamiento con la edad podría evidenciar que los individuos han alcanzado la madurez en el desarrollo cerebral, pero es necesaria más información sobre la morfología y fisiología del desarrollo del sistema nervioso central durante la ontogenia en *A. caraya* para poder poner a prueba estas hipótesis.

3.5. Conclusiones

En este capítulo se analizaron los comportamientos generales y sociales en juveniles de *A. caraya* y se concluyó lo siguiente.

- Las hembras dedicaron más tiempo a las interacciones con cría que los machos, y si bien en las hembras las interacciones con las crías se dieron en todas las edades, el tipo de interacción varía con la edad, ya que las hembras más grandes comenzaron a cargar las crías.
- Las hembras dedicaron más tiempo al acicalamiento de pares que los machos, y no hay un efecto de la edad. Esto sugiere que este comportamiento se desarrolla tempranamente en el período juvenil de las hembras.
- Si bien el tiempo dedicado a los comportamientos agresivos en general no dependen de la edad y el sexo, se encontró que hembras y machos presentaron distintas trayectorias. Mientras que en hembras J1, la mayoría de los comportamientos agresivos fueron dirigidos a individuos de otros grupos, en hembras J2 fueron dirigidos principalmente a hembras adultas del grupo. En el caso de los machos, en los J1 estos comportamientos fueron dirigidos con más frecuencia a hembras adultas

e infantes del grupo y por su parte los machos J2 los dirigieron a individuos de otros grupos

- Los aullidos fueron más frecuentes en machos juveniles y esta frecuencia aumentó con su edad, en hembras en cambio este es un comportamiento poco observado durante todo el período juvenil.
- El juego social (especialmente el juego rudo), fue el comportamiento social más observado en los juveniles. Este comportamiento ocurrió más en machos que en hembras y en ambos sexos disminuyó con la edad.
- Los comportamientos sexuales fueron poco frecuentes en general. Pero de las pocas observaciones registradas la mayoría fue en machos juveniles. Hubo una gran variabilidad individual de este comportamiento.

Capítulo IV

Perfil de las hormonas sexuales y su relación con el comportamiento en hembras juveniles

4.1. Introducción

En el capítulo anterior vimos que a lo largo del período juvenil se pueden distinguir comportamientos típicos de hembras. Con el fin de comprender los procesos fisiológicos que se relacionan con estos comportamientos, en este capítulo exploraremos su relación con las hormonas sexuales. En particular, analizaremos los perfiles hormonales y su relación con los comportamientos asociados a las hembras, i.e. comportamientos sexuales (inspección de genitales de machos adultos, cópulas) o comportamientos no-reproductivos típicos de hembras (interacción con crías y acicalamiento de pares).

Perfiles de PdG-E1G individuales y comparación con hembras adultas

De forma similar a lo que ocurre en otros mamíferos, el proceso de ovulación y ciclo ovárico en primates se ve reflejado en las hormonas esteroideas circulantes y luego excretadas en orina. Debido a la relación entre del ciclo ovárico y la secreción progesterona y estradiol, los análisis de estas hormonas actúan como una ventana para observar en qué fase del ciclo se encuentra un primate de vida silvestre (capítulo I, sección 1.6).

Utilización de metabolitos para estimar el ciclo:

La utilización de metabolitos de estradiol y progesterona como la estrona-3-glucuronida (E1G) y pregnanediol-3 α -glucuronida (PdG) respectivamente, obtenidas de la orina y heces han permitido a los investigadores coleccionar muestras de forma no invasiva y así poder obtener información del ciclo ovárico de una gran cantidad de primates en su hábitat natural (ver capítulo I, sección 1.6). En primates platirinos los análisis de metabolitos de hormonas esteroideas en orina y heces no coinciden con los perfiles correspondientes a los esteroides circulantes (Ziegler, Sholl, Scheffler, Haggerty, & Lasley, 1989; Ziegler, Savage, Scheffler, & Snowdon, 1987; Ziegler, Wittwer, & Snowdon, 1993; Ziegler et al., 1996) por lo que es importante tener en cuenta algunos detalles; a diferencia de lo que se observa en los análisis de sangre (en los cuales el estradiol presenta dos picos, uno antes de la ovulación y otro después; capítulo I, sección 1.6), los metabolitos de

estrógeno aumentan de forma similar a los de progesterona con una elevación sostenida a lo largo de la fase lútea del ciclo ovárico. Con este patrón, es más difícil estimar con exactitud el momento de la ovulación a partir de muestras de orina, sin embargo, muchos estudios han indicado el comienzo en el aumento sostenido en progesterona en la orina o heces ocurre luego del pico de LH en la sangre (para una revisión ver Ziegler, Strier, & van Belle, 2009), mientras que el retraso en la secreción de estrógenos es más variable (Ziegler et al., 1993). De esta forma la PdG permite definir la fase lútea del ciclo ovárico. Empíricamente su valor supera dos veces a la desviación estándar del promedio de los valores de PdG durante la fase folicular (Carosi, Heistermann, & Visalberghi, 1999; Raño, 2016). Entonces, observando la dinámica de la PdG en los perfiles de las hembras se puede estimar cuando ocurrió la ovulación (Raño, 2016). La observación de los cambios en los niveles de E1G es menos informativa ya que por un lado los perfiles dados por los metabolitos de estradiol no son reflejo de los perfiles de estradiol en sangre (Ziegler et al., 2009) y además puede suceder que haya un aumento en los niveles de estrógenos a comienzos del ciclo, pero estos niveles resulten insuficientes para disparar el pico de LH y, por lo tanto, no se produce la ovulación. La observación de los cambios en los niveles de E1G son útiles para ajustar la estimación de la duración del ciclo ovárico, observando los ‘valles’ que genera esta hormona, se puede estimar el primer y último día del ciclo (Raño, 2016).

Ciclo ovárico en primates platirrininos.

En primates platirrininos un ciclo ovárico es considerado el período entre dos ovulaciones consecutivas (Ziegler, Strier, & van Belle, 2009), que puede ser de 9 días como el caso de mono ardilla (*Saimiri sciureus*) (Ghosh, Hutz, & Dukelow, 1982) a 33 días en el caso de mono tití pigmeo (*Cebuella pygmaea*) (Ziegler, Snowdon, & Bridson, 1990). Con la excepción del mono tití pigmeo (con un ciclo más largo que el resto), en general el ciclo ovárico en platirrininos tiene una duración menor a los 30 días siendo así más corto que lo encontrado en catarrinos (24-38 días).

El ciclo ovárico de *Alouatta caraya* fue descrito por Raño (2016) en el mismo sitio de estudio (EBCo) donde se desarrolló el presente trabajo. El ciclo, entonces, tiene una duración de 17 ± 2 días y la fase folicular está caracterizada por bajos valores promedio de PdG (81 ± 33 ng/ml/SG). El estudio descriptivo de Raño (2016) permitió describir los niveles promedio de PdG en la orina en distintas etapas: pubertad con valores promedio de 382 ± 7 ng/ml/SG, concepción con valores promedio de 1048 ± 60 ng/ml/SG, preñez

(seguida de nacimiento) con valores promedio de 2090 ± 22 ng/ml/SG, y postparto con valores promedio de 22 ± 1.2 ng/ml/SG.

Los estudios en platirrinos inmaduros son escasos, pero algunos trabajos han descripto los niveles de hormona en hembras inmaduras (juveniles y subadultas). Estudios realizados en 10 hembras adultas y 6 juveniles de mono capuchino caí (*Sapajus apella*) en cautiverio demostraron que los valores de progesterona (entre 2.2 y 6.6 ng/ml) son similares a los niveles de estas hormonas en la fase folicular de las adultas (entre 2.7 y 7.1 ng/ml), que corresponde a la mitad de los valores encontrados en la fase lútea y los valores de estrógenos son significativamente más bajos (53 ± 12 pg/ml) que en hembras maduras (que tiene valores base de 75 pg/ml a picos de 660 pg/ml) (Lahoz et al., 2007). En el caso de los aulladores, se considera que las hembras sexualmente maduras entre los 2.9 a 4.5 años y pueden experimentar su primer parto entre los 3.5 a 5 años (van Belle, 2015). En particular en *A. caraya* los estudios realizados en 4 hembras en cautiverio expresan que la madurez sexual ocurre entre los 35 y 42 meses (Kugelmeier et al., 2011). La madurez sexual, en aulladores es un proceso que comienza con un período de “infertilidad adolescente”, el cual está caracterizado por ciclos irregulares (van Belle, 2015).

Relación entre hormonas sexuales (progesterona y estradiol) y el comportamiento

Los primates Platirrinos en general, y algunos Catarrinos, carecen de señales morfológicas conspicuas durante el período peri-ovulatorio (por ejemplo; *Cercopithecus aethiops* (Andelman, 1987), *Saguinus oedipus* (Ziegler et al., 1993), *Cebus capucinus* (Carnegie, Fedigan, & Ziegler, 2005); *Alouatta caraya* (Raño, 2016)), por lo cual los cambios comportamentales durante el ciclo ovárico en las hembras tienen gran importancia en la reproducción (Raño, 2016). Estudios en distintos primates neotropicales han asociado los niveles de hormonas sexuales (especialmente progesterona) con los comportamientos *proceptivos* (comportamientos afiliativos y sexuales de la hembra hacia el macho) (por ejemplo; *Sapajus apella*, (Carosi et al., 1999); *Ateles geoffroyi* (Campbell, Shideler, Todd, & Lasley, 2001); *Alouatta pigra* (van Belle, Estrada, Ziegler, & Strier, 2009); *Brachyteles hypoxanthus* (Strier & Ziegler, 1997); *Saguinus oedipus* y *Callithrix jacchus* (Ziegler et al., 1996)).

Además de la función reproductiva de la progesterona, esta hormona promueve la afiliación (Brown et al., 2009; Frye, Petralia, & Rhodes, 2000; Maner, Miller, Schmidt, & Eckel, 2010; Wirth & Schultheiss, 2006). Por ejemplo, el estudio de Miller (2011) en

encontró que cuando hay aumento en progesterona (durante la fase lútea) las mujeres (N=94) poseen una mayor tendencia afiliativa (gestos amistosos, sociables), y sugiere entonces que estos cambios comportamentales son parte de la preparación para el embarazo, en la que la mujer además de los procesos fisiológicos asociados al embarazo, se prepara para un largo período en el cual hay una gran necesidad de soporte social (Miller, 2011).

Por otro lado, el estradiol además de su relación con los comportamientos sexuales (Wallen & Tannenbaum, 1997; Yan & Jiang, 2006), también está asociado a comportamientos afiliativos no-reproductivos (Michopoulos, Checchi, Sharpe, & Wilson, 2011). En particular esta hormona, induce la síntesis de oxitocina (Acevedo-Rodriguez, Mani, & Handa, 2015; Lim & Young, 2006), la cual además de estar relacionada con el parto y la lactancia (Burbach, Young, & Russell, 2006), está asociada a comportamientos afiliativos (Anestis, 2010; Campbell, 2008; Donaldson & Young, 2008; Goodson & Thompson, 2010; Ross & Young, 2009; Veenema, 2008), como los acicalamientos (Maestripieri, Hoffman, Anderson, Carter, & Higley, 2009), cuidados maternos (Boose, White, Brand, Meinelt, & Snodgrass, 2018; Feldman, 2012; Finkenwirth, Martins, Deschner, & Burkart, 2016; Kim, Fonagy, Koos, Dorsett, & Strathearn, 2014; Pedersen, 1997) y vínculos sociales en general (Crockford et al., 2013; Wittig et al., 2014). En particular, los experimentos en ratas realizados por Champagne et al. (2001) observaron que al administrar estrógenos a hembras aumentan los receptores de oxitocina en el cerebro y asociado a esto los cuidados maternos (Champagne, Weaver, Diorio, Sharma, & Meaney, 2003). La íntima asociación entre estrógeno y oxitocina, refleja la importancia de las hormonas esteroideas en los comportamientos afiliativos en las hembras (Campbell, 2008).

Además de la acción durante la adultez de las hormonas ováricas en los comportamientos sexuales (actuando a nivel del hipotálamo y el tronco encefálico), durante el período juvenil, estas hormonas también actúan en otras partes del sistema nervioso central (por ejemplo; el hipocampo, el estriado, cerebelo, la amígdala y la corteza cerebral) involucrándose así en la expresión de comportamientos no reproductivos (actividad motora, resolución de problemas, agresión, entre otros) (Cameron, 2004) que comienzan a expresarse durante el desarrollo en la etapa previa a la maduración sexual (Schulz & Sisk, 2006).

En este capítulo ampliaremos los conocimientos sobre la expresión de hormonas sexuales en hembras de *A. caraya* con la descripción de los perfiles de PdG y E1G durante el período juvenil. Esta nueva información aportará un enfoque más amplio sobre cómo se llega a la adultez en cuanto a la expresión hormonal y los comportamientos asociados durante el desarrollo. En primer lugar, describiremos los perfiles hormonales de las 6 hembras juveniles de *A. caraya*, en las cuales analizamos las concentraciones en PdG y E1G de cada hembra durante un año. Luego analizaremos la relación entre la expresión de estas hormonas y los comportamientos sexuales. Finalmente, teniendo en cuenta el rol de estas hormonas en el desarrollo del cerebro y la aparición de los comportamientos de adultos, analizaremos como es la relación entre estas hormonas y comportamientos típicamente asociados a hembras adultas, como son las interacciones con las crías y acicalamiento de pares.

En particular pondremos a prueba las siguientes hipótesis (expresadas en el capítulo I):

H2 *El aumento en el nivel de Progesterona y Estrógenos a lo largo del período juvenil en las hembras se correlaciona con un aumento en los comportamientos socio-sexuales hacia los machos adultos (acicalamiento, inspección de genitales) relacionados con el desarrollo de comportamiento típico de hembras adultas.*

- ❖ P. En las hembras juveniles los aumentos en la duración de acicalamiento e inspecciones genitales en machos adultos se producirán simultáneamente con los aumentos en los niveles de Progesterona y Estradiol.

H3. *El aumento en el nivel de Progesterona y Estrógenos a lo largo del período juvenil en las hembras se correlaciona con un aumento en los comportamientos de cuidados aloparentales y acicalamiento de pares relacionados con el desarrollo de comportamiento típico de hembras adultas.*

- ❖ P1. En las hembras juveniles, los aumentos en la duración de interacciones con crías e infantes se producirán simultáneamente con aumentos en los niveles de Progesterona y Estradiol.
- ❖ P2. En las hembras juveniles los aumentos en la duración de acicalamiento de pares se producirán simultáneamente con aumentos en los niveles de Progesterona y Estradiol.

4.2. Métodos

Los métodos generales de colecta y procesamiento de las muestras de orina fueron descritos en capítulo II. Para estimar la relación entre los niveles de hormona y los diferentes comportamientos utilizamos dos métodos: por un lado, en los casos para los que la frecuencia de eventos fue muy baja (comportamientos sexuales) empleamos estadística descriptiva. Por otro lado, para estimar la relación entre comportamientos de cuidado de cría y acicalamiento de pares con los niveles de metabolitos de hormonas sexuales (PdG y E1G) realizamos 2 GLMMs con la función *glmmTMB* del paquete de R “glmmTMB” (Bolker, 2018). La variable dependiente (VD) es la proporción de tiempo dedicado al comportamiento (modelo 1: tiempo dedicado a interacción con crías (seg)/tiempo de observación total (seg) para cada individuo x mes; modelo 2: tiempo dedicado al acicalamiento de pares (seg)/tiempo de observación total (seg) para cada individuo x mes). Los efectos fijos consistieron en las concentraciones de PdG y E1G (ng/ml/SG). Los efectos aleatorios son los individuos anidados en grupos (Tabla 4.1). Debido a que la variable respuesta consiste en una proporción se realizaron GLMMs con la familia “beta” (función de enlace: “*logit*”). Como la función de enlace “logit” no está definida para los valores de 0 y 1 debió emplearse una corrección de la VD ($VD' = (VD \times (n-1) + 0.5)/n$; donde n es el número de datos total) (Smithson & Verkuilen, 2006). Los efectos fijos PdG y E1G fueron centrados y estandarizados para el análisis (PdG_{st} y E1G_{st}). El ajuste del modelo se evaluó utilizando un test de razón de máxima verosimilitud (LRT), para ello compramos modelos con variaciones en un efecto fijo, este análisis es válido teniendo en cuenta que en todas las comparaciones los efectos aleatorios son los mismos (individuo anidado en grupo) (Bolker et al., 2009).

Tabla 4.1. Resumen de variables utilizadas en los modelos de GLMM.

VARIABLE	DEFINICIÓN
Variable dependiente (VD')	
M1: interacción con cría (IC)	Continua: min=0.006; máx.=0.054; $\bar{x}$ =0.014±0.01
M1: acicalamiento de pares (AP)	Continua: min= 0.006; máx.=0.17; $\bar{x}$ =0.024 ±0.036
Variables independientes	
Efectos fijos*	
PdG (ng/ml/SG)	Continua: min=3.35; máx.=181.35; $\bar{x}$ =42.69±36.92
PdG _{st}	Continua: min=-1.06; máx.=3.75; $\bar{x}$ =0±1
E1G (ng/ml/SG)	Continua: min=2.64; máx.=200.29; $\bar{x}$ =43.87± 40.71
E1G _{st}	Continua: min=-1.01; máx.=3.84; $\bar{x}$ =0± 1
Efectos aleatorios	
Individuo	Factor: 6 niveles (Almendra, Gramínea, Quena, Vainilla, Per Calimba)
Grupo	Factor: 3 niveles (Hu, HN, Al)

La no-correlación entre efectos fijos y la homogeneidad de residuos también fue verificada gráficamente (qq-plot y gráfico de efectos fijos versus residuos). Todos los análisis estadísticos fueron realizados con R a través de la plataforma R-studio versión 3.2.1 (R Core Team, 2016). La significancia estadística fue fijada en 0.05 para todas las interpretaciones.

4.3. Resultados

Perfiles hormonales:

Se determinaron los perfiles de metabolitos de E1G (estrón-3-glucuronida) y de PdG (pregnanediol-3 α -glucuronida) de las seis hembras a partir de 452 muestras de orina (Tabla 4.2). La hembra Vainilla (J1) dejó el grupo 3 meses antes de finalizar el estudio por lo que hay menos muestras de ella.

Tabla 4.2. Numero de muestras de orina analizadas para cada hembra juvenil.

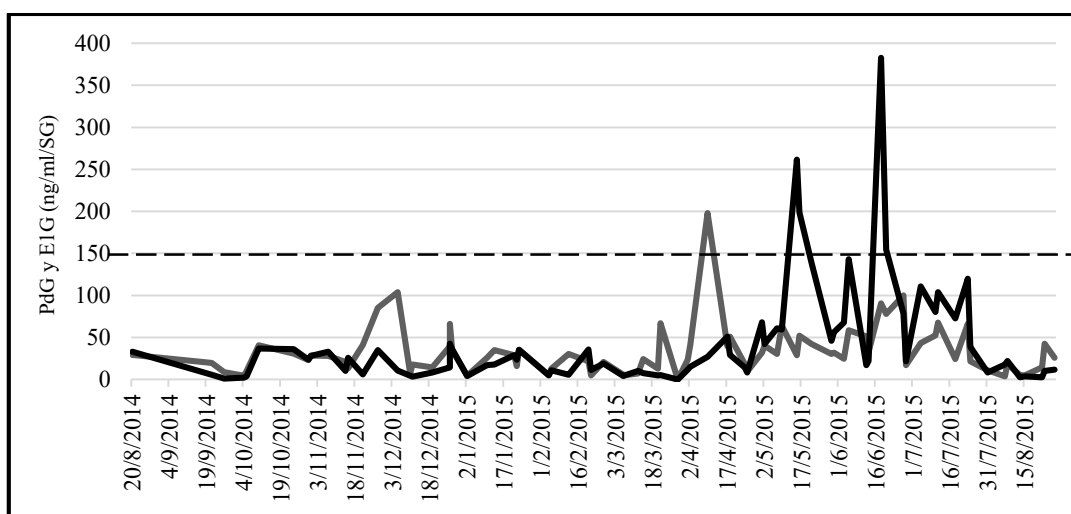
Hembra	Edad (categoría)	Edad* (meses)	Grupo	N muestras
Almendra	J2	24	Hu	78
Gramínea	J2	29	Al	79
Quena	J2	29	HN	85
Vainilla	J1	18	Hu	53
Pepa	J1	14	Al	82
Calimba	J1	14	HN	75

*edad aproximada en meses al comienzo del estudio.

Almendra:

El perfil hormonal de Almendra (Figura 4.1) exhibió valores basales de ambas hormonas (PdG y E1G) desde los 2 años (24 meses aproximadamente) hasta los 2.5 años (31 meses aproximadamente), posteriormente ambas hormonas comenzaron a expresar algunos picos (por ejemplo: E1G; 197 ng/ml/SG y PdG; 382.5 ng/ml/SG) los cuales no fueron regulares y tampoco alcanzaron niveles cercanos a valores que sugieren ovulación en hembras sexualmente maduras (1000 ng/ml/SG).

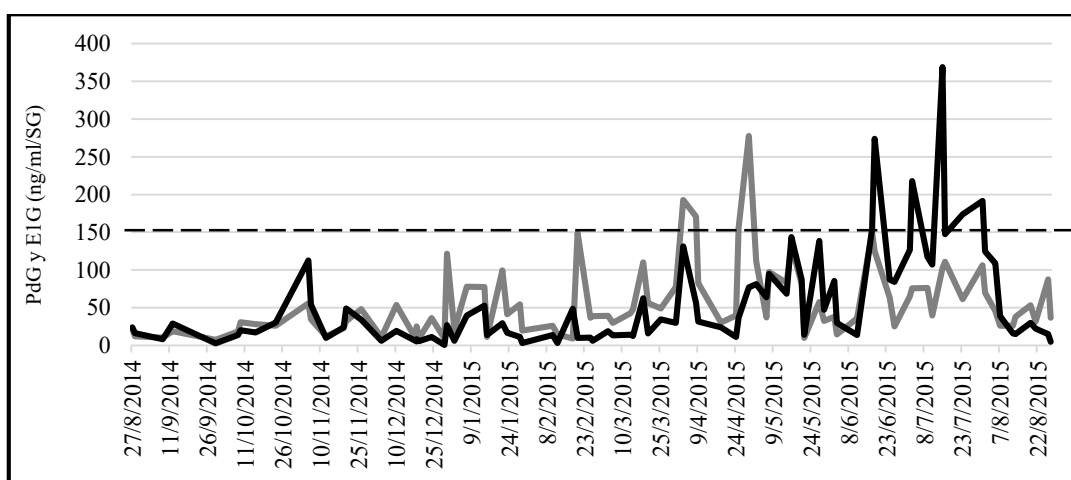
Figura 4.1. Perfiles hormonales de Almendra, gris corresponde a E1G y negro a PdG.



Gramínea:

De forma similar al caso anterior, en Gramínea los primeros meses de edad los niveles de ambas hormonas se mantuvieron bajos (promedio 23.01 ± 26.3 ng/ml/SG. Aproximadamente a los 3 años de edad (entre los 35 y 36 meses) los valores de ambas hormonas comenzaron a ser más elevados encontrándose picos promedio de PdG de aproximadamente 370 ng/ml/SG y de E1G de 170 ng/ml/SG (Figura 4.2).

Figura 4.2. Perfiles hormonales de Gramínea, gris corresponde a E1G y negro a PdG.

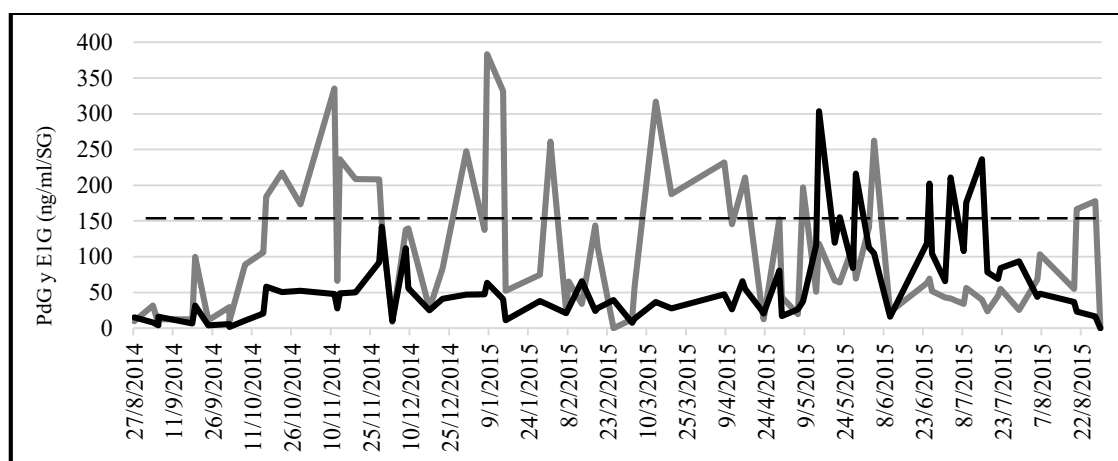


Quena:

En el caso de Quena, el estudio comenzó cuando tenía 2 años y medio (29 meses aproximadamente). Los valores de E1G en esta juvenil fueron los más altos, los cuales desde

el comienzo del estudio exhibieron valores elevados (335.5 ng/ml/SG a los 32 meses de edad. Los niveles de PdG en cambio siguieron un patrón más similar al de las otras hembras J2, manteniendo valores basales los primeros meses y expresando picos a partir de los tres años (aproximadamente 38 meses) con picos de hasta 303.7 ng/ml/SG (Figura 4.3).

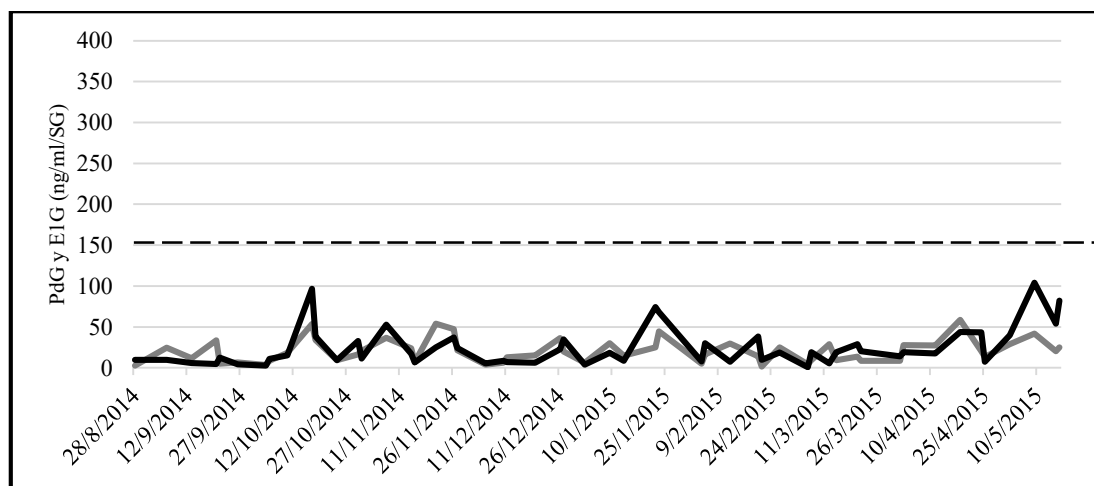
Figura 4.3. Perfiles hormonales de Quena, gris corresponde a E1G y negro a PdG.



Vainilla:

A diferencia de los casos anteriores en Vainilla las concentraciones de ambas hormonas se mantuvieron con valores bajos durante todo el estudio (en ningún momento se superaron los 150 ng/ml/SG) (Figura 4.4). Esta hembra tenía 1.5 años (18 meses) en el comienzo el estudio, a los 30 meses se perdió del grupo (mayo de 2015) y fue avistada viviendo en soledad unos meses después (junio y agosto 2015).

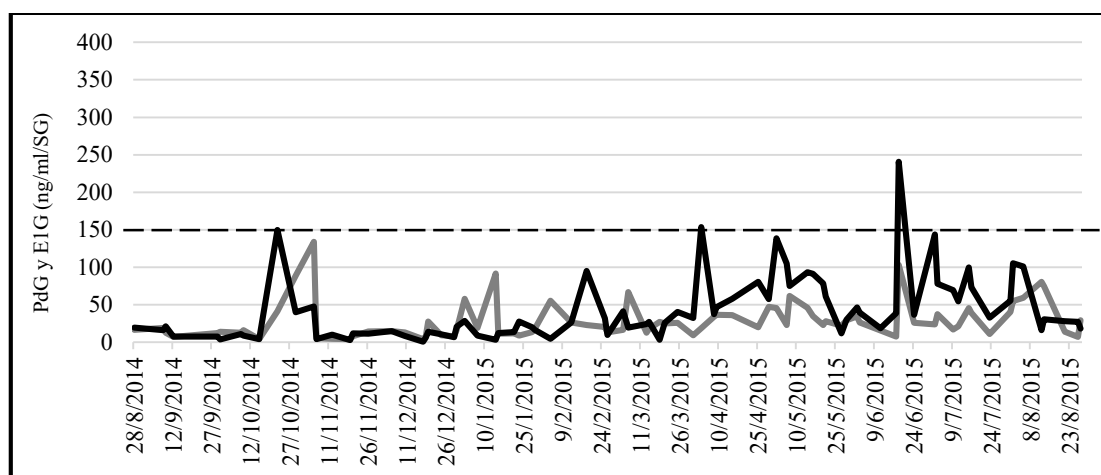
Figura 4.4. Perfiles hormonales de Vainilla, gris corresponde a E1G y negro a PdG.



Pepa:

De forma similar al caso anterior, Pepa es una hembra (J1), en la cual se comenzó el estudio con 1 año de edad (14 meses). En términos generales ambos metabolitos se mantuvieron con concentraciones por debajo de los 100 ng/ml/SG durante todo el estudio.

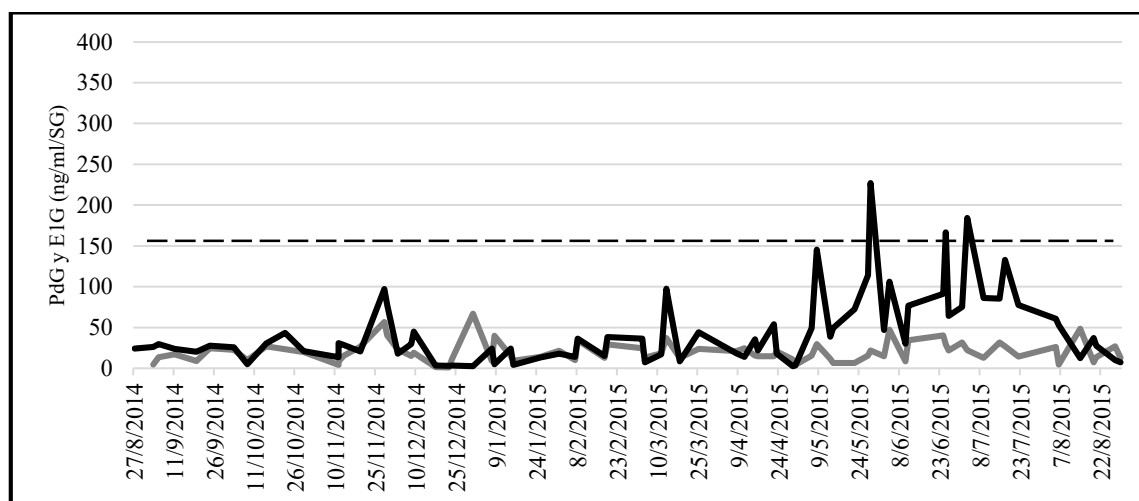
Figura 4.5. Perfiles hormonales de Pepa, gris corresponde a E1G y negro a PdG.



Calimba:

Por último, los datos de Calimba (J1) comenzaron a ser colectados cuando tenía 1 año (14 meses aproximadamente), de forma similar a las otras hembras J1, predominaron los valores bajos en ambos metabolitos (PdG y E1G), a partir de los 2 (23 meses aproximadamente) se comenzaron a observar algunos picos en PdG (227.1 ng/ml/SG), en cambio las concentraciones de E1G se mantuvieron basales (Figura 4.6).

Figura 4.6. Perfiles hormonales de Calimba, gris corresponde a E1G y negro a PdG.



En términos generales, se puede observar una diferencia en los perfiles hormonales de hembras grandes (J2) y chicas (J1). Mientras que las hembras J2 han pasado los +150 ng/ml en los niveles de PdG en repetidas ocasiones sobre todo en la segunda etapa del estudio, en las hembras J1 tuvieron concentraciones basales de ambas hormonas, sin embargo, se pueden observar ocasionales picos de PdG por arriba de los 150 ng/ml/SG (Tabla 4.3). Aunque es posible ver que en las juveniles grandes ambas hormonas presentaron picos, en ningún caso superaron los 1000 ng/ml/SG. En un análisis global de niveles de hormona de acuerdo a la edad se puede ver que ambos metabolitos aumentaron con la edad (Figura 4.7 y Figura 4.8).

Tabla 4.3. Valores promedio de hormonas en cada individuo, en todos los casos las unidades son ng/ml/SG, DE corresponde al desvío estándar.

	PdG $\pm$ (DE)	Rango (máx.-min)	E1G $\pm$ (DE)	Rango (máx.-min)
Almendra	40.6 $\pm$ 60.68	382.52-0.04	33.56 $\pm$ 29.73	197.99-0.03
Gramínea	53.73 $\pm$ 64.25	368.99-0.43	57.15 $\pm$ 47.96	227.63-7.01
Quena	62.76 $\pm$ 60.62	303.67-0.01	104.69 $\pm$ 90.49	383.28-0.065
Vainilla	24.49 $\pm$ 23.9	104.2-0.1	21.28 $\pm$ 15.12	58.59-1.42
Pepa	42.01 $\pm$ 42.63	240.53-0.61	28.48 $\pm$ 24.5	133.98-3.86
Calimba	45.89 $\pm$ 45.41	227.07-2.52	19.94 $\pm$ 12.74	67.08-0.97

Figura 4.7. Concentración promedio de PdG (ng/ml/SG) en función de la edad en (meses). Barras de error con el desvío estándar.

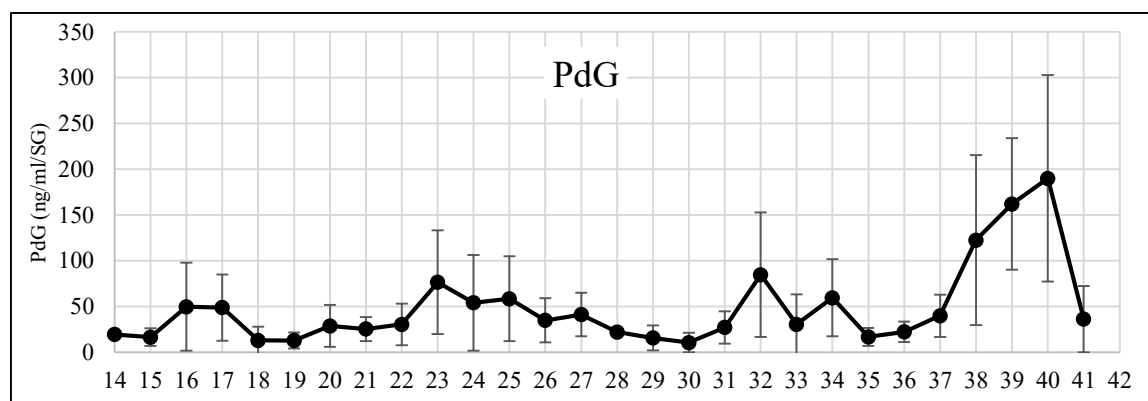
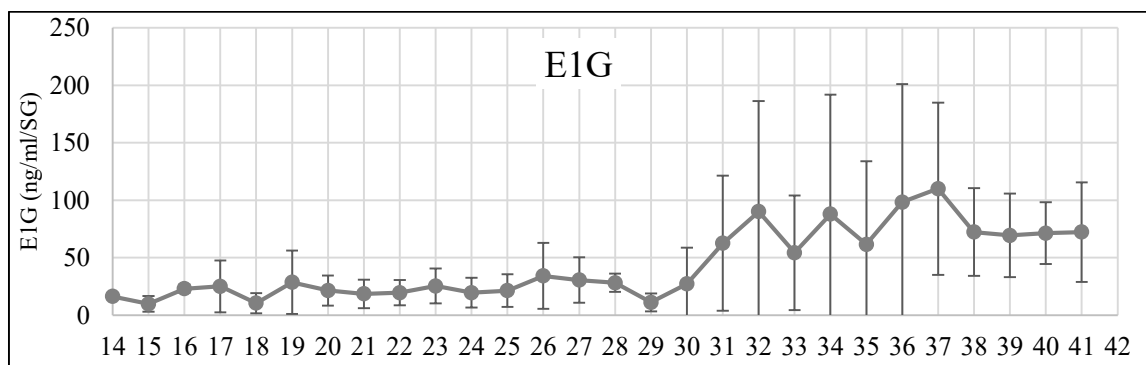


Figura 4.8. Concentración promedio de E1G (ng/ml/SG) en función de la edad en (meses). Barras de error con el desvío estándar.



Relación entre los niveles de hormona y comportamientos:

Comportamientos sexuales

Los comportamientos sexuales en hembras fueron muy escasos (N=3) y consistieron específicamente en inspección de genitales del macho central. Se observaron dos eventos en Almendra el día 6/3/15 con niveles de 5.64 ng/ml/SG en E1G y 4.03 ng/ml/SG en PdG, y el día 20/3/15 con niveles de 13.05 ng/ml/SG en E1G y 4.82 ng/ml/SG en PdG. Por otro lado, un solo evento se registró en Gramínea el día 12/2/15 con niveles de 14.77 ng/ml/SG en E1G y 3.3 ng/ml/SG en PdG. De acuerdo a lo perfiles no parece haber una directa asociación de los comportamientos sexuales con niveles altos de E1G o PdG.

Comportamiento de interacción con crías y acicalamiento de pares.

En el análisis de GLMM de comportamiento de interacción con crías (M1) y hormonas no se han encontrado correlaciones significativas entre el tiempo dedicado a interacción con crías y concentraciones de hormonas (PdG y E1G) (Tabla 4.4). El modelo seleccionado es el nulo (Tabla 4.5), es decir ninguna de las dos hormonas (PdG y E1G) tiene efecto en la proporción de tiempo dedicada a la interacción con crías.

En el caso del comportamiento de acicalamiento de pares (M2), el análisis de GLMM exhibió una correlación positiva entre la proporción dedicada a este comportamiento y la concentración de PdG (Tabla 4.4). Como es de esperarse, en la selección de moldeo por LRT (Tabla 4.5), se concluye que el modelo óptimo es aquel que tiene solo PdG como efecto fijo (AP= PdG+(1|individuo/grupo)) (estimado=0.17 ± 0.08, gl=5; p=0.048) (Tabla 4.6). Sin embargo, este modelo expresa que un aumento de PdG en 36.92 ng/ml/SG (un desvío estándar) produce un aumento promedio de 0.008 en la proporción de tiempo dedicada al

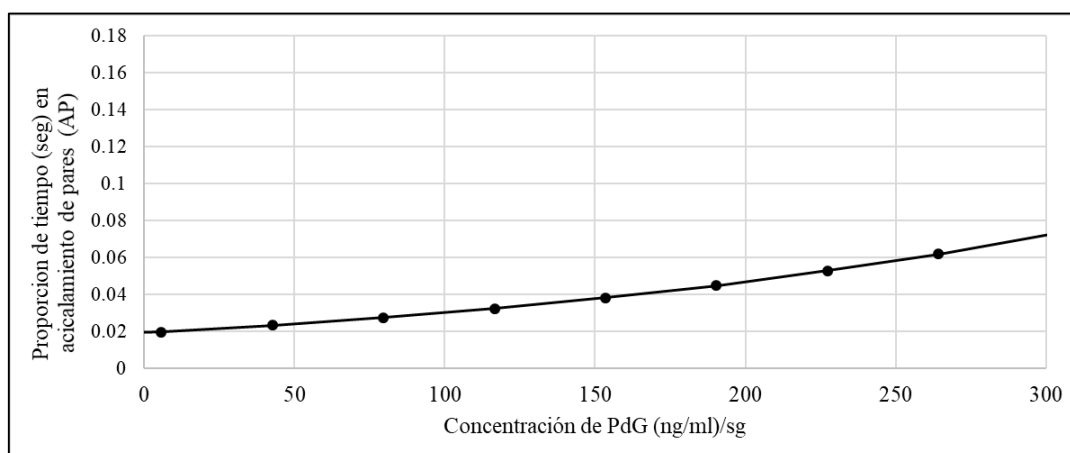
acicalamiento de pares (Figura 4.9). Además, cabe destacar que en este caso la comparación entre modelo nulo y el modelo que contempla PdG no resulta estadísticamente significativo ($P= 0.053$) (Tabla 4.4). En resumen, sólo en el caso del comportamiento de acicalamiento de pares puede verse una leve tendencia a aumentar la proporción de tiempo dedicada a este comportamiento con el aumento de la concentración de PdG (Figura 4.9); sin embargo, otras variables deben estar generando efectos biológicamente significativos.

Tabla 4.4. Resultados de GLMM de los modelos completos en la comparación entre comportamientos interacción con cría (IC) y acicalamiento de pares (AP) con la concentración de hormonas (PdG y E1G).

MODELO	ESTIMADO	ERROR ESTANDAR	VALOR Z	VALOR P
M1: IC=PdG*E1G + (1 individuo/grupo)				
<i>intercepto</i>	-4.31	0.14	-31.57	2e-16***
PdG _{st} *E1G _{st}	0.05	0.088	0.57	0.56
PdG _{st}	-0.07	0.067	-1.06	0.29
E1G _{st}	0.005	0.072	-0.075	0.94
Desvío estándar de los efectos aleatorios: 0.001				
M2: AP= PdG*E1G + (1 individuo/grupo)				
<i>intercepto</i>	-3.73	0.21	-17.74	2e-16***
PdG _{st} *E1G _{st}	-0.18	0.12	-1.47	0.14
PdG _{st}	0.27	0.09	2.98	0.003**
E1G _{st}	-0.13	0.09	-1.28	0.2
Desvío estándar de los efectos aleatorios:3.35e-5				

Intercepto: corresponde al valor del comportamiento (IC o AP) cuando ambos niveles de hormona están en su valor promedio (PdG= 42.69 y E1G= 43.87). PdG*E1G hace referencia al efecto de la interacción entre las dos hormonas en los comportamientos.

Figura 4.9. Aumento en la proporción de tiempo dedicada al acicalamiento de pares (AP) en función de los niveles de PdG según el modelo GLMM seleccionado, con la siguiente función (familia: *beta*, enlace “*logit*”): $AP = \text{EXP}(-3.74 + 0.17 \times \text{PdG}_{\text{st}}) / 1 + \text{EXP}(-3.74 + 0.17 \times \text{PdG}_{\text{st}})$



Los análisis GLMM fueron realizados sobre los efectos fijos centrados y estandarizados (PdG_{st}), por lo cual el valor PdG_{st}=0 corresponde a el valor de PdG cuando está en su valor promedio (42.69 ng/ml/SG), y un valor de PdG_{st}=1, implica un aumento en 1 desvío estándar del valor promedio de PdG (42.69 + 36.92), con esto en cuenta se realizó el gráfico utilizando PdG no-centrados/ no-estandarizados.

Tabla 4.5. Selección de modelo mediante test de razón de máxima verosimilitud (LRT).

MODELO	MÁXIMA VEROSIMILITUD	DEVIANZA	GL	Chi ²	Pr (Chisq)
M1: efecto de hormonas en interacción con crías (IC)					
Modelo completo					
IC ~PdG _{st} *E1G _{st}	na	na			
Modelo reducido 1 (sin interacción)					
IC~PdG _{st} +E1G _{st}	257.62	-515.23	1	1	1
Modelo reducido 2 (sin E1G)					
IC~PdG _{st}	257.62	-515.23	1	0.0027	0.96
Modelo reducido 3 (sin PdG)					
IC~E1G _{st}	257.15	-514.3	1	0.93	0.33
Modelo nulo					
IC~ 1	257.1	-514.2	1	0.1	0.75
M2: efecto de hormonas en acicalamiento de pares (AP)					
Modelo completo					
AP ~PdG _{st} *E1G _{st}	200.23	-400.47			
Modelo reducido 1 (sin interacción)					
AP~PdG _{st} +E1G _{st}	199.12	-398.24	1	2.22	0.14
Modelo reducido 2 (sin E1G)					
AP~PdG _{st}	198.06	-396.13	1	2.11	0.15
Modelo reducido 3 (sin PdG)					
AP~E1G _{st}	196.54	-393.09	1	5.15	0.02*
Modelo nulo					
AP~ 1	196.4	-392.8	3	7.67	0.053·

Tabla 4.6. Modelo GLMM seleccionado para el comportamiento de acicalamiento de pares (AP).

MODELO	ESTIMADO	ERROR ESTANDAR	VALOR Z	VALOR P
<i>intercepto</i>	-3.74	0.18	-20.43	2e-16***
PdG _{st}	0.17	0.08	1.97	0.04*
Desvío estándar de los efectos aleatorios: 4.14e-5				

4.4. Discusión

En términos generales, los niveles de ambos metabolitos de hormonas sexuales (PdG y E1G) mantuvieron niveles promedio bajos (44.91 ng/ml/SG PdG y 44.18 ng/ml/SG E1G) durante la etapa juvenil temprana. Sin embargo, alrededor de los 31 meses (2 años y medio) de edad es posible observar que ambas hormonas empezaron a incrementar sus niveles debido a la aparición de picos más frecuentes (con niveles mayores a 150 ng/ml/SG). Esto puede reflejar el comienzo de la segunda activación del eje hipotalámico-hipofisario-gonadal (la primera es durante el desarrollo embrionario), la cual conduce a la última diferenciación del sistema nervioso central (Cameron, 2004; Schulz & Sisk, 2006).

A diferencia de los estudios en individuos inmaduros de mono capuchino caí (*S. apella*) (Lahoz et al., 2007), en el cual los niveles promedio de hormonas sexuales eran comparables con los de las hembras adultas durante la fase folicular, en este estudio los niveles promedio en PdG fueron más bajos que los valores obtenidos por Raño (2016) en la fase folicular de hembras adultas (40.6 a 62.76 en juveniles vs. 81.33 ng/ml/SG hembras adultas en fase folicular). Sin embargo, desde los 2.5 años de edad aproximadamente se comenzaron a notar la existencia de picos en ambas hormonas generando perfiles hormonales con una estructura similar a lo encontrado para hembras adultas, aunque con niveles sustancialmente menores (los picos de PdG en juveniles son de entre 100 a 350 ng/ml/SG mientras que en hembras adultas alcanzan valores mayores a 1000 ng/ml/SG). En general se observó que los picos de PdG (valores mayores a 100 ng/ml/SG) ocurrieron cada 14.3 ± 4.86 días, lo cual es cercano a la duración del ciclo en hembras adultas de 17 ± 2 días. Si bien durante el período juvenil no se detectaron altos valores en ninguna de las dos hormonas, por lo cual se considera que no hubo ovulación en ninguna de las hembras, entre los 32 y 37 meses es posible observar un comportamiento cíclico en la secreción de progesterona.

De la misma manera que se observó en los análisis de PdG, los perfiles de E1G también exhibieron un patrón de picos y valles, particularmente en las hembras grandes (J2) aunque el caso de esta hormona tuvo más variación individual. Por ejemplo, Quena presentó altos valores de este metabolito desde el comienzo del estudio (30 meses de edad) mientras que las otras hembras presentaron valores altos de este metabolito en edades más avanzadas y los picos fueron más esporádicos. Es posible que haya factores sociales relacionados con esta dinámica, por ejemplo los experimentos de French et al. (1984) en monos titi de cabeza blanca (*Saguinus oedipus*) han observado que las concentraciones de estradiol y entrona responden a cambios en el entorno (French, Abbott, & Snowdon, 1984). Aunque en nuestro estudio se trata de un solo caso y no podemos hacer inferencias sobre como los estrógenos responden al entorno social, nuestros resultados sugieren que es importante explorar la relación entre estradiol y contexto social tanto en el período juvenil como en la adultez. A diferencia del caso en mono aullador de manto (*A. palliata*), en el cual no hay cambios en la concentración de estradiol a lo largo del período juvenil (Clarke et al., 2007), en *A. caraya* se observó un aumento en la concentración de estradiol con la edad. Sin embargo, es posible que el caso del mono aullador de manto sea una excepción (Clarke et al., 2007; van Belle, 2015) considerando que es la única especie de aulladores en la cual durante el período juvenil presentan genitalia monomórfica (Crockett & Eisenberg, 1987; Glander, 1980). Por lo cual

es importante ampliar este tipo de estudios a otras especies de aulladores para corroborar si realmente esta es la excepción. Las comparaciones directas en los niveles de estrógenos con las hembras adultas no son posibles aún en *A. carayá* ya que los estudios previos de Raño (2016) utilizaron conjugados de estrona (E1C), y en el presente trabajo se utilizó estrona-3-glucuronida (E1G).

Los resultados sugieren que las hembras juveniles comienzan a tener una actividad ovárica con ciclos hormonales similares a lo que ocurre en hembras adultas, a partir de los 2.5 años, pero con niveles de hormona considerablemente más bajo lo que no permite la ovulación. Posiblemente en etapas subsiguientes estos picos de hormonas se irán acrecentando hasta que las hembras exhiban perfiles de hormonas sexuales típicos de hembras adultas. De forma similar, es posible observar ciclos anovulatorios durante la pubertad en otros primates, en los cuales se pueden ver picos y valles de hormonas sexuales pero sin alcanzar las concentraciones necesarias para la ovulación (*Rhinopithecus roxellana* (Muren, Kusuda, Doi, Naito, & Hashikawa, 2017); *Brachyteles arachnoides* (Strier & Ziegler, 2000); *Aotus azarae* (Corley, Valeggia, & Fernandez-Duque, 2017)). Posiblemente los ciclos irregulares (y anovulatorios) observados en juveniles correspondan al período de “infertilidad adolescente” que caracteriza al comienzo de la pubertad (van Belle, 2015).

Hormonas sexuales y comportamiento

Ambas hipótesis fueron rechazadas ya que en ningún caso hubo una asociación importante entre los niveles de hormonas y los comportamientos ya sea sexuales (H2) o de acicalamiento de pares y cuidado de crías (H3).

Hormonas sexuales y comportamientos sexuales:

Con respecto a los comportamientos sexuales, estos fueron muy escasos (N=3), y en ningún caso correspondieron con aumentos en la concentración en ninguna de las dos hormonas. Aunque es difícil generar conclusiones sobre estos eventos tan aislados es posible que haya aspectos de la dinámica de grupo, o estado reproductivo de las hembras adultas que haya influido en la aparición de estos comportamientos, pudiendo estar más asociados a una imitación de las hembras adultas más cercanas y un aprendizaje observacional (van Noordwijk et al., 1993) y no a un comportamiento desencadenado por las hormonas.

Hormonas sexuales y comportamientos no-reproductivos (interacción con cría y acicalamiento de pares)

Por un lado, nuestros resultados sugieren que ninguna de las dos hormonas tienen efectos en el comportamiento de interacción con crías. Con respecto a los resultados hallados en la relación entre el comportamiento de acicalamiento de pares y PdG (Figura 4.3), aunque el modelo tenga cierta significancia estadística es importante destacar que el efecto del aumento de PdG en el comportamiento de acicalamiento de pares es muy bajo en términos biológicos (el aumento de PdG en 36.92 ng/ml/SG (un desvío estándar) produce un aumento promedio de 0.008 en la proporción de tiempo dedicada al acicalamiento de pares). Por lo tanto, no hay evidencia suficiente para aceptar la hipótesis 3 (H3: “El aumento en el nivel de Progesterona y Estrógenos a lo largo del período juvenil en las hembras se correlaciona con un aumento en los comportamientos de cuidados alo-parentales y acicalamiento de pares relacionados con el desarrollo de comportamiento típico de hembras adultas”). Posiblemente estudios en otras hormonas como la vasopresina y la oxitocina, las cuales se asocian a comportamientos afiliativos en mamíferos en general (Donaldson & Young, 2008; Goodson & Thompson, 2010; Ross & Young, 2009; Veenema, 2008), puedan aportar más información sobre la fisiología tanto de la interacción con crías como los acicalamientos de pares durante el período juvenil.

A diferencia de lo que ocurre en la adultez en los primates platirrinos, durante el período juvenil en *A. caraya* las hormonas sexuales no parecerían estar directamente involucradas con la probabilidad de ocurrencia de un comportamiento (ya sea comportamientos reproductivos o no-reproductivos). De acuerdo a los perfiles hormonales en los cuales ambas hormonas se incrementan con la edad, debería haberse encontrado también un aumento en los comportamientos asociados a estas hormonas. Posiblemente esto no fue observado dado que las hormonas sexuales solo tienen un efecto en los comportamientos cuando el sistema nervioso central ha completado su desarrollo (Cameron, 2004). Por lo tanto, es posible que en esta etapa las condiciones no estén aún dadas a nivel de desarrollo del sistema nervioso central para que el cerebro responda con cambios comportamentales asociados a aumentos en los niveles de hormonas sexuales. Sugerimos entonces que el aumento en las hormonas sexuales en las últimas etapas del período juvenil (2.5 años aproximadamente) corresponden al comienzo de la segunda reactivación del sistema hipotalámico-hipofisario-gonadal, la cual llevará al desarrollo del cerebro de adulto (Cameron, 2004; Schulz & Sisk, 2006).

Una explicación alternativa sería la existencia de una concentración de hormonas umbral relativamente baja (10 ng/ml/SG aproximadamente) para desencadenar estos comportamientos. Por encima de estos niveles los comportamientos ocurrirían sin importar de cuanto sea el aumento en la concentración de hormonas, siendo el disparador factores diversos tales como aspectos sociales de grupo, ambientales o estado de salud. Para explorar esta opción es importante realizar nuevos estudios en los cuales se incorporen infantes de edades menores a 1 año y comparar con ellos los niveles de hormona y la aparición de estos comportamientos. De esta manera se podría explorar si hay valores umbrales de hormona para la expresión de determinados comportamientos (por ejemplo; acicalamiento de pares, comportamientos sexuales).

4.5. Conclusiones

- Las concentraciones de hormonas sexuales en hembras juvenil de *Alouatta caraya* aumentaron alrededor de los 2.5 años de edad (31 meses). Esto sugiere que a esta edad comienza la reactivación de eje hipotalámico-hipofisario-gonadal.
- Durante el período juvenil no ocurrieron ovulaciones, aunque desde los 2.5 años se observaron ciclos de 14.3 ± 4.86 días dados por picos en PdG.
- En general los aumentos en E1G fueron similares a los de PdG, aunque en esta hormona hubo cierta variación individual. En particular una hembra (Quena) presentó valores altos de E1G a lo largo del estudio.
- No se encontró relación entre las hormonas sexuales y los comportamientos sexuales.
- Sólo se encontró una relación positiva entre los aumentos en PdG con aumentos en las tasas de acicalamientos, pero esta tendencia es algo leve por lo que debe haber otros factores (sociales, ambientales) asociados a los aumentos en los acicalamientos de pares.

Capítulo V

Perfil de testosterona y su relación con el comportamiento en machos juveniles

5.1 Introducción

El período juvenil en machos de *A. caraya* es una etapa de cambios en la cual, además de un aumento considerable en el tamaño y oscurecimiento del pelaje (a diferencia de las hembras), hay algunos cambios a nivel comportamental, como observamos en el capítulo III. Con el fin de comprender mejor los procesos fisiológicos en machos durante el período juvenil y entender cómo influyen en el comportamiento, exploramos los perfiles de testosterona de los machos juveniles y su relación con los comportamientos asociados ya sean sexuales (inspección de genitales de hembras adultas, cópulas, montas) o no-reproductivos que suelen estar relacionados a la testosterona (comportamientos agresivos y juego rudo).

Testosterona y comportamiento

En términos generales, la testosterona está encargada de regular los procesos fisiológicos asociados a la reproducción (Wallen, 2001) y los caracteres sexuales secundarios en machos, como los cambios en el tamaño (Anestis, 2006) y de coloración en el pelaje mediante la regulación de los pigmentos de melanina (Bradley & Mundy, 2008; Setchell & Dixon, 2001).

Además de la importancia en la fisiología de la reproducción de los machos, la testosterona está asociada a las estrategias reproductivas, como los comportamientos de cópula, monta, y cortejo (*Eulemur fulvus rufus* (Ostner et al., 2002); *Macaca mulatta* (Bernstein et al., 1977; Rose, Holaday, & Benrstein, 1971), *M. thibetana* (Xia, Li, Sun, Weed, & Kyes, 2015)). Por ejemplo, el estudio realizado por Xia et al. (2015), en machos adultos de macaco tibetano (*M. thibetana*) (N=5 machos) silvestres, encuentra una relación positiva entre los comportamientos de cópula y la concentración de testosterona fecal (en promedio, en la estación reproductiva la tasa cópulas es de 0.54 evento/h y concentración de testosterona 12.02 ng/g, y en la estación no reproductiva la tasa de copulas es 0.07 evento/h con una concentración de testosterona de 9.19 ng/g).

También se ha observado una relación entre la testosterona y los comportamientos agresivos (*Callithrix kuhlii* (Ross, French, & Patera, 2004); *Lemur catta* (Cavigelli & Pereira, 2000); *Propithecus verreauxi* (Brockman et al., 1998); *M. mulatta* (Rose et al., 1971)). Por ejemplo, en el experimento realizado por Ross et al. (2004) con mono titi de orejas negras (*C. kuhlii*) (N=5 machos) en cautiverio, encontraron que ante la incorporación de un intruso aumenta la concentración de testosterona en orina y los comportamientos agresivos. Los autores sugieren que tanto la secreción de testosterona como el contexto social influyen en la aparición de despliegues agresivos (Ross et al., 2004). Otro ejemplo similar se observa en colobos ursinos (*Colobus vellerosus*) silvestres (N=27 machos, 109 muestras), en los estudios realizados por Teichroeb & Sicotte (2008). Estos autores encontraron que la concentración de testosterona fecal se correlaciona positivamente con los niveles de agresión, siendo concentraciones promedio de 43.3 ± 10.9 ng/g cuando no se registraron eventos de agresión, 53.7 ± 26.5 ng/g cuando se observaron agresiones leves (tironeo de patas demostración agresiva sin contacto) y 87.8 ± 31.9 ng/g cuando se registraron agresiones de alta intensidad (persecuciones y peleas con contacto físico).

En general la importancia de esta hormona en los comportamientos agresivos se relaciona con la estrategia de los machos en la defensa y protección de la pareja (*P. verreauxi* (Brockman et al., 1998); *C. kuhlii*: (Ross et al., 2004); *A. palliata* (Cristóbal-Azkarate et al., 2006); *Colobus vellerosus* (Teichroeb & Sicotte, 2008)). Por ejemplo, Brockman et al. (1998) estudio sifakas de Verreaux (*P. verreauxi*) silvestres (N=7 machos) y encontraron una asociación positiva entre la agresión inter-grupo y las concentraciones de testosterona fecal. Por otro lado, encontraron una asociación entre esta hormona y las interacciones intra-grupo, sugiriendo que los niveles de testosterona se asocian principalmente con el desafío de los individuos extra grupo.

En el período juvenil, el juego social rudo (*rough and tumble*) es considerado una forma de adquisición de aptitudes para el futuro, en particular las de pelea (Burghardt, 2005). Si bien muchos estudios han explorado esta relación (Burghardt, 2005; Kulik et al., 2015; Lonsdorf et al., 2014; Maestripieri & Ross, 2004; Paukner & Suomi, 2008), hay poca información sobre las causas próximas que motivan este tipo de comportamiento. Por ejemplo, en el estudio de Nadler et al. (1982) en chimpancés (*P. troglodytes*) en cautiverio (N=10 machos/11 hembras) se encontró una correlación entre testosterona y juego social solo para los machos. Los autores sugieren que la testosterona ejerce un rol importante en el desarrollo de los comportamientos durante el período juvenil en machos (Nadler, Wallis, Roth-Meyer, Cooper, & Baulieu, 1987). También, en los experimentos con andrógenos pre-

natales en monos rhesus (*M. mulatta*) realizados por Wallen (1996), se pudo observar que la aplicación de andrógenos en hembras (pre-natales) aumentaba el comportamiento de juego rudo durante la infancia (Wallen, 1996). Estos estudios demuestran la importancia de las hormonas sexuales en el comportamiento de juego.

Testosterona en platirrinos

Algunos estudios han analizado las expresiones de testosterona entre los primates platirrinos; los cuales exploran la influencia de esta hormona en distintos aspectos, como la estacionalidad (*Brachyteles arachnoides* (Strier et al., 1999); *Saimiri sciureus* (Schiml, Mendoza, Saltzman, Lyons, & Mason, 1996)), los cuidados paternos (*Callithrix kuhlii* (Nunes et al., 2001)), la influencia humana (*Alouatta belzebul* (Monteiro et al., 2013)), la dominancia y su efecto en la defensa del grupo (*Cebus capucinus* (Schoof & Jack, 2013)) y el desarrollo (*A. palliata* (Clarke et al., 2007); *Cebus capucinus* (Jack et al., 2014); *Saguinus oedipus* (Ginther, Carlson, Ziegler, & Snowdon, 2002)).

En el género *Alouatta*, las concentraciones de testosterona parecen estar asociadas al acceso a las hembras (van Belle, Estrada, Ziegler, & Strier, 2009), y responden a aspectos de la estructura grupal (Rangel-Negrín et al., 2011) y la dinámica poblacional (Cristóbal-Azkarate et al., 2006). En el estudio de van Belle et al. (2009) en machos adultos de mono aullador negro (*A. pigra*) (N=14, 343 muestras) en Chiapas (México), encuentra una correlación positiva entre el acceso a las hembras y los niveles testosterona. Los machos centrales resultaron tener un mayor acceso a hembras fértiles y niveles más elevados de testosterona (macho central 2.08 ± 0.05 ng/g vs. macho no central 1.84 ± 0.06 ng/g). Sin embargo, en los estudios de Rangel-Negrín et al. (2011) en la misma especie (*A. pigra*) (N=9, 93 muestras) en otro sitio (Campeche, México), no se encontró una relación entre los niveles de testosterona y el número de cópulas y tampoco una relación con la frecuencia de comportamiento agresivo en los grupos multi-macho, pero encontraron que los machos de grupos uni-macho (3381.4 ± 220.94 ng/g) tenían concentraciones más altas de hormona que los individuos de grupos multi-macho (1936.7 ± 250.5 ng/g). Los autores sugieren que como en esta especie la probabilidad de ser desafiado por machos extra-grupo es mayor en grupos uni-macho, los machos responden a esta competencia inter-grupo aumentando sus niveles de testosterona (Rangel-Negrín et al., 2011). De forma similar Cristóbal-Azkarate et al. (2006) identifican en el mono aullador de manto (*A. palliata*) (N=17, 31 muestras) una asociación positiva entre los niveles de testosterona con el número de machos solitarios cercanos (Cristóbal-Azkarate et al., 2006). Con respecto *A. caraya* hay sólo un estudio

realizado por Moreland et al. (2001) en 3 machos adultos y 3 machos juveniles (N= 6, 450 muestras) en cautiverio, donde no encontraron diferencias significativas en las concentraciones de testosterona en las heces entre adultos (4.21 ± 0.69 ng/g) y juveniles (3.11 ± 0.65 ng/g). Si bien se observaron picos de hormonas en dos juveniles, los autores lo asociaron con las condiciones de cautiverio de ese momento. Aunque la concentración de testosterona en juveniles no resulta diferente a la de los adultos, estos investigadores encontraron diferencias significativas en la calidad espermática (juveniles poseen una mayor cantidad de espermatozoides anormales y baja supervivencia) (Moreland, Richardson, Lamberski, & Long, 2001). Si bien este estudio aporta información sobre la fisiología reproductiva en la ontogenia de *A. caraya*, no nos permite elaborar conclusiones sobre el rol de la testosterona durante el desarrollo e influencia en el comportamiento ya que se trata de individuos en cautiverio en condiciones de experimentación.

Testosterona en el período juvenil

Además de los aspectos sociales (por ejemplo; dominancia y protección de pareja) relacionados con la expresión de testosterona, durante el período juvenil hay variaciones relacionadas con el desarrollo ontogénico. El patrón general en la secreción de testosterona previo a la madurez sexual está dado por valores elevados los primeros meses de vida, generado por las células de Leydig fetales (Fouquet, Meusy-Dessolle, & Dang, 1984). Luego los niveles de esta hormona descienden durante el período juvenil, y finalmente en el comienzo de la pubertad las concentraciones de testosterona vuelven a elevarse. Este patrón ha sido observado en algunos primates no humanos (*M. mulatta* (Mann, Gould, Collins, & Wallen, 1989); *P. cynocephalus* (Gesquiere et al., 2005); *Saguinus oedipus* (Ginther et al., 2002)).

En los análisis realizados en individuos inmaduros de babuino amarillo (*P. cynocephalus*) (Gesquiere et al., 2005) (N= 81 machos/69 hembras) silvestres, encuentran que los niveles de testosterona en las heces disminuyen entre la infancia y el período juvenil y vuelven a aumentar en la adolescencia previamente al momento que se da el aumento en el tamaño testicular (infantes 1-2 años: 0.32 ng/g; juveniles 3-5 años: 0.23 ng/g; adolescentes 6-7 años: 0.28 ng/g). De forma similar en los estudios de Ginther et al. (2002) en tití cabeza blanca (*Saguinus oedipus*) en cautiverio (N=10), encuentran que entre el primer y segundo mes de vida las concentraciones de testosterona son elevadas, para luego disminuir durante el período juvenil y finalmente comenzar incrementarse al año y medio de edad dando paso a la pubertad (Ginther et al., 2002).

El final del período juvenil en primates se caracteriza por cambios comportamentales, morfológicos, neurológicos y endócrinos, junto con el desarrollo de caracteres sexuales distintivos. Esta etapa está caracterizada por un incremento en la liberación de hormona liberadora de gonadotrofina por el hipotálamo lo que causa un enorme incremento en LH y FSH, resultando en un crecimiento testicular, producción de andrógenos gonadales y la iniciación de la espermatogénesis (Plant & Witchel, 2006; van Belle, 2015). Por ejemplo, Clarke et al. (2009) describen los perfiles hormonales en juveniles silvestres de mono aullador de manto (*A. palliata*) (N=19 machos/13 hembras) en México, y encuentran un aumento considerable en la concentración de testosterona fecal solo en los machos, en la última etapa de su período juvenil -a los 3 años de edad- (1 año: 19.31 ± 7.43 pg/ml ; 2 años: 24.76 ± 13 pg/ml; 3 años: 70.44 ± 55.16 pg/ml) (Clarke et al., 2007). De forma similar, Jack et al. (2014) en sus estudios en mono capuchino (*C. capucinus*) silvestres (N= 37 machos, 163 muestras) en Costa Rica encontraron que los niveles de testosterona fecal se mantuvieron basales durante la infancia y el período juvenil (de 0 a 6 años: 2.5 ng/g), y sufrieron un aumento en la pubertad (entre 6-10 años: 5.9 ng/g), estos valores se mantuvieron en machos adultos subordinados y aumentaron considerablemente en el macho alfa (69.7 ng/g). Los autores sugieren que los niveles de testosterona dependen de la etapa en la historia de vida y en el caso de los adultos del rango de dominancia (Jack et al., 2014). También, Robbins & Czekala (1997) encontraron en gorilas (*G. gorilla*) (N=18 machos) que en la adolescencia (10 años de edad) los niveles de testosterona en la orina son similares a los de la adultez (infantes y juveniles: 50 ng/ml; adolescentes: 100 ng/ml; adultos: 120 ng/ml). El estudio realizado por Anestis (2006) en chimpancés (*Pan troglodytes*) juveniles y adolescentes (N=16 machos) en cautiverio también observó un aumento en los niveles de testosterona en la orina con la edad (4 años: 100 ng/ml; 7 años: 150 ng/ml; 9 años: 200 ng/ml). En este estudio también se encontró una asociación positiva entre las concentraciones de testosterona y la cantidad de comportamientos agonistas (Anestis, 2006).

En este capítulo se exploró la expresión de hormonas sexuales en machos de *A. caraya* con la descripción de los perfiles testosterona durante el período juvenil. Esta nueva información aportará un enfoque más amplio sobre cómo se llega a la adultez en cuanto a la expresión hormonal y los comportamientos asociados durante el desarrollo. En primer lugar, describimos los perfiles hormonales de los 7 machos juveniles de *A. caraya*, en los cuales analizamos las concentraciones de testosterona de cada macho durante un año. Luego analizamos como es la relación entre la expresión de estas hormonas y los comportamientos sexuales, agresivos y juego rudo.

Para evaluar estas preguntas particulares se pusieron a prueba las H4 y H5 (Capítulo I):

H4. *El aumento en el nivel de testosterona a lo largo del período juvenil en los machos está asociado a un aumento en los comportamientos sexuales relacionados con el desarrollo de comportamiento típico de machos adultos en esta especie.*

- ❖ P. En los machos juveniles los aumentos en la duración de comportamientos socio-sexuales hacia las hembras adultas (inspección de genitales, intentos de cópula) se producirán se producirán simultáneamente con aumentos en los niveles de testosterona.

H5. *El aumento en el nivel de testosterona a lo largo del período juvenil en los machos está asociado a un aumento en los comportamientos agresivos y de juegos rudos relacionados con el desarrollo de comportamiento típico de machos adultos en esta especie.*

- ❖ P. En los machos juveniles los aumentos en la duración de comportamientos agresivos y juegos rudos se producirán simultáneamente con aumentos en los niveles de testosterona.

5.2. Métodos

La metodología general de colecta y procesamiento fue descripta en capítulo II. Para estimar la relación entre los niveles de hormona y los diferentes comportamientos utilizamos dos metodologías:

Por un lado, en los casos que la frecuencia de eventos fue muy baja (comportamientos sexuales) empleamos estadística descriptiva. En este caso se observó la concentración de hormona el día posterior a la observación del evento, sin embargo, en los casos que no se contaba con la muestra de orina indicada se observó la concentración de testosterona de días cercanos a la observación del evento.

Por otro lado, para estimar la relación entre comportamientos agresivos y juegos rudos con los niveles de testosterona realizamos GLMMs con la función *glmmTMB* del paquete de R “glmmTMB” (Bolker, 2018). La variable dependiente (VD) es la proporción de tiempo dedicado al comportamiento (modelo 1: tiempo dedicado a comportamiento agresivo (seg)/tiempo de observación total (seg) para cada individuo x mes; modelo 2: tiempo dedicado a juego rudo (seg)/tiempo de observación total (seg) para cada individuo x

mes). Los efectos fijos consistieron en la concentración de testosterona ng/ml/SG (corregido por la gravedad específica de la orina) (ver capítulo II). Los efectos aleatorios son los individuos anidados en grupos (Tabla 5.1). Debido a que la variable respuesta consiste en una proporción se realizaron GLMMs con la familia “beta” (función de enlace: “*logit*”) (Bolker et al., 2009). Como la función de enlace “logit” no está definida para los valores de 0 y 1 debió emplearse una corrección de la VD ($VD' = (VD \times (n-1) + 0.5)/n$; donde n es el número de datos total) (Smithson & Verkuilen, 2006). El efecto fijo testosterona (T) fue centrado y estandarizado para el análisis (T_{st}). El ajuste del modelo se evaluó utilizando un test de razón de máxima verosimilitud (LRT), para ello compramos modelos con variaciones en un efecto fijo, este análisis es válido teniendo en cuenta que en todas las comparaciones los efectos aleatorios son los mismos (individuo anidado en grupo) (Bolker et al., 2009). La no-correlación entre efectos fijos y la homogeneidad de residuos también fue verificada gráficamente (qq-plot y grafico de efectos fijos versus residuos). Todos los análisis estadísticos fueron realizados con R a través de la plataforma R-studio, versión 3.2.1 (R Core Team, 2016). La significancia estadística fue fijada en 0.05 para todas las interpretaciones.

Tabla 5.1. Resumen de variables utilizadas en los modelos de GLMM.

VARIABLE	DEFINICIÓN
Variable dependiente (VD')	
M1: agresivo (AGR)	Continua: min=0.003; máx.=0.011; $\bar{X}$ =0.004±0.01
M2: Juego rudo (JS)	Continua: min= 0.003; máx.=0.18; $\bar{X}$ =0.04 ±0.05
Variables independientes	
Efectos fijos*	
T (ng/ml/SG)	Continua: min=35.44; máx.= 1171.6; $\bar{X}$ =215.6±197.2
T _{st}	Continua: min=-0.91; máx.=4.85; $\bar{X}$ =0±1
Efectos aleatorios	
Individuo	Factor: 7 niveles (Feo, Bongó, Rodrigo, Samba, Silvio, Huevo)
Grupo	Factor: 4 niveles (Hu, HN, Al, CN)

5.3. Resultados

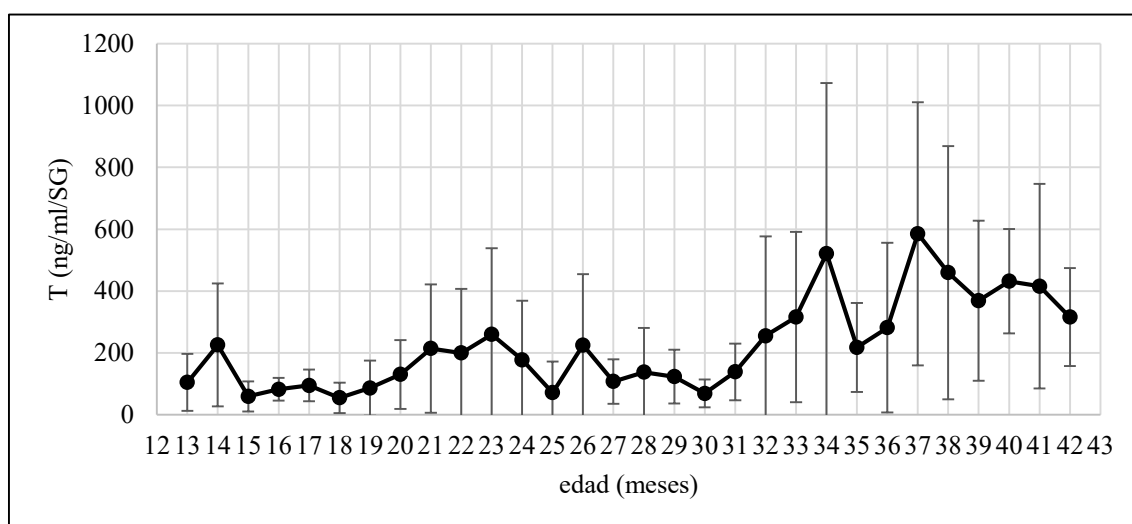
Se determinaron los perfiles de testosterona de 7 machos a partir de 479 muestras colectadas (Tabla 5.1, todos los valores de testosterona reportados se expresan en ng/ml/SG). En términos generales, se observa un aumento en la concentración de testosterona con la edad (Figura 5.1). Lo cual se observa en la comparación entre las dos categorías de edad (J1: 147 ± 164 ng/ml/SG vs. J2: 278 ± 315 ng/ml/SG).

Tabla 5.2. Número de muestras de orina analizadas para cada macho juvenil y concentraciones promedio de testosterona. DE: corresponde al desvío estándar.

Macho	Edad Categ.	Edad Meses*	Grupo	N muestras	T± (DE) (ng/ml/SG)	Rango (min.-máx.)
Feo	J2	29	Al	69	237.2±238.5	29-1263.8
Bongó	J2	30	HN	66	507.2±307.3	82.4-1478.9
Rodrigo	J2	24	CN	71	136.9±143.7	12.5-794
Samba	J2	24	Hu	63	241.6±403.6	10.2-2103.1
Caramelo	J1	18	Hu	73	106.2±87.1	4.8-562
Silvio	J1	14	CN	71	162.3±199.6	3-1186.5
Huevo	J1	13	Al	66	176.8±180.7	4.2-813.8

* edad aproximada en meses al comienzo del estudio.

Figura 5.1. Relación entre los niveles de testosterona y la edad en meses.



Las barras de error son el desvío estándar y los puntos a los valores promedio de hormona para cada edad (en meses).

Perfiles hormonales

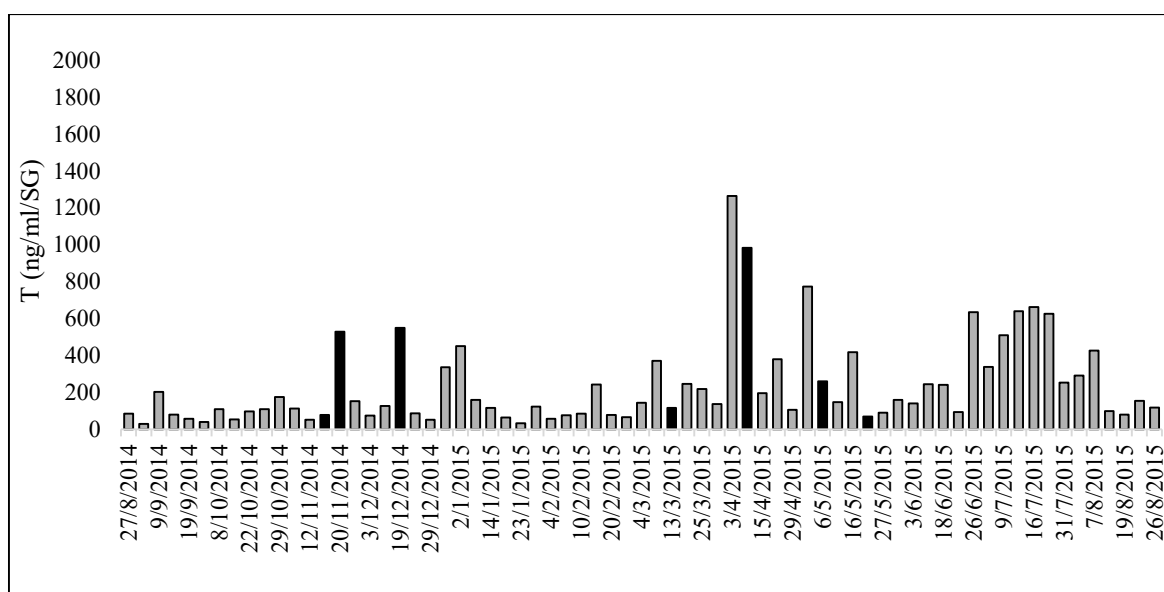
A continuación, se describen los perfiles hormonales de los 7 machos juveniles y se detallan las concentraciones de testosterona los días que se observaron comportamientos sexuales:

Feo:

El estudio comenzó cuando este individuo tenía 29 meses de edad. A los 37 meses se registraron algunos picos de hormona, y entre los 39 y 40 meses (3.5 años) los niveles de testosterona duplicaron las concentraciones iniciales (29-30 meses) (Figura 5.2). Feo presentó 7 eventos de comportamientos sexuales todos en distintos días. Estos comportamientos consisten en su totalidad en inspecciones de genitales de hembras adultas. En el análisis cualitativo de los gráficos en algunos casos no se encontró una asociación entre la aparición de estos comportamientos y niveles altos de testosterona. Por ejemplo; el día 13/3/2015 la concentración fue 116.7 ng/ml/SG (cinco días después fue de 245.3 ng/ml/SG).

Algo similar ocurrió el 21/5/2015 cuando la concentración era de 69.2 ng/ml/SG (cinco días después era de 90 ng/ml/SG). En otros casos los comportamientos sexuales sí parecían coincidir con momentos en que la concentración de testosterona fue más elevada. Por ejemplo, un comportamiento sexual fue registrado el día 18/12/2014 y al día siguiente la concentración fue de 549 ng/ml/SG, de forma similar el día 9/4/15 se registró un evento de comportamiento sexual, y la concentración fue de 983.5 ng/ml/SG.

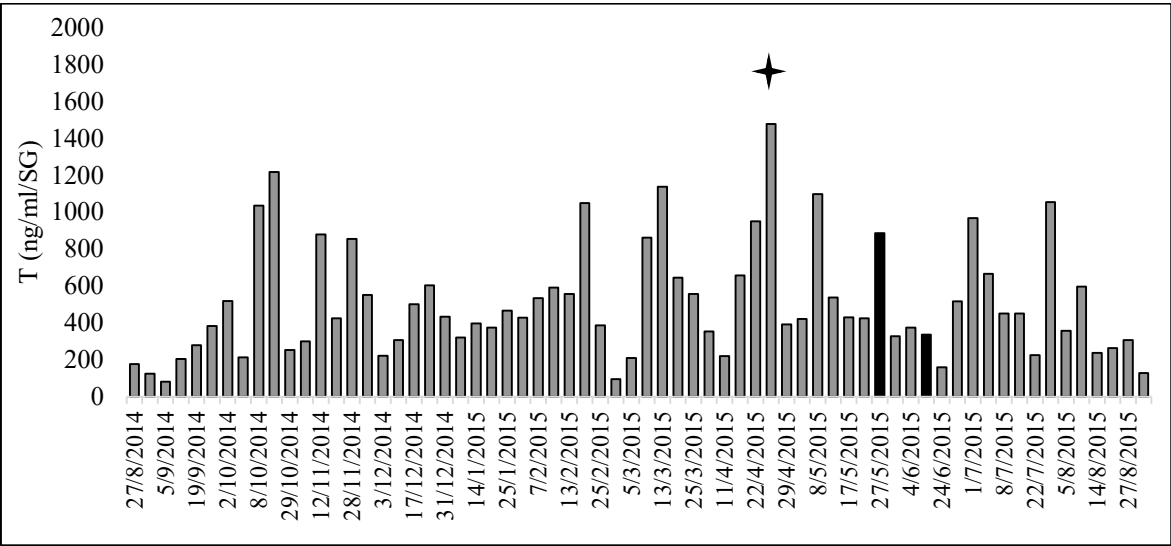
Figura 5.2. Perfil de Testosterona (ng/ml/SG) de Feo. En negro son los días que se observaron comportamientos sexuales



Bongó:

El estudio comenzó cuando Bongó tenía 30 meses. Este individuo presentó las concentraciones más altas de testosterona en general (Tabla 5.1, Figura 5.3). Sin embargo, solo presentó 4 eventos de comportamiento sexuales. El día 27/5/2015 se registraron 3 eventos de intento de cópulas, la concentración de testosterona en la orina registradas el día siguiente fue de 886.1ng/ml/SG. Por otro lado, en el mes de abril se observó un proceso de recambio de macho central en su grupo (Hembra Negra). En particular el día 23/4 se observó una pelea entre el macho central (Djembé) y un intruso (Charles), este día Bongó registró sus valores de testosterona más elevados en todo el estudio (1478.9 ng/ml/SG). La semana siguiente 28 y 29 de abril el grupo tenía un nuevo macho central “Charles”, a Djembé no se lo volvió a ver, esta semana (29/4) las concentraciones de testosterona volvieron a bajar (392.7 ng/ml/SG) (Para más detalle ver anexo 2).

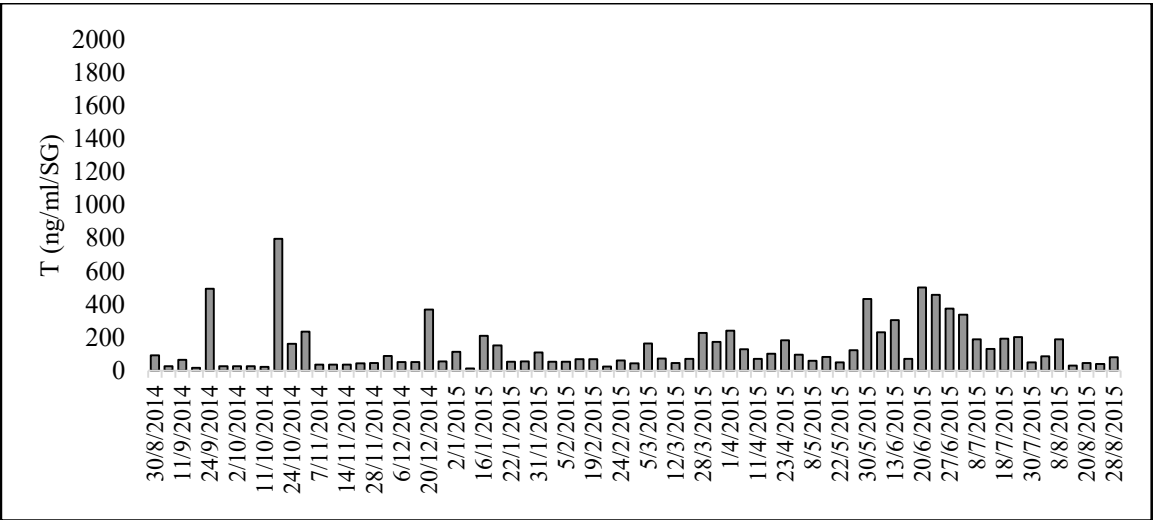
Figura 5.3. Perfil de Testosterona (ng/ml/SG) de Bongó. En negro son los días que se observaron comportamientos sexuales. La cruz representa el día de recambio de macho central (ver texto).



Rodrigo:

Cuando se comenzó con este estudio Rodrigo tenía 2 años (24 meses). Aunque se trata de un juvenil J2, este individuo presentó concentraciones de hormona relativamente baja durante todo el estudio. Además, no presentó ningún comportamiento sexual (Figura 5.4).

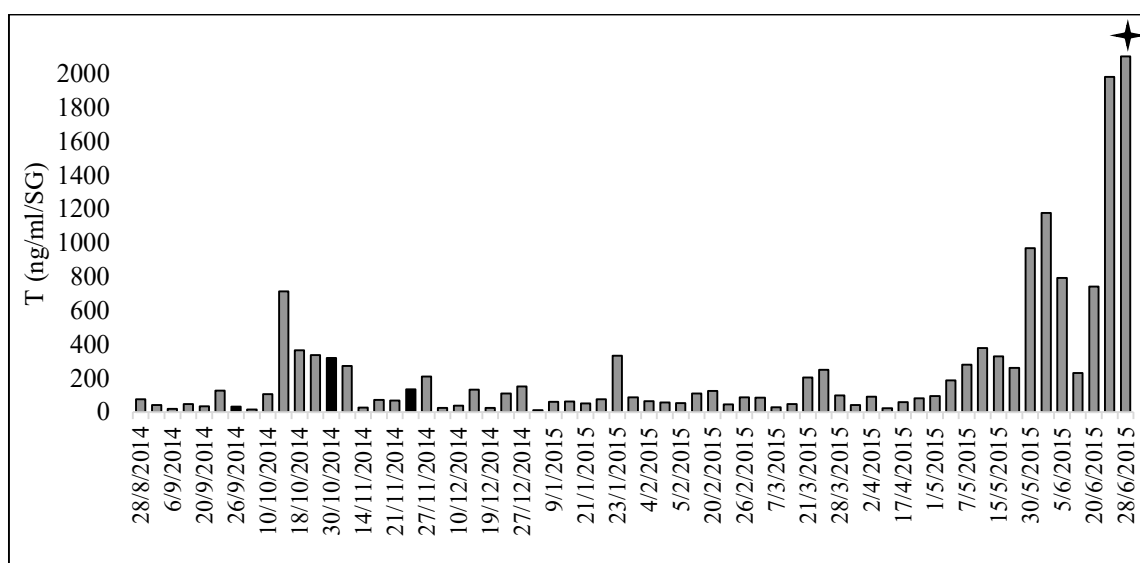
Figura 5.4. Perfil de Testosterona (ng/ml/SG) de Rodrigo.



Samba:

En el comienzo de este estudio este individuo tenía 2 años (24 meses), en los últimos meses se registraron las concentraciones de testosterona más altas de todos los individuos. Pero es importante destacar que el día 28/6/2015 (día con la máxima concentración: 2103.1 ng/ml/SG) es cuando murió (posiblemente de neumonía, ver anexo 1), por lo cual estos datos pueden resultar elevados en relación al estado de salud deteriorado. Los días en los cuales se registraron eventos de comportamiento sexual no se obtuvieron concentraciones particularmente altas de testosterona; el día 5/10/2014 montó a una hembra adulta, el día anterior se registró una concentración de 14.2 ng/ml/SG y cinco días después de 104.5 ng/ml/SG; además en tres ocasiones se registraron inspección de genitales; el día 30/10/2014 con concentraciones de 319.2 ng/ml/SG; el 10/11/2014 con concentraciones 26.1 ng/ml/SG (3 días después); y el 26/12/2014 con 109.2 ng/ml/SG (el día siguiente) (Figura 5.5).

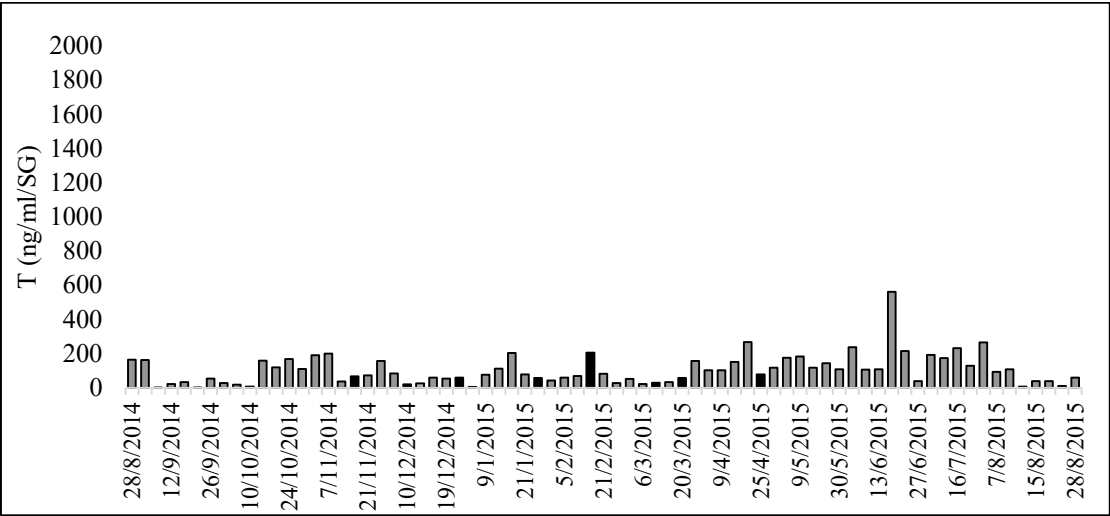
Figura 5.5. Perfil de Testosterona (ng/ml/SG) de Samba. En negro los días que se observaron comportamientos sexuales, la cruz representa el día de su muerte.



Caramelo:

Este individuo es uno de los que presentó las concentraciones más bajas de testosterona (Tabla 5.1), sin embargo, fue el juvenil con más comportamientos sexuales (N=13). En particular, los días 20/02/2015 y 15/5/2015 presentó cópulas, y la concentración de testosterona de esos días fue de 205.9 ng/ml/SG y 116.1 ng/ml/SG respectivamente, Además el día 20/3/2015 presento 5 intentos de cópula, ese día las concentraciones fueron de 56.2 ng/ml/SG (Figura 5.6).

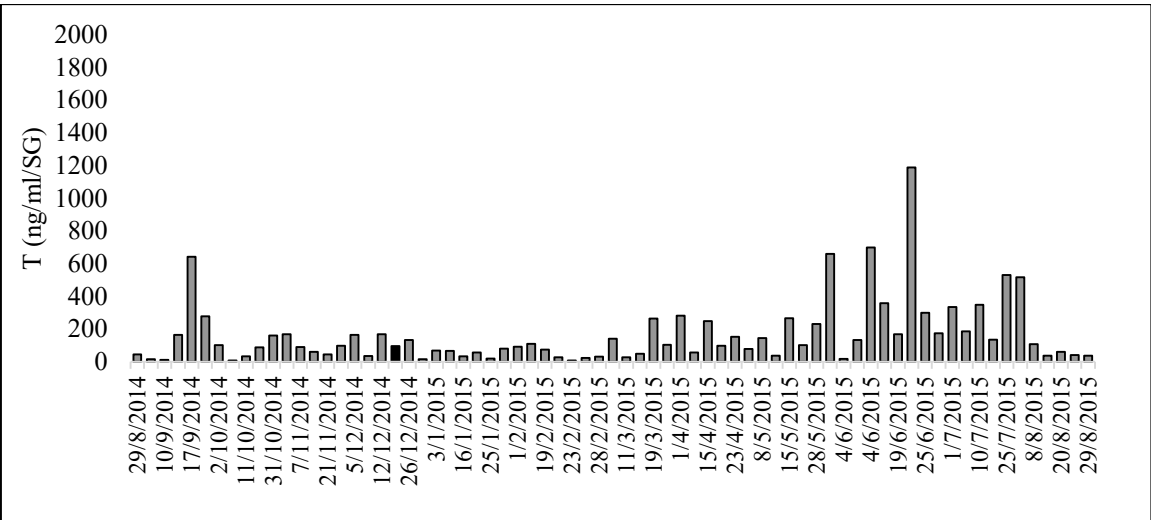
Figura 5.6. Perfil de Testosterona (ng/ml/SG) de Caramelo. En negro los días que se observaron comportamientos sexuales.



Silvio:

Este individuo no presentó concentraciones particularmente altas de testosterona (Tabla 5.1). Sólo desplegó un evento de comportamiento sexual que consistió en una inspección de genitales de una hembra adulta, ese día la concentración de testosterona fue de 96.2 ng/ml/SG. A los 2 años (24 meses) (mayo 2015) se puede observar una tendencia a aumentar las concentraciones de testosterona (Figura 5.7).

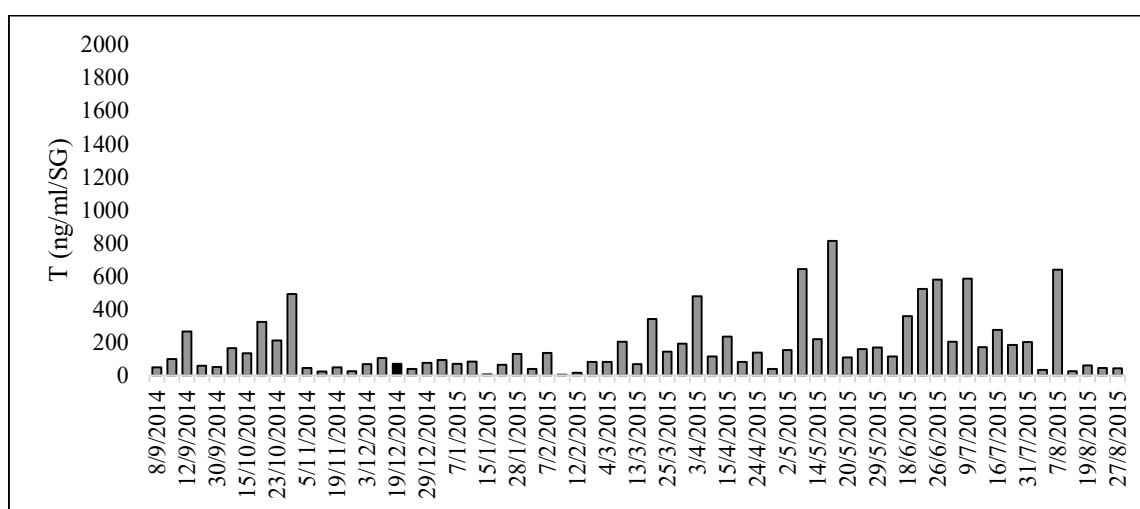
Figura 5.7. Perfil de Testosterona (ng/ml/SG) de Silvio. En negro el día que se observaron comportamientos sexuales.



Huevo:

Era el individuo más joven del estudio, comenzó teniendo un año (13 meses). Solo presentó un evento de comportamiento sexual que consistió en una inspección de genitales, ese día la concentración de testosterona fue de 70.3 ng/ml/SG. Aunque presentó valores relativamente bajos durante todo el estudio, de forma similar al caso anterior (Silvio) la concentración de testosterona comenzó a aumentar entre los 21 y 22 meses de edad (mayo-junio 2015) (Figura 5.8).

Figura 5.8. Perfil de Testosterona (ng/ml/SG) de Huevo. En negro el día que se observaron comportamientos sexuales



Relación entre los niveles de hormona y comportamientos.

Comportamiento agresivo y juego rudo

En el análisis de GLMM de comportamientos agresivos (M1) y testosterona no se encontró una correlación significativa (Tabla 5.3). El modelo seleccionado es el nulo (Tabla 5.4), es decir la testosterona no tiene efecto en la proporción de tiempo dedicada a los comportamientos agresivos. En el caso del comportamiento de juego rudo (M2), el análisis de GLMM exhibió una correlación negativa entre la proporción dedicada a este comportamiento y la concentración de testosterona (Tabla 5.3). Como es de esperarse, en la selección de moldeo por LRT (Tabla 5.4), se concluyó que el modelo óptimo es aquel que tiene T como efecto fijo ($JS = T + (1|\text{individuo/grupo})$) (estimado = -0.28 ± 0.11 , $df=5$; $p=0.01$) (Tabla 5.3). Este modelo expresa que un aumento de testosterona en 197.18 ng/ml/SG (un

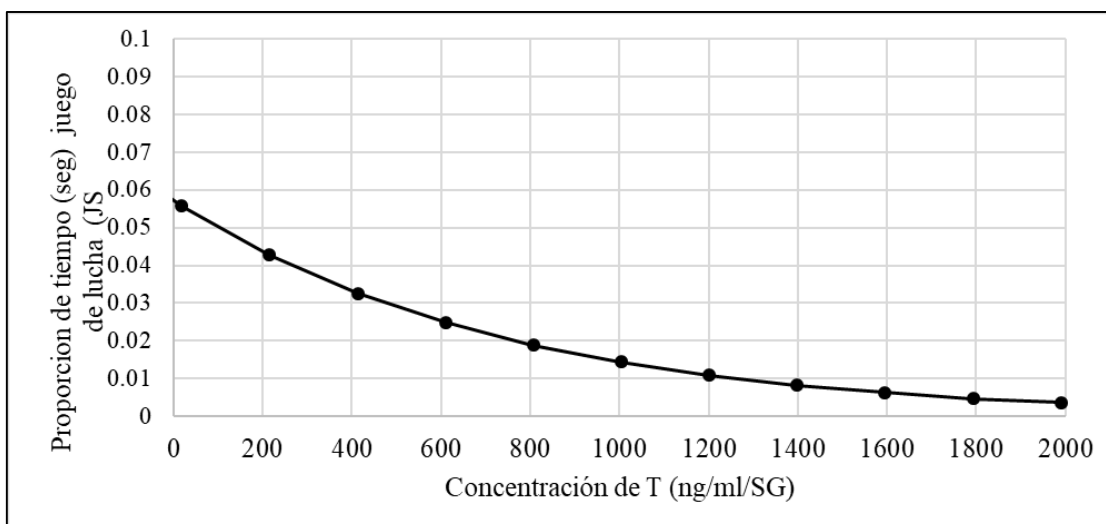
desvío estándar) produce una disminución promedio de 0.28 en la proporción de tiempo dedicada al juego rudo (Figura 5.9).

Tabla 5.3. Resultados de GLMM de los modelos completos en la comparación entre comportamientos agresivos (AGR) y juego social rudo (JS) con la concentración de hormona (T)

MODELO	ESTIMADO	ERROR ESTANDAR	VALOR Z	VALOR P
M1: AG=T+(1 individuo/grupo)				
<i>intercepto</i>	-5.39	0.05	-118.68	0.00***
T _{st}	-0.02	0.04	-0.48	0.629
Desvío estándar de los efectos aleatorios:8.7e-7				
M2: JS= T+(1 individuo/grupo)				
<i>intercepto</i>	-3.11	0.13	-23.58	0.00***
T _{st}	-0.28	0.11	-2.53	0.01*
Desvío estándar de los efectos aleatorios:				

Intercepto: corresponde al valor del comportamiento (AGR o JS) cuando los niveles de hormona están en su valor promedio (T= 215.58ng/ml/SG).

Figura 5.9. Disminución en la proporción de tiempo dedicada al juego social rudo (JS) en función de los niveles de T según el modelo GLMM seleccionado, con la siguiente función (familia: *beta*, enlace “*logit*”): JS= EXP (-3.11-0.28*T_{st}) /1+EXP(-3.11-0.28*T_{st})



Los análisis GLMM fueron realizados sobre los efectos fijos centrados y estandarizados (T_{st}), por lo cual T_{st}=0 corresponde a el valor de T cuando está en su valor promedio (215.6ng/ml/SG), y un valor de T_{st}=1, implica un aumento en 1 desvío estándar del valor promedio de T (215.1+197.2), con esto en cuenta se realizó el gráfico utilizando T no-centrados/ no-estandarizados.

Tabla 5.4: selección de modelo mediante test de razón de máxima verosimilitud (LRT)

MODELO	MÁXIMA VEROSIMILITUD	DEVIANZA	GL	Chi ²	Pr (Chisq)
M1: efecto de hormonas en comportamiento agresivo (AGR)					
Modelo completo					
AGR ~ T _{st}	431.3	-862.6			
Modelo nulo					
AGR ~ 1	431.2	-854.4	1	0.24	0.62
M2: efecto de hormonas en juego social rudo (JS)					
Modelo completo					
JS ~ T _{st}	199.9	-391.98			
Modelo nulo					
JS ~ 1	196	-391.98	1	7.82	0.005**

5.4. Discusión

De forma similar a los resultados en hormonas sexuales de hembras (Capítulo IV), vemos que los niveles de testosterona parecen aumentar con la edad. En particular es posible observar que a partir de los 2.5 años (31 meses) las concentraciones de esta hormona se incrementaron (Figura 5.8). Estos resultados coinciden con los patrones observados en otros primates juveniles (*P. troglodytes* (Anestis, 2006); *G. gorilla* (Robbins & Czekala, 1997); *C. capucinus* (Jack et al., 2014); *A. palliata* (Clarke et al., 2007)) en los cuales los incrementos de esta hormona anuncian el comienzo de la pubertad. En el caso de *A. palliata* la concentración de testosterona incrementa en un 64% entre los 2 y 3 años de edad (Clarke et al., 2007) de forma similar en *A. caraya* encontramos que entre el año y medio y los 2 años y medio la concentración de testosterona es un 60% mayor que al año y medio de edad. Estos resultados sugieren que a esta edad en *A. caraya* comienzan los cambios asociados a la pubertad, de forma similar a las hembras (Capítulo IV). Más aún, es posible que a los 32 meses en machos comience la segunda reactivación del eje hipotalámico-hipofisario-gonadal.

Testosterona y comportamientos sexuales.

Los resultados respecto a la relación entre testosterona y comportamientos sexuales en machos no apoyaron la hipótesis 4 (H4: “El aumento en el nivel de testosterona a lo largo del período juvenil en los machos está asociado a un aumento en los comportamientos sexuales relacionados con el desarrollo de comportamiento típico de machos adultos en esta especie”). Nuestros resultados sugieren que a diferencia de lo observado en adultos en varias especies de primates (*Eulemur fluvis rufous* (Ostner et al., 2002); *Macaca mulatta* (Bernstein et al., 1977; Rose et al., 1971); *M. tibetana* (Xia et al., 2015)), durante el período juvenil los

comportamientos sexuales no parecerían estar mediados por testosterona, o por lo menos no sería un factor de gran influencia, posiblemente porque los mecanismos neuronales que responden con comportamientos sexuales a las concentraciones de testosterona aún no están desarrollados.

De forma similar que lo sugerido para hembras juveniles (con la diferencia que los machos presentan muchos más eventos de comportamiento sexual que las hembras –capítulo III-), es posible que estos eventos estén asociados con aspectos de la dinámica del grupo pudiendo responder a una imitación de los machos adultos relacionado con un aprendizaje observacional y no a un comportamiento desencadenado por las hormonas.

Testosterona y comportamientos agresivos y juego rudo.

Con respecto a la relación entre la testosterona y los comportamientos no-sexuales, nuestros resultados rechazan la hipótesis 5 (H5: “El aumento en el nivel de testosterona a lo largo del período juvenil en los machos está asociado a un aumento en los comportamientos agresivos y de juegos rudo relacionados con el desarrollo de comportamiento típico de machos adultos en esta especie”). Por un lado, no se encontró una asociación entre testosterona y los comportamientos agresivos y, por otro lado, la tendencia encontrada en relación a la testosterona con el juego de rudo resultó ser opuesta a la esperada, es decir, el juego de rudo disminuye al aumentar los niveles de testosterona.

Los estudios en el género *Alouatta* hacen referencia a la relación de la testosterona con la composición del grupo asociado a la competencia entre-grupos (Cristóbal-Azkarate et al., 2006; Rangel-Negrín et al., 2011). Los estudios en adultos han demostrado que los machos pertenecientes a grupos uni-macho poseen niveles más elevados de testosterona que aquellos machos pertenecientes a grupos multi-machos (Rangel-Negrín et al., 2011). Nuestros resultados muestran una tendencia similar, es decir, los juveniles que presentan niveles más elevados de testosterona son aquellos que tienen menos machos en el grupo (contemplando independientemente las dos categorías de edad J1 y J2) (Tabla 5.5). Sólo el caso de Samba tiene concentraciones controvertidas ya que, de acuerdo a la composición del grupo, debería tener concentraciones más bajas que Rodrigo, pero lo supera ampliamente. Esto puede deberse a que el día que murió, Samba presenta valores excesivamente altos, si extraemos los valores de testosterona del día que murió y el día previo (por no tratarse de un individuo saludable), sus concentraciones son 182.5 ± 237.6 ng/ml/SG, una concentración promedio levemente mayor que el promedio presentado por Rodrigo. Posiblemente los niveles elevados de testosterona en Samba se deban a su deteriorado estado de salud (Anexo

1), considerando que esta hormona está en íntima interacción con el sistema inmune (Ahmed & Talal, 1990; Cutolo et al., 2004; Gettler, McDade, Agustin, Feranil, & Kuzawa, 2014).

Tabla 5.5. Concentración de Testosterona y su relación con la composición del grupo. Las flechas indican la variación en los niveles de Testosterona entre distintos individuos (para cada grupo etario; J1 y J2). Se observan valores más altos en individuos que pertenecen a grupos con menos machos en su composición.

Individuo	Edad (categoría)	Otros machos en el grupo	Testosterona ng/ml/SG	
Bongó	J2	1 macho adulto	507.2	↑
Feo	J2	1 macho adulto, 1 juvenil (Huevo)	237.2	
Samba*	J2	3 machos adultos, 1 juvenil (Caramelo)	241.6	
Rodrigo	J2	2 machos adultos, 1 juvenil (Silvio)	137	
Huevo	J1	1 macho adulto, 1 juvenil (Feo)	176.8	↑
Silvio	J1	2 machos adultos, 1 juvenil (Rodrigo)	162.3	
Caramelo	J1	3 machos adultos, 1 juvenil (Samba)	106.2	

*Las concentraciones de testosterona en Samba pueden estar elevadas debido a los valores de T del día que murió y el anterior, si no tenemos en cuenta estos valores su promedio es de 182.5 ± 237.6 ng/ml/SG.

Por otro lado, se ha observado que la presencia de machos externos se relaciona con niveles elevados de testosterona en machos adultos tanto en *Alouatta* (Cristóbal-Azkarate et al., 2006) como otros primates (*L. catta* (Cavigelli & Pereira, 2000); *P. verreauxi* (Brockman et al., 1998); *M. mualtta* (Rose et al., 1971); *C. vellerosus* (Teichroeb & Sicotte, 2008); *C. kuhlii* (Ross et al., 2004); *C. capucinus* (Schoof & Jack, 2013)). Es posible que esta sea una de las causas en el aumento de los niveles de testosterona en Bongó en la época de recambio de macho central (Figura 5.2). Como se trata de un solo individuo no fue posible realizar análisis estadísticos de cómo afecta este fenómeno en los niveles de hormona, pero se puede observar de forma cualitativa como en la época de recambio de macho, los niveles de testosterona aumentaron en Bongó y luego volvieron a descender.

Estos resultados sugieren que de forma similar a los hallazgos en adultos de otras especies del género *Alouatta*, durante el período juvenil en *A. caraya*, la testosterona también está asociada a aspectos de la estructura grupal y dinámica poblacional, sugiriendo que el mecanismo de protección del grupo mediado por testosterona parece surgir tempranamente en el desarrollo. Es decir, aquellos juveniles que pertenecen a grupos multi-macho presentan niveles de testosterona menores que los juveniles de grupos uni-macho, debido a que en estos últimos es mayor la probabilidad de ser desafiados por machos extra-grupo. De manera similar, nuestros resultados sugieren que los juveniles parecen responder con concentraciones de testosterona elevada a las amenazas de machos extra-grupo. En general,

las invasiones de machos extraños son períodos de tensión que implican una desestabilización grupal, con corridas, peleas entre machos aullidos y riesgo de infanticidio (Clarke, Zucker, & Glander, 1994; Kowalewski, 2007; Pavé et al., 2012). En resumen, tanto la composición del grupo social como la presencia de machos externos se relacionan con los niveles de testosterona en machos juveniles.

Con respecto al juego rudo, la relación negativa con la concentración de testosterona (Figura 5.8) resulta interesante ya que expresa resultados opuestos a los que se ha reportado en chimpancés (Nadler et al., 1987). Como observamos en el capítulo III, el juego es un comportamiento característico en juveniles que disminuye a medida que crecen y de manera inversa, al final del período juvenil hay un aumento en las concentraciones de testosterona. A la luz de estos resultados es posible que el aumento en los niveles de testosterona actúen disminuyendo el tiempo dedicado al juego debido a que estos incrementos en los niveles de hormona corresponden al segundo pico en el eje hipotalámico-hipofisario-gonadal el cual actúa modulando el desarrollo cerebral para dar paso a los comportamientos típicos de adultos (Cameron, 2004; Schulz & Sisk, 2006).

También es posible que otras hormonas, como la oxitocina y la vasopresina, estén vinculadas con este comportamiento. Además de la función de la oxitocina en la fisiología de la lactancia y el parto (Burbach et al., 2006) y la vasopresina en la vasoconstricción (Johnston, Newman, & Woods, 1981), se ha observado que ambas hormonas tienen un efecto neuromodulador en los comportamientos sociales en adultos, incluida la agresión, reconocimiento social y comportamientos afiliativos (Donaldson & Young, 2008; Goodson & Thompson, 2010; Ross & Young, 2009; Veenema, 2008). Además algunos experimentos en ratas de laboratorio hallaron relaciones entre estas hormonas y el juego social que sugieren una modulación por parte de estas hormonas en este comportamiento (Bredewold, Smith, Dumais, & Veenema, 2014; Taylor et al., 2012; Veenema, Bredewold, & De Vries, 2013). Es posible que estas hormonas también ejerzan un efecto en los comportamientos juveniles en *Alouatta caraya* por lo cual consideramos que es importante explorar en el futuro la relación entre este comportamiento y las hormonas oxitocina y vasopresina.

En resumen, los niveles de testosterona aumentan con la edad durante el período juvenil, en particular alrededor de los 31 meses de edad, nosotros sugerimos que a esta edad comienza la segunda reactivación del eje hipotalámico-hipofisario-gonadal. De forma similar a los hallazgos en hembras (Capítulo IV), durante el período juvenil las hormonas sexuales no modulan directamente los comportamientos sexuales, dado que posiblemente

aún no se ha terminado de completar el desarrollo en el sistema nervioso central (y los centros neuronales que responde con estos comportamientos a aumentos en testosterona). Con respecto a los comportamientos agresivos tampoco parece haber una relación directa con la concentración de hormona, sin embargo, nuestras observaciones sugieren que de forma similar a lo que se observa en adultos en el género *Alouatta*, ya en el período juvenil esta hormona se relaciona con la defensa del grupo e interacción con otros grupos. Y por último, de forma opuesta a lo esperado, es posible que la reactivación del eje hipotalámico-hipofisario-gonadal actúe (de forma leve) disminuyendo los comportamientos típicos de juvenil para dar paso a los comportamientos típicos de adulto, lo que explicaría en parte la relación negativa entre el juego rudo y los aumentos en testosterona.

5.5. Conclusiones

- En machos juveniles de *A. caraya* los niveles de testosterona se incrementaron con la edad, en particular a partir de los 2.5 años (31 meses). A esta edad comenzaría la reactivación de eje hipotalámico-hipofisario-gonadal.
- No hubo una relación fuerte entre la concentración de testosterona y los comportamientos sexuales.
- No se observó relación entre los niveles de testosterona y comportamientos agresivos.
- Existió una relación entre los niveles de esta hormona y la composición del grupo, siendo mayor en aquellos individuos pertenecientes a grupos uni-macho, de la misma forma la concentración de testosterona parece aumentar ante la presencia de machos solitarios extra-grupo.
- Se encontró una relación negativa entre los niveles de testosterona y juego rudo, sugiriendo que la activación del eje hipotalámico-hipofisario-gonadal actúa reduciendo la ocurrencia de los comportamientos típicos de juvenil para dar paso a los comportamientos de adulto.

Capítulo VI

Cortisol: metabolismo del estrés en el período juvenil

6.1. Introducción

En los capítulos anteriores exploramos los cambios en el comportamiento a lo largo del período juvenil (capítulo III) y los perfiles de hormonas sexuales en machos y hembras juveniles de *A. caraya* (capítulos IV y V). Con el fin de explorar si los cambios en el comportamiento y en las hormonas sexuales a lo largo del período juvenil también se observan en el metabolismo del estrés, en este capítulo analizamos los perfiles de cortisol de los 13 juveniles (7 machos y 6 hembras).

Los glucocorticoides, en especial el cortisol, juegan un rol crítico en la estimulación de la gluconeogénesis y movilización de los aminoácidos y ácidos grasos de las reservas del cuerpo, por lo cual las demandas metabólicas del crecimiento corporal están asociadas al metabolismo del estrés (Sapolsky et al., 2000). El cortisol (y el eje hipotalámico-hipofisario-adrenal) está ampliamente relacionado en la mediación fisiológica en cada transición entre las etapas de la historia de vida. Esto se debe a que esta hormona tiene un rol fundamental en la regulación de la homeostasis energética en relación a los eventos de historia de vida “predecibles” por el individuo (por ejemplo; crecimiento, reproducción) (Crespi, Williams, Jessop, & Delehanty, 2013; McEwen & Wingfield, 2003).

El análisis de la actividad del eje hipotalámico-hipofisario-adrenal puede proveer información a nivel fisiológico sobre los desafíos energéticos del período juvenil. Esta etapa se caracteriza por aumentos en las tasas de crecimiento corporal (Leigh, 1994), en consecuencia debe tenerse en cuenta la importancia del cortisol en la disponibilidad de energía y como se relaciona con las demandas metabólicas durante el desarrollo (Byrne & Suomi, 2002; Gesquiere et al., 2005; Gómez-Espinosa et al., 2014). En particular en el período juvenil de *A. caraya* la tasa de crecimiento es 3 veces más elevada en machos que hembras (ver capítulo I).

Aunque la fisiología del estrés fue ampliamente estudiada en primates (por ejemplo la relación de glucocorticoides con factores sociales, ambientales o estado reproductivo) (para una revisión ver Beehner & Bergman, 2017) pocos estudios se concentraron en el período juvenil (*Papio cynocephalus*; (Castracane, Cutler, & Loriaux, 1981; Gesquiere et al., 2005), *Cebus apella*; (Byrne & Suomi, 2002); *Gorilla gorilla gorilla*; (Robbins &

Czekala, 1997)). En particular, en el estudio realizado por Gesquiere et al. (2005) en babuino amarillo (*P. cynocephalus*) de vida libre, encontraron que las diferencias sexuales en la concentración de cortisol fecal surgen en la etapa previa a la maduración sexual, cuando el cortisol disminuye en hembras, pero no en machos. Los autores sugieren que estas diferencias sexuales reflejan las necesidades metabólicas diferentes a lo largo del desarrollo, donde en machos hay un brote de crecimiento antes de la adultez, que no se observa en hembras (Gesquiere et al., 2005).

El objetivo de este capítulo fue analizar los perfiles de cortisol durante el período juvenil y explorar si existe alguna relación de la edad y el sexo con el metabolismo del estrés a lo largo del período juvenil en *A. caraya*. Para ello tendremos en cuenta la siguiente hipótesis (expresada en capítulo I):

H6. *La acción de los glucocorticoides está relacionada con los mecanismos fisiológicos de distribución de recursos energéticos durante el desarrollo, por lo cual el metabolismo del estrés responderá de distinta forma en relación a las tasas de crecimiento en ambos sexos durante el período juvenil.*

- ❖ P1. Los niveles de cortisol irán aumentando a lo largo del período juvenil
- ❖ P2. Los niveles de cortisol serán más elevados en machos que en hembras.

6.2. Métodos

La metodología general de colecta y procesamiento fue descrita en capítulo II. Para estimar la relación entre la concentración de cortisol con la edad y sexo de los juveniles se realizó un modelo lineal generalizado (GLMM), con la familia “gaussiana” (función de enlace: “identidad”) ajustado por máxima verosimilitud [REML] y mediante la aproximación de *satterthwaite* (para la obtención de los p-valores) (Bolker et al., 2009), utilizando la función *lmer* del paquete “lme4” (Bates, Maechler, Bolker, & Walker, 2015), el ajuste del modelo fue evaluado por *bootstrap* paramétrico (nsim=500) (Bolker, 2015), utilizando la función *PBmodcomp* del paquete “pbkrtest” (Halekoh & Højsgaard, 2014). Con este modelo analizamos el efecto de las variables independientes sexo, edad y su interacción (sexo x edad) (efectos fijos) en la variable dependiente continua uGC (cortisol urinario corregido por la gravedad específica), además fue considerado el individuo anidado en grupo como efecto aleatorio (Tabla 6.1). La no-correlación de los efectos fijos y la homogeneidad de residuos también fue verificada gráficamente (qq-plot y grafico de efectos fijos versus

residuos). Todos los análisis estadísticos fueron realizados con R a través de la plataforma R-studio, versión 3.2.1 (R Core Team, 2016). La significancia estadística fue fijada en 0.05 para todas las interpretaciones.

Tabla 6.1. Resumen de las variables del GLMM.

VARIABLE	DEFINICIÓN
Variable dependiente uGC (ng/ml/SG)	Continua: min=0.44; máx.=33.95; $\bar{X}$ =6.79±6.21
Variable independiente <i>efect</i> <i>fijos</i>	
Sexo	Factor: 2 niveles (M, H)
Edad	Cuantitativo/discreta: min=12; máx.=41; $\bar{X}$ =29.18±6.41)
<i>Efectos aleatorios</i>	
Individuo	Factor: 13 niveles
Grupo	Factor: 4 niveles (Al, HN, CN; Hu)

6.3. Resultados

Se determinaron los perfiles de uGC de 13 juveniles a partir de 468 muestras de orina (36 muestras por individuo) (Tabla 6.2).

Tabla 6.2. Concentración promedio de uGC para cada juvenil de *A. caraya*. En todos los casos las unidades de uGC son ng/ml/SG, DE: corresponde al desvío estándar.

Individuo	Edad Sexo	Edad Meses*	Grupo	uGC ± (DE)	Rango (min.-máx.)
Feo	J2/M	29	Al	5.33±4.66	0.96-22.54
Bongó	J2/M	30	HN	7.16±5.99	0.68-33.93
Rodrigo	J2/M	24	CN	3.71±4.1	0.62-16.87
Samba	J2/M	24	Hu	9.76±8.57	0.54-33.95
Caramelo	J1/M	18	Hu	5.99±3.91	0.63-14.6
Silvio	J1/M	14	CN	13.88±8.05	2.29-30.59
Huevo	J1/M	13	Al	4.28±4.61	0.45-22.51
Almendra	J2/H	24	Hu	5.83±5.7	0.49-23.73
Gramínea	J2/H	29	Al	5.47±5.67	0.55-19.56
Quena	J2/H	29	HN	7.99±5.72	0.78-25.55
Vainilla	J1/H	18	Hu	5.17±4.84	0.5-16.62
Pepa	J1/H	14	Al	9.2±6.18	0.66-26.61
Calimba	J1/H	14	HN	4.97±3.44	0.44-17.01

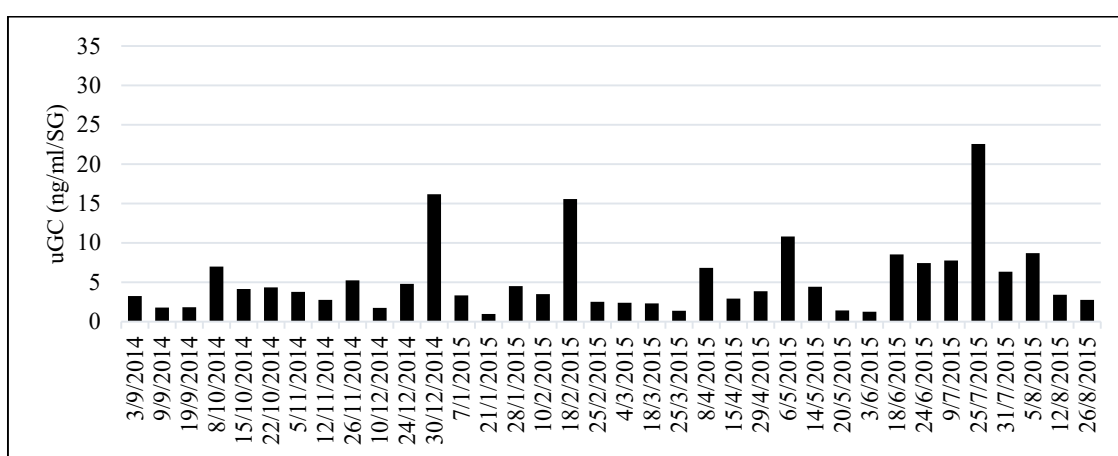
Perfiles individuales

A continuación, se exponen los perfiles de uGC de los 13 juveniles.

Feo:

El macho juvenil grande (J2) perteneciente al grupo Alicia, presentó algunos picos aislados de uGC los días 30/12/2014 18/2/2015 y 25/7/2015. En el perfil también se observa una tendencia a aumento en las concentraciones de esta hormona en los meses invernales (junio, julio y agosto de 2015).

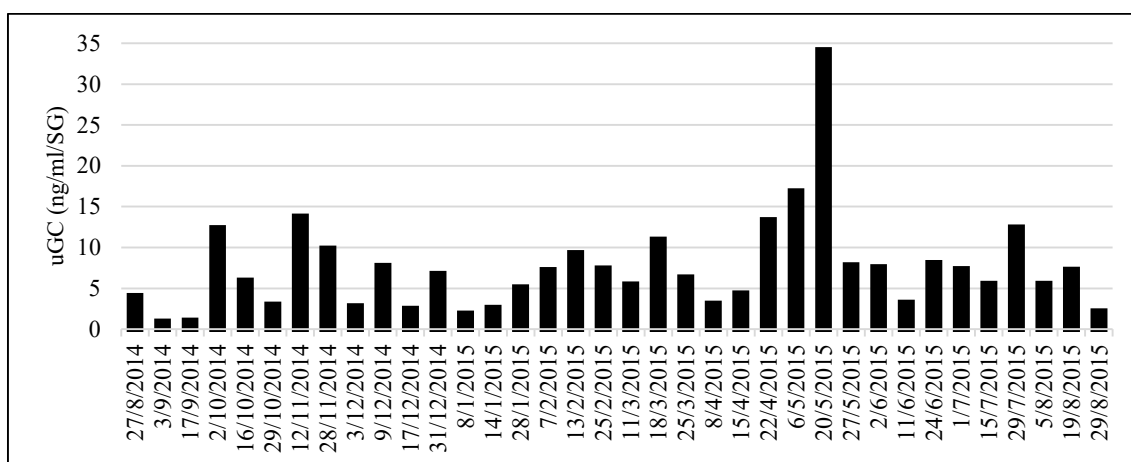
Figura 6.1. Perfil de uGC de Feo (ng/ml/SG).



Bongó:

Es un macho juvenil grande (J2) perteneciente al grupo Hembra Negra. Las concentraciones de cortisol fueron variables durante todo el año sin una observación de patrones claros. Sin embargo, se destaca aumentos en la concentración de uGC en los meses de abril y mayo que coinciden con la época en la cual hubo un recambio de macho central en el grupo hembra negra (anexo HN) (Figura 6.2).

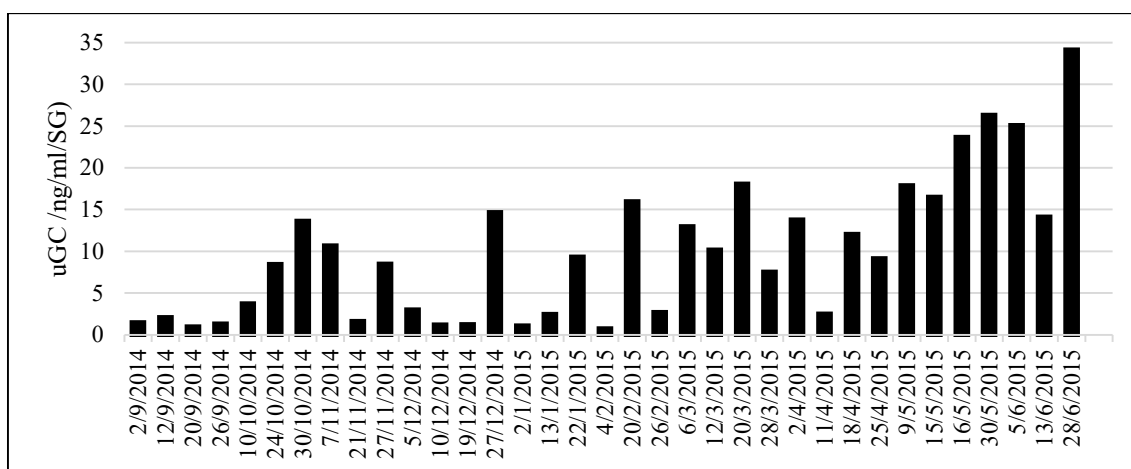
Figura 6.2. Perfil de uGC de Bongó (ng/ml/SG).



Samba:

En el macho juvenil grande (J2), perteneciente al grupo Huerta, se observó un aumento en las concentraciones de uGC a lo largo del año. Cabe destacar que la mayor concentración en uGC registrada corresponde al día de su muerte (28/6/2015) (Anexo 1).

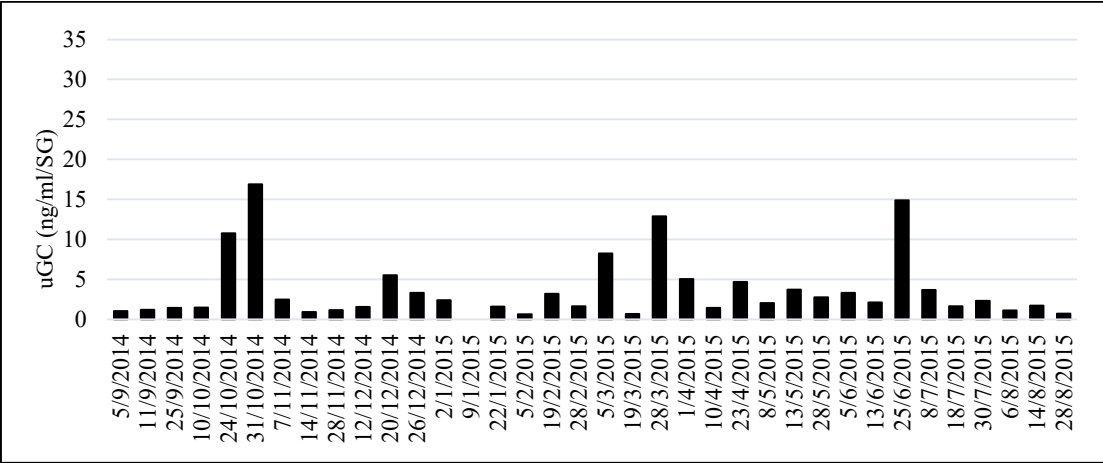
Figura 6.3. Perfil de uGC de Samba (ng/ml/SG) (Figura 6.3).



Rodrigo:

Este individuo es un macho juvenil grande (J2) que pertenecía al grupo Caravana Naranja. En general presentó concentraciones bajas de uGC con algunos picos los días 24/10/2014, 31/10/2014, 28/3/2015 y 25/6/2015 (Figura 6.4)

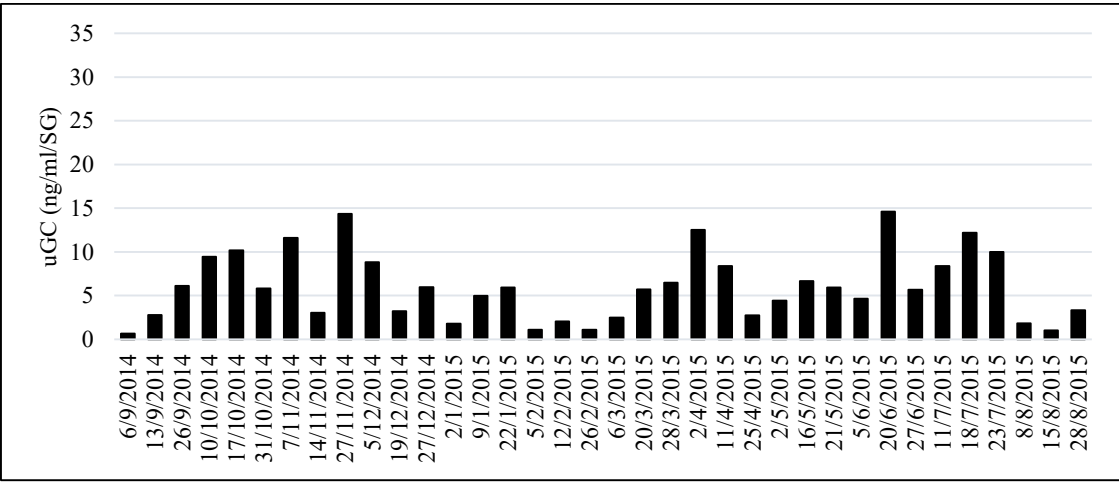
Figura 6.4. Perfil de uGC de Rodrigo (ng/ml/SG).



Caramelo:

Este macho juvenil chico (J1) perteneciente al grupo Huerta, presentó concentraciones variables de uGC a lo largo de año. Con algunas épocas en las cuales las concentraciones parecieron aumentar (por ejemplo, en noviembre del 2014 y en junio- julio 2015) (Figura 6.5).

Figura 6.5. Perfil de uGC de Caramelo (ng/ml/SG).

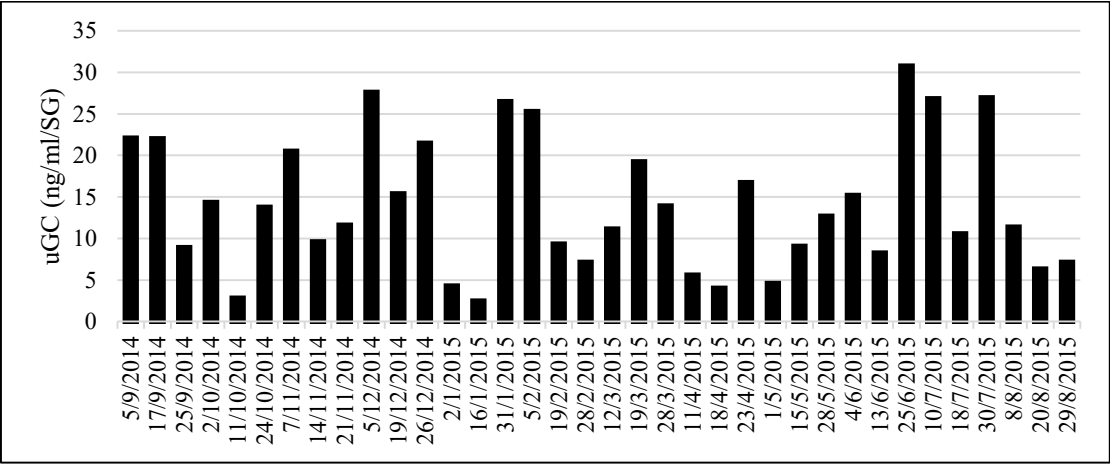


Silvio:

El macho juvenil chico (J1), del grupo Caravana Naranja, exhibió las concentraciones de uGC más elevadas en relación a los 13 juveniles estudiados. A diferencia del otro macho perteneciente al mismo grupo (Rodrigo) se observan muchos picos con algunas

disminuciones en la concentración de uGC (por ejemplo; los días 2/1/2015 y 16/1/2015 la concentración de uGC bajaron) (Figura 6.6).

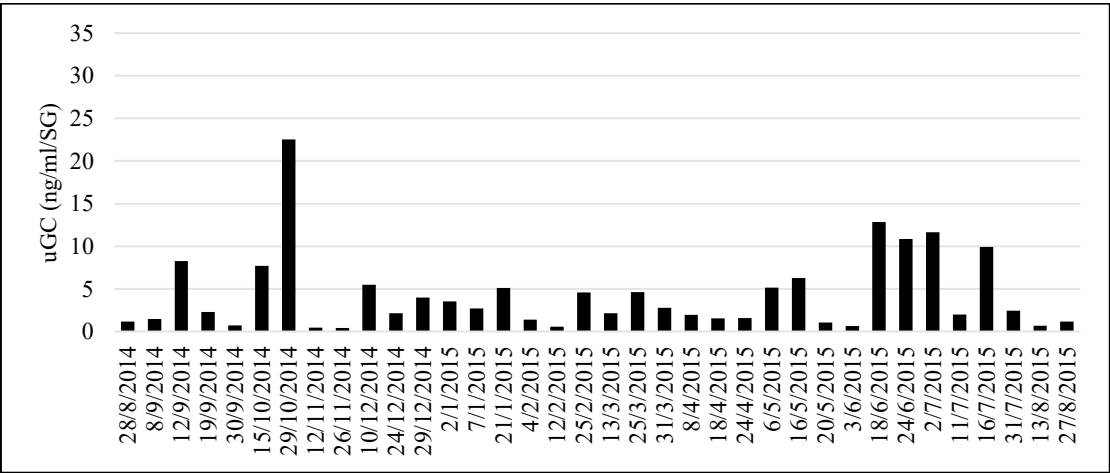
Figura 6.6. Perfil de uGC de Silvio (ng/ml/SG).



Huevo:

El macho juvenil chico (J1) perteneciente al grupo Alicia (igual que Feo), de forma similar a los perfiles de Feo y Rodrigo, presentó con concentraciones bajas en general y algunos picos, en particular se observa un pico el 29/10/2014 y varios picos en junio y julio (Figura 6.7).

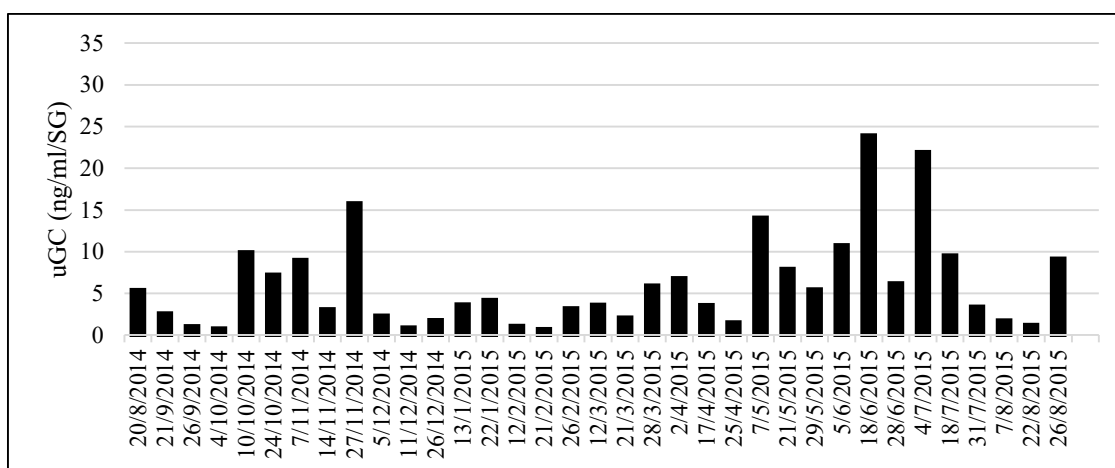
Figura 6.7. Perfil de uGC de Huevo (ng/ml/SG).



Almendra:

La hembra juvenil grande (J2) perteneciente al grupo Huerta, exhibió algunos picos en los meses de noviembre del 2014 y una tendencia a incrementar con la edad (en particular se observan picos los días 18/6/2015 y 4/7/2015) (Figura 6.8).

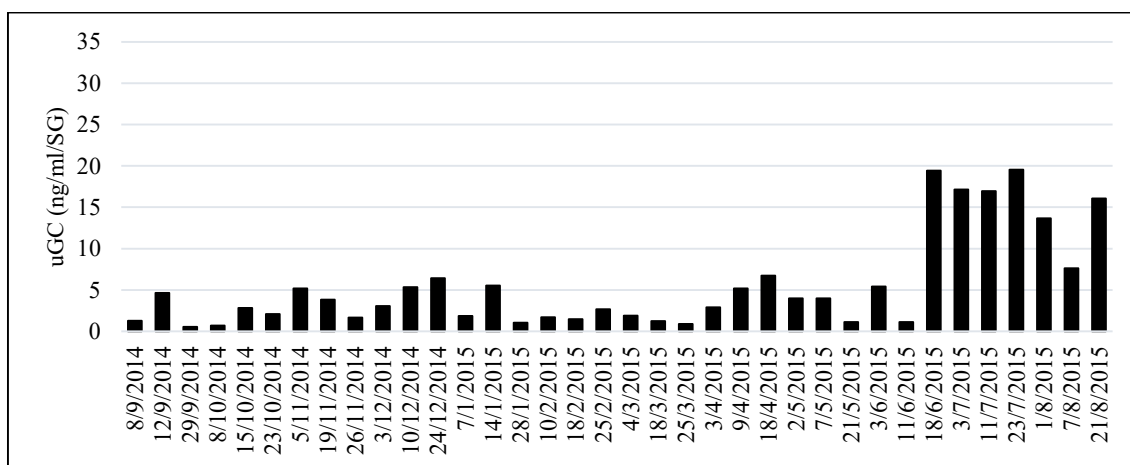
Figura 6.8. Perfil de uGC de Almendra (ng/ml/SG).



Gramínea:

Hembra juvenil grande (J2) perteneciente al grupo Alicia. En este individuo se observaron aumentos los últimos meses de estudio (julio y agosto 2015) (Figura 6.9).

Figura 6.9. Perfil de uGC de Gramínea (ng/ml/SG).

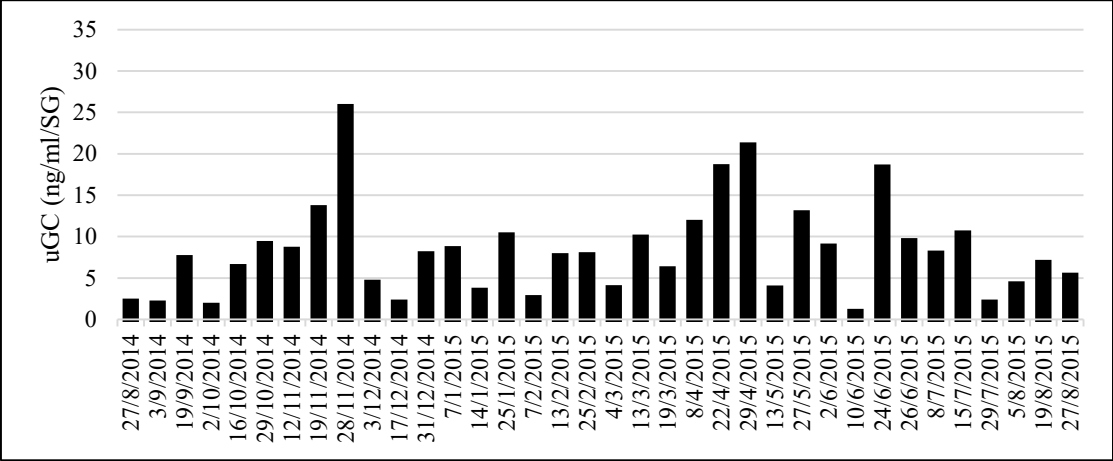


Quena:

Hembra juvenil grande (J2) perteneciente al grupo Hembra Negra. En este individuo se observó aumentos en dos épocas, durante noviembre 2014 y en abril de 2015, esta segunda

coincidió con la época de recambio de macho central que sufrió este grupo (Anexo 2) (Figura 6.10).

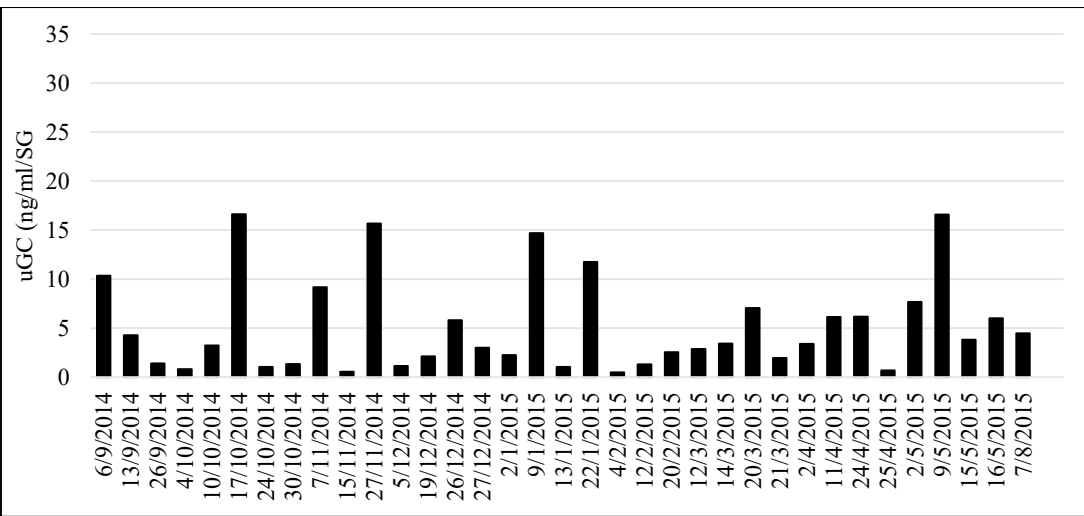
Figura 6.10. Perfil de uGC de Quena (ng/ml/SG).



Vainilla:

Hembra juvenil chica (J1) perteneciente al grupo Huerta. Este individuo exhibió en general concentraciones bajas con picos en distintos momentos del año. Vainilla abandonó el grupo en mayo de 2015, por lo cual contamos con datos hasta el día 16/5/15 y n registro aislado el día 7/8/2015 (Figura 6.11).

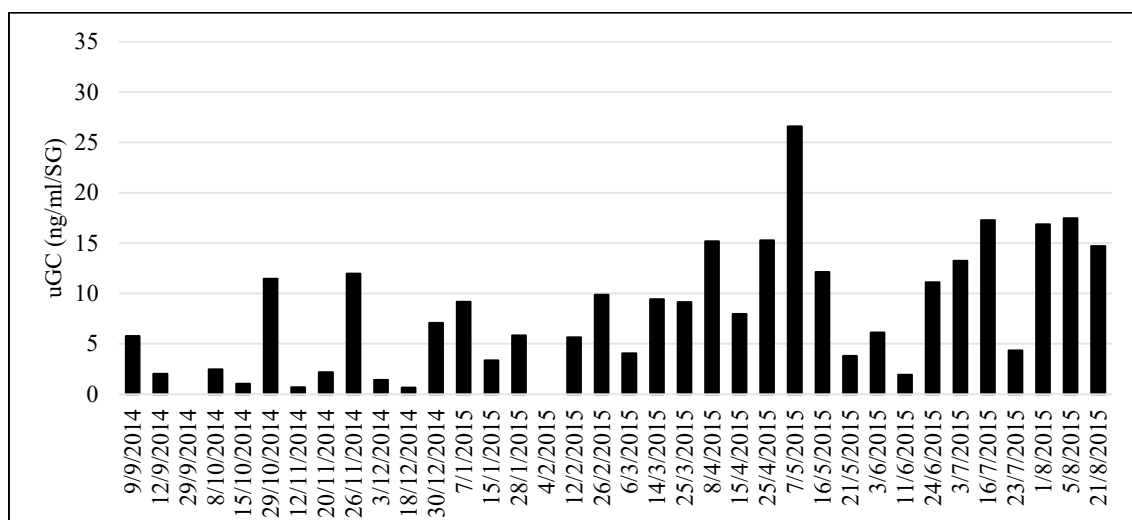
Figura 6.11. Perfil de uGC de Vainilla (ng/ml/SG).



Pepa:

Hembra juvenil chica (J1) perteneciente al grupo Alicia. En este individuo encontramos aumentos en la concentración de uGC con la edad. Además de varios picos desde febrero hasta el final del estudio (Figura 6.12).

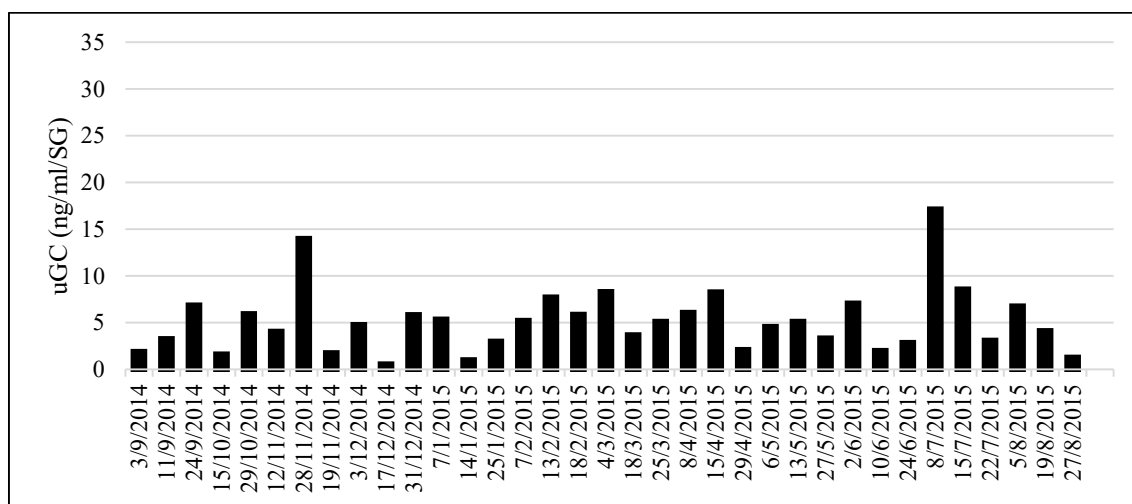
Figura 6.12. Perfil de uGC de Pepa (ng/ml/SG).



Calimba:

Hembra juvenil chica (J1) del grupo Hembra Negra. Presentó un perfil heterogéneo con picos los días 28/11/2014 y 8/7/2015. A diferencia de los otros juveniles que pertenecen a este grupo (Bongó y Quena), aquí no se observó un aumento en los meses de abril y mayo (la época de recambio de macho) (Figura 6.13).

Figura 6.13. Perfil de uGC de Calimba (ng/ml/SG).



Relación entre uGC y el sexo y edad:

El análisis GLMM sugiere que solo la edad es un factor importante en los cambios de uGC (GLMM: $R^2_{\text{marginal}} = 8.74$, $R^2_{\text{condicional}} = 28.7$, gl modelo=5) (Tabla 6.3). En resumen, el modelo sugiere que la concentración de uGC aumenta con la edad (estimado= 0.3, $p < 0.001$) en tasas similares para ambos sexos (Tabla 6.4, Figura 6.14). En promedio se registraron concentraciones de 3.94 ± 3.53 ng/ml/SG entre los 12-15 meses y de 8.79 ± 6.67 ng/ml/SG entre los 37- 41 meses.

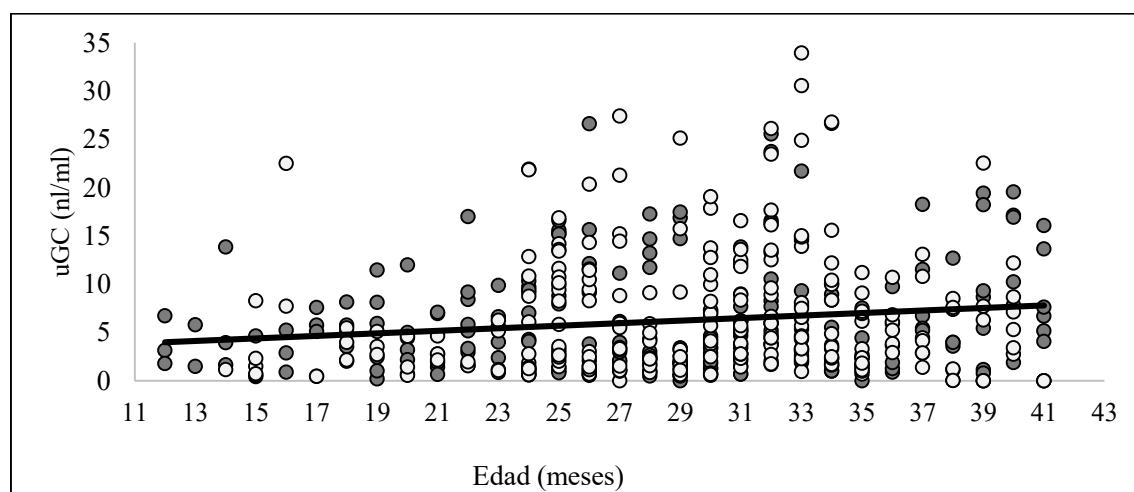
Tabla 6.3. Selección de modelo GLMM: bootstrap paramétrico (*PBtest*).

MODELO	ESTADISTICO	VALOR P
Modelo reducido 1 (sin interacción)	0.47	0.53
Sexo + edad		
Modelo reducido 2 (sin sexo)	-0.12	1
edad		
Modelo reducido 3 (sin edad)	18.00	<0.01**
sexo		

Tabla 6.4. Resultados del modelo GLMM seleccionado.

EFFECTO FIJO	ESTIMADO	ERROR ESTANDAR	GL	VALOR T	VALOR P
intercepto	-1.98	2.19	99.86	-0.91	0.37
edad	0.3	0.07	207.25	4.37	<0.001***
Desvío estándar del efecto aleatorio: 2.93					
Desvío estándar de los residuos: 5.55					

Figura 6.14. Relación entre la concentración de uGC y la edad en hembras (círculos grises) y machos (círculos blancos) juveniles de *Alouatta caraya*. La recta representa la función promedio obtenida en el análisis GLMM ($\text{uGC} = -1.98 + 0.3x \text{ edad}$).



6.4. Discusión

En este capítulo se exploraron los cambios en la concentración de uGC en el período juvenil de *Alouatta caraya*. Nuestros resultados exhiben que la concentración de uGC aumenta moderadamente con la edad de forma similar en ambos sexos.

La primera predicción (P1: “Los niveles de cortisol irán aumentando a lo largo del período juvenil”) que deriva de nuestra hipótesis 6 (H6: “La acción de los glucocorticoides está relacionada con los mecanismos fisiológicos de distribución de recursos energéticos durante el desarrollo, por lo cual el metabolismo del estrés responderá de distinta forma en relación a las tasas de crecimiento en ambos sexos durante el período juvenil”) se soporta con algunas restricciones: de acuerdo al análisis GLMM los niveles de uGC aumentan con la edad. Sin embargo, aunque tienen significancia estadística, el aumento resulta moderado (estimado = 0.3 ± 0.07), en términos biológicos un aumento de 0.3 ng/ml/SG en la concentración de uGC no parecería ser un efecto especialmente robusto en el metabolismo del estrés (considerando que en nuestros resultados la variabilidad general está dada por un mínimo de 0.44 ng/ml/SG y máximo de 33.94 ng/ml/SG). Aunque reconocemos que los niveles de cortisol son afectados por la edad durante el período juvenil, es posible que además haya otros aspectos generando mayores efectos en las concentraciones de esta hormona. En un análisis global de los perfiles individuales se puede observar que en los niveles de uGC parecen aumentar en los meses de junio, julio y agosto (invierno), lo cual sugiere que probablemente además de la relación con la edad haya una relación con la estacionalidad. Por ejemplo, factores ambientales como la temperatura, lluvias, disponibilidad de alimento (Aguilar-Melo et al., 2013; Aronsen, Beuerlein, Watts, & Bribiescas, 2015; Behie & Pavelka, 2012; Dunn, Cristóbal-Azkarate, Schulte-Herbrüggen, Chavira, & Veà, 2013; Monteiro et al., 2013; Weingrill, Gray, Barrett, & Henzi, 2004) pueden resultar más importantes que la edad en el estrés del metabolismo durante el período juvenil, por lo cual es importante explorar estos aspectos en futuras investigaciones.

La segunda predicción no fue corroborada, no encontramos diferencias sexuales en las concentraciones de uGC durante el período juvenil en *A. caraya*. Las diferencias sexuales en las concentraciones de cortisol en primates adultos han sido atribuidas principalmente a aspectos sociales y comportamentales, por ejemplo, estatus social, competencia intra-grupo, riesgo de infanticidio o condición reproductiva (*Eulemur fulvus rufus* (Clough, Heistermann, & Kappeler, 2010); *Brachyteles arachnoides hypoxanthus* (Strier, Lynch, & Ziegler, 2003); *A. palliata* (Aguilar-Cucurachi et al., 2010; Cristóbal-azkarate, Chavira, Boeck, Rodríguez-

luna, & Vea, 2007); *A. caraya* (Cantarelli, Perez-Rueda, Kowalewski, Mastromonaco, & Ponzio, 2017)).

En el caso de *A. caraya*, algunas investigaciones reportan las concentraciones de cortisol en animales adultos silvestres. Por un lado, los estudios de Cantarelli et al. (2017) en adultos (Chaco, Argentina) (12 hembras/5 machos, 114 muestras) en montes continuos y fragmentados (Parque Nacional Chaco y alrededores), encontraron diferencias sexuales en el cortisol fecal, siendo mayor en hembras (86.4 ± 4.2 vs 60.6 ± 5.0 ng/g heces). Los autores sugieren que estas diferencias sexuales pueden estar relacionadas al estrés asociado al riesgo de infanticidio y la competencia intra-sexual en las hembras (Cantarelli et al., 2017). Por otro lado, los estudios en una población de *A. caraya* de Corrientes, Argentina (que incluye el área de estudio del presente trabajo), que habita en montes fragmentados y pequeños parches en áreas urbanas, los machos adultos exhibieron mayores concentraciones de cortisol fecal que las hembras (Fernández, com. pers.). Estas contradicciones sugieren que el ambiente social y ecológico probablemente juegue un rol importante en las estrategias asociadas al metabolismo del estrés en la adultez ambos sexos como sucede en otras especies (*A. palliata mexicana* (Aguilar-Melo et al., 2013) *A. pigra* (Behie, Pavelka, & Chapman, 2010) *A. palliata* (Dunn et al., 2013) *A. belzebul* (Monteiro et al., 2013); *Macaca fascicularis* (Sonnweber et al., 2015); *A. pigra* (van Belle, Estrada, Ziegler, & Strier, 2009); *Papio hamadryas ursinus* (Weingrill et al., 2004)). La falta de diferencias sexuales en uGC durante el período juvenil en nuestros resultados sugiere que estos aspectos no se relacionan con el metabolismo del estrés de la misma forma que en la adultez. Un caso especial es dado en los individuos de Hembra Negra, este grupo tuvo un recambio de macho central en los meses de abril y mayo (Anexo 2), en esta época tanto el macho juvenil grande (J2) Bongó (Figura 6.2) como la hembra juvenil grande (J2) Quena (Figura 6.10) presentan picos de uGC, sin embargo, esto no se observa en la hembra juvenil chica (J1) Calimba (Figura 6.13). Al tratarse de un solo caso no podemos generar conclusiones generales, pero estas tendencias sugieren que durante el período juvenil el efecto del recambio de macho resulta estresante de igual forma para machos y hembras grandes, mientras que parece no estresar a los individuos más jóvenes (al menos a las hembras). Es necesario ampliar las investigaciones en la interacción entre el metabolismo del estrés y las dinámicas sociales en juveniles para una mejor comprensión de los aspectos sociales que pueden influir en el metabolismo del estrés. Si los aspectos que influyen en adultos también lo hacen en juveniles (por ejemplo, cómo influye a los juveniles de ambos sexos la llegada de un nuevo individuo) o si hay otros aspectos sociales relacionados con el estrés en juveniles.

En general las investigaciones sobre estrés y expresión hormonal se concentran en una etapa de la historia de vida en primates (la adultez). Sin embargo, algunos estudios exploraron estos aspectos a través de distintas etapas de la historia de vida. Por ejemplo, Castracane (1981) en su estudio en babuino amarillo (*P. cynocephalus*) en cautiverio encontraron que niveles de GC en el plasma disminuyen con la edad, además hallaron diferencias sexuales en los primeros meses de vida (Castracane et al., 1981). En el estudio de Gesquiere et al (2005) en la misma especie, observaron que aunque durante el período juvenil hay un aumento de cortisol principalmente en machos, en términos generales las concentraciones de cortisol son más bajas que en la infancia y adultez (Gesquiere et al., 2005). Aunque en este caso no contamos con información sobre otras etapas además del período juvenil (uGC = 6.79 ng/ml/SG), en el estudio realizado en hembras adultas en el mismo sitio dos años antes (con la misma metodología de EIA), se encontró que en promedio la concentración de uGC es de 11.44 ng/ml/SG (Raño, com. pers.) lo cual sugiere que en *A. caraya* al igual que otras especies de primates, el período juvenil es una etapa con concentraciones de cortisol más bajas que en la adultez.

En resumen, nuestros resultados sugieren que en *A. caraya* el metabolismo del estrés no es dependiente del sexo y parece ser parcialmente dependiente de la edad durante el período juvenil. Por lo tanto, las diferencias sexuales el cortisol observadas durante la adultez deben de desarrollarse posteriormente en la vida, y las variaciones de cortisol durante el período juvenil pueden deberse principalmente a aspectos ambientales (por ejemplo; temperaturas mínimas, disponibilidad de alimento, sequías, impacto antrópico) y sociales (por ejemplo infanticidios, intercambio de macho central, competencia intra-grupo, proceso de independencia de la madres) lo cual será explorado en el futuro teniendo en cuenta el efecto de la edad observado.

6.5. Conclusiones

- En juveniles de *A. caraya* no existieron diferencias sexuales en las concentraciones de uGC a lo largo del desarrollo
- La concentración de uGC aumentó de forma moderada con la edad durante el período juvenil en esta especie.

Capítulo VII

Conclusiones generales

7.1. Principales conclusiones

En esta tesis se investigaron preguntas relacionadas con la evolución del período juvenil extendido en el orden primates. A diferencia de otros mamíferos, los primates se caracterizan por un período juvenil extendido, y se han propuesto distintas explicaciones a esta particularidad (hipótesis del tamaño cerebral, del tiempo de aprendizaje y del riesgo juvenil). Con el objetivo de aportar datos empíricos para contestar las preguntas sobre la evolución del período juvenil extendido en primates y para comprender los mecanismos próximos asociados al desarrollo durante el período juvenil se propuso explorar las trayectorias de los comportamientos durante el período juvenil en hembras y machos y la relación entre estos comportamientos y la expresión hormonal utilizando como modelo al mono aullador negro y dorado (*A. caraya*). Se eligió esta especie para trabajar porque las hembras y los machos presentan en la adultez diferentes estrategias comportamentales: las hembras participan mayormente en los cuidados parentales y relaciones afiliativas dentro del grupo y los machos en la defensa del grupo y pareja. Además, existe un evidente dimorfismo y dicromatismo sexual relacionado con diferencias en las tasas de crecimiento durante el desarrollo.

Se estudió entonces el comportamiento de 7 machos y 6 hembras juveniles pertenecientes a 4 grupos de *Alouatta caraya* en combinación con sus perfiles de hormonas sexuales (PdG y E1G en hembras, Testosterona en machos) y las variaciones en el metabolismo del eje hipotalámico-hipofisario-adrenal (análisis de cortisol en ambos sexos), con el fin de asociar posibles cambios comportamentales y hormonales en machos y en hembras durante el período juvenil. Para ello, se registraron datos comportamentales y se colectaron muestras de orina de los 13 juveniles durante doce meses. Con un total de 452 muestras se realizaron los perfiles de PdG y E1G en orina en hembras y con 479 los de testosterona en machos, además se describieron cambios en niveles de cortisol en orina de todos los individuos con un total de 468 muestras. Los análisis de los comportamientos se realizaron en base a un total de 1800 horas de observación focal. Por un lado, se exploraron las variaciones en comportamientos según la edad y el sexo, y por otro lado se exploró la relación entre las concentraciones de hormonas sexuales en orina y la expresión de distintos comportamientos. En este capítulo se integró la información obtenida en los capítulos

previos para intentar resumir en forma integrada y sintética la información obtenida acerca del período juvenil extendido en primates.

En el capítulo I se estableció un marco teórico y se reportaron otras investigaciones relacionadas y en el capítulo II se describieron los métodos empleados en esta investigación. Los capítulos III, IV, V, y VI se enfocaron en los análisis de variaciones comportamentales y hormonales de los juveniles de *A. caraya*. Las principales conclusiones de esos capítulos fueron:

- Durante el período juvenil, los comportamientos de interacción con crías y acicalamiento de pares estuvieron más asociados a las hembras, mientras que el juego social, la participación en aullidos, y los comportamientos sexuales fueron más frecuentes en los machos (capítulo III).
- Se observaron cambios con la edad en el comportamiento de interacción con cría en las hembras. En etapas más tempranas del período juvenil predominaba la exploración de las crías y en etapas más tardías, las hembras cargaban a las crías más frecuentemente (capítulo III)
- Se observó una disminución en el juego social con la edad en ambos sexos y los aullidos aumentaron con la edad sólo en el caso de los machos juveniles. (capítulo III).
- Los comportamientos sexuales tales como la inspección de genitales del sexo opuesto, el intento de cópula y las cópulas fueron poco frecuentes en general; sin embargo, fueron observados más en machos que en hembras (capítulo III).
- Se registró un aumento marcado en las concentraciones de hormonas sexuales (PdG y E1G en orina) que comienza alrededor de los 2.5 años de edad (31 meses aproximadamente) en las hembras de *A. caraya* (capítulo IV).
- De manera similar, las concentraciones de testosterona comenzaron a aumentar a los 2.5 años (31 meses aproximadamente) en los machos de *A. caraya* (capítulo V).
- No se encontró relación estadísticamente significativa entre las concentraciones de hormonas sexuales (PdG y E1G en orina) y comportamientos sexuales en hembras juveniles de *A. caraya* (Capítulo IV)
- No se encontró relación estadísticamente significativa entre las concentraciones de testosterona y comportamientos sexuales en machos juveniles de *A. caraya* (Capítulo IV)

- No se encontró relación estadísticamente significativa entre las concentraciones de hormonas sexuales (PdG y E1G) y comportamientos de interacción con cría en hembras juveniles de *A. caraya* (Capítulo IV)
- Sólo se encontró una relación estadísticamente significativa entre los aumentos en PdG en orina con aumentos en las tasas de acicalamientos, pero esta tendencia fue algo leve; en consecuencia, debería haber otros factores asociados a los aumentos en los acicalamientos de pares (capítulo IV).
- No se encontró relación estadísticamente significativa entre las concentraciones de testosterona y los comportamientos agresivos en machos juveniles de *A. caraya* (Capítulo V).
- Se encontró una relación estadísticamente significativa, negativa y moderada entre la testosterona y el juego rudo (*rough and tumble*), es decir, cuando aumentaron los niveles de testosterona disminuyó el juego rudo (capítulo V).
- Los niveles de testosterona se relacionaron con la composición del grupo, siendo mayor en aquellos individuos pertenecientes a grupos uni-macho, de la misma forma la concentración de testosterona aumentó ante la presencia de machos solitarios extra-grupo (capítulo V).
- Se registró un aumento moderado en las concentraciones de cortisol en orina con la edad en ambos sexos, mientras que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre sexos en los niveles de cortisol (capítulo VI).

7.2. El período juvenil, un período de cambio

Los principales hallazgos de esta tesis nos permitieron proponer un esquema del desarrollo de período juvenil en *Alouatta caraya* que puede resultar en un modelo general para comparar con otras especies de primates, en particular aquellas que presenten adultos con dimorfismo sexual y diferencias sexuales en el comportamiento durante la adultez. A continuación, se describe el modelo expuesto en la Figura 7.1.

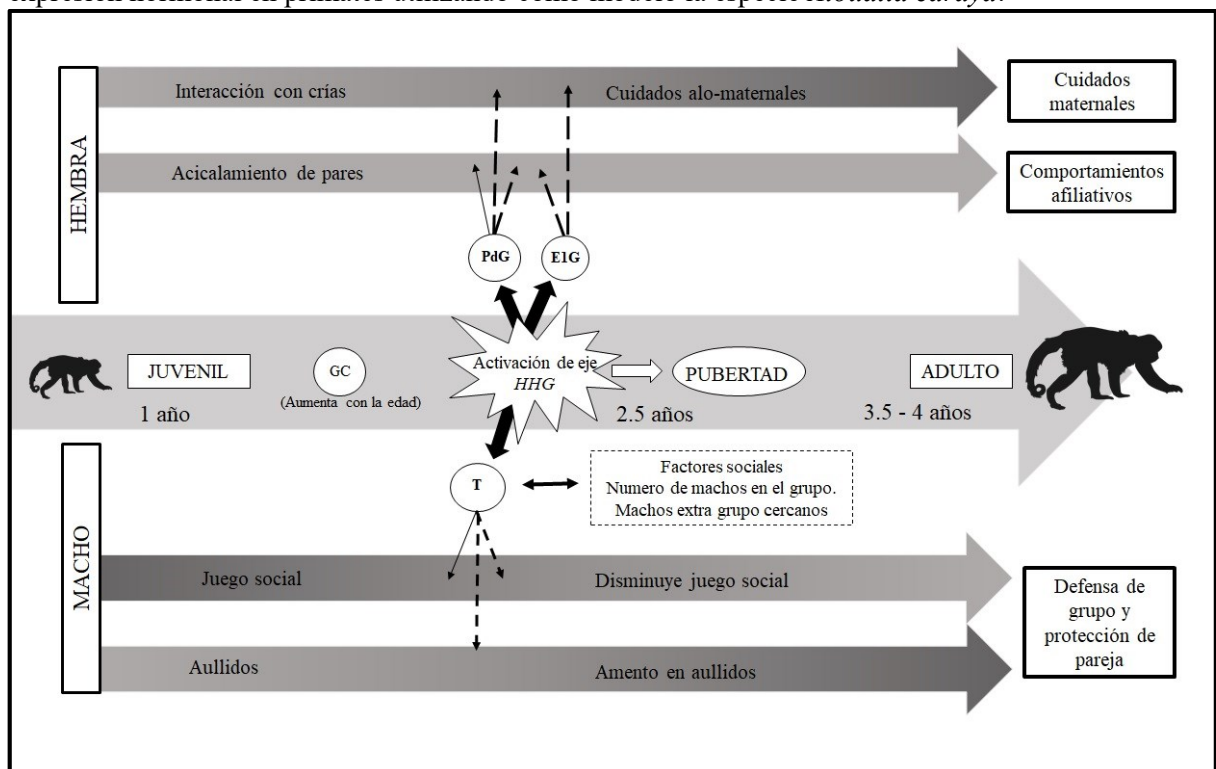
El modelo describe la trayectoria de los comportamientos durante el período juvenil en machos y hembras y su relación con la expresión hormonal. En la parte superior se expresa la trayectoria de las hembras y en la inferior de los machos. La flecha gruesa más grande del centro representa los procesos comunes en ambos sexos. Las otras flechas grises gruesas representan los comportamientos típicos de cada sexo y las hormonas están representadas en círculos.

Tempranamente en el desarrollo encontramos diferencias sexuales en el comportamiento (expresados en el gráfico como flechas gruesas grises), por un lado, en hembras juveniles predominan los comportamientos de interacción con infantes y acicalamiento de pares y en los machos los comportamientos de participación en aullidos y juego social. Estos comportamientos se desarrollan a lo largo del período juvenil asociados a cambios en la expresión hormonal y en la adultez conducirán a los comportamientos asociados a las estrategias de cada sexo. En el caso de las hembras nos referimos a los comportamientos afiliativos y cuidados de crías, mientras que, en el caso de los machos, hablamos de la protección de la pareja y el grupo (expresado en el gráfico como recuadros negros en el extremo derecho). Algunos de estos comportamientos están relacionados directamente con cambios hormonales (expresado en gráfico con flechas negras continuas); en particular, en hembras una relación positiva entre la concentración de PdG y acicalamiento de pares, y en machos el aumento en testosterona con disminución en el juego. Sin embargo, nuestros resultados sugieren que el efecto más importante de las hormonas sexuales en el comportamiento ocurre de manera indirecta (expresado en el gráfico con flechas negras discontinuas) a través de su rol en el desarrollo sistema nervioso central (SNC). Es decir, en *Alouatta caraya* a los 2.5 años de edad comienzan a aumentar las concentraciones de hormonas sexuales, lo que puede estar indicando el comienzo de la segunda activación del eje hipotalámico-hipofisario-gonadal (en el gráfico expresado como el recuadro central en forma estrellada). Esta activación promueve cambios a nivel del SNC (Cameron, 2004), asociada en parte a cambios en los comportamientos y al comienzo de la pubertad (transición a la adultez). En particular, en machos, a los 2.5 años además de haber un aumento en testosterona (T) hay una caída en el juego rudo. Posiblemente la disminución en este comportamiento responde a cambios generales a nivel comportamental que llevan a los individuos a disminuir su tiempo en actividades típicas de juvenil para darle paso a las actividades típicas de adulto. Además del aumento de esta hormona con la edad, nuestros resultados sugieren que la concentración de testosterona responde también a factores sociales (en el gráfico recuadro con líneas punteadas). En particular, observamos que la concentración de testosterona parece relacionarse con el número de machos en el grupo y posiblemente con los machos satélites (discusión del capítulo V), este efecto fue observado en machos adultos en otras especies de aulladores (Cristóbal-Azkarate et al., 2006; Rangel-Negrín et al., 2011). Por lo tanto, además del efecto de la edad, el entorno social modula la expresión hormonal en el período juvenil.

En las hembras, además de haber relación positiva entre el acicalamiento de pares y los niveles de PdG, también se puede observar que a los 2.5 años de edad, ambas hormonas sexuales (PdG y E1G) comienzan a presentar picos y valles, lo que sugiere, de la misma forma que ocurre en machos, una mayor actividad en el eje hipotálamo-hipofisario-gonadal relacionado con la segunda activación. Los correlatos comportamentales de estos cambios fisiológicos se pueden distinguir en el cambio de tipo de relación de las hembras juveniles con las crías; tempranamente en el período juvenil predomina la exploración de las crías, pero a partir de los 2.5 años la interacción se convierte en un cuidado alo-maternal (cargan a las crías en los desplazamientos).

Con respecto al metabolismo del estrés (representado en grafico como un círculo dentro de la flecha central), tanto los machos como las hembras tienen las mismas tendencias con un aumento moderado de esta hormona con la edad. Posiblemente las variaciones en esta hormona tengan relación también con aspectos sociales y ambientales, que deben ser analizados en el futuro.

Figura 7.1. Cambios en el comportamiento a lo largo del período juvenil y su relación con la expresión hormonal en primates utilizando como modelo la especie *Alouatta caraya*.



PdG: metabolito de progesterona, E1G: conjugado de estrona, GC: cortisol, T: testosterona, eje HHG: eje hipotálámico-hipofisario-gonadal.

En resumen, durante el período juvenil en *A. caraya*, se pueden observar distintas trayectorias entre machos y hembras en los comportamientos. La aparición de comportamientos similares a los de adultos ocurren a partir de los 2.5 años de edad en relación a la posible activación del eje hipotalámico-hipofisario-gonadal.

El principio del fin: la pubertad

El período juvenil es la etapa entre la independencia de la lactancia materna y la madurez reproductiva. Aunque esta categorización resulta elegante, en realidad tanto el comienzo como el final del período juvenil es una transición difícil de definir. En particular, los resultados de esta tesis atrajeron nuestro interés sobre los procesos que ocurren al final del período juvenil, es decir, el comienzo de la pubertad. Entre los hallazgos de nuestro trabajo, reconocemos que tanto en machos como hembras alrededor de los 2.5 años se comienza a ver un aumento en las hormonas sexuales (Figura 7.1), lo que sugiere que a esta edad en *A. caraya* ocurre la segunda activación del eje hipotalámico-hipofisario-gonadal iniciando así el proceso de la pubertad (en esta tesis ninguno de los individuos de estudio completó la madurez sexual al momento de finalización de la colecta de datos). A raíz de estas observaciones describimos la importancia de esta etapa en la historia de vida en primates asociado a los cambios hormonales y como se relaciona con el desarrollo de los distintos comportamientos.

Tradicionalmente la pubertad está definida como el momento en que los individuos son capaces de reproducirse, caracterizada por la maduración de los órganos sexuales, y el desarrollo de las características sexuales secundarias (Plant, 2015). Sin embargo, este paso a la adultez no consiste en un evento simple, sino que es una transición con cambios a nivel del sistema nervioso central. El comienzo de esta etapa tiene una base neuroendocrina dada por la reactivación del eje hipotalámico-hipofisario-gonadal, desencadenando la secreción de hormonas esteroideas por parte de las gónadas (descrito en capítulo I). Los cambios en hormonas sexuales que se dan en esta etapa han sido registrados en distintas especies de primates: hembras; *Rhinopithecus roxellana* (Muren et al., 2017); *Brachyteles arachnoides* (Strier & Ziegler, 2000); *Aotus azarae* (Corley et al., 2017); Machos; *P. troglodytes* (Anestis, 2006); *G. gorilla* (Robbins & Czekala, 1997); *C. capucinus* (Jack et al., 2014); *A. palliata* (Clarke et al., 2007).

La acción de las hormonas esteroideas en el sistema nervioso puede ser “de activación” o “de organización”:

- El efecto de activación se refiere a la habilidad de las hormonas esteroideas de

modificar las células blanco de forma que facilitan determinados comportamientos en contextos sociales específicos. El efecto de activación es transitorio, se expresa en relación a la presencia o ausencia de hormonas esteroideas, es la forma típica en cómo actúan durante la adultez. Es decir, la secreción de hormona sexual actúa directamente en el sistema nervioso central desencadenando un comportamiento.

- El efecto de organización, se refiere al efecto de las hormonas sexuales sobre las estructuras del SNC durante el desarrollo. Esta organización estructural es permanente y persiste más allá del momento de la expresión hormonal y programa la respuesta de activación para la adultez (Sisk & Zehr, 2005).

Experimentos y estudios en roedores y humanos, han demostrado la existencia de dos etapas *de organización* de los circuitos neuronales, durante un período pre-natal y la pubertad (Phoenix, Goy, Gerall, & Young, 1959; Scott, Stewart, & De Gheet, 2004; Sisk & Zehr, 2005). Durante la segunda etapa un refinamiento esteroide-dependiente de los circuitos neuronales resultan en cambios estructurales a largo plazo que determinan la respuesta del adulto a estímulos hormonales y sensoriales (Sisk & Zehr, 2005).

Los hallazgos generales de esta tesis sugieren que la relación entre las hormonas sexuales y el comportamiento en la etapa del desarrollo estudiada (entre 1 año a 3.5 años) es principalmente generada por el rol de las hormonas en la *organización* en el SNC. Por ejemplo, en juveniles de *A. caraya* no hay una relación directa entre las concentraciones de hormonas sexuales y los comportamientos sexuales (resultados capítulos IV y V), dado que los circuitos neuronales activados por hormonas esteroideas asociados a estos comportamientos aún no estarían desarrollados. Este efecto fue probado en varios experimentos (en hámster y ratones de laboratorio) en los cuales se observa que la inoculación de testosterona o estrógenos no dispara comportamientos sexuales en ratas pre-púberes, pero si lo hace en adultos gonadectomizados sugiriendo que si el sistema nervioso central no se desarrolló por completo, la respuesta comportamental a la secreción de hormonas sexuales no se expresará (de Jonge, Muntjewerff, Louwerse, & van de Poll, 1988; Meek, Romeo, Novak, & Sisk, 1997; Olster & Blaustein, 1989; Romeo, Cook-Wiens, Richardson, & Sisk, 2001; Södersten, 1975). Es posible que durante el período juvenil existan otros mecanismos neuronales relacionados con este tipo de comportamientos, por ejemplo en juveniles pueden surgir como una imitación de los adultos cercanos como ocurre con otros comportamientos en primates (van Noordwijk et al., 2003).

En resumen, en la pubertad, posiblemente, el efecto *de organización* del SNC de las hormonas esteroideas es más importante que el efecto *de activación* de los comportamientos. Por lo cual es importante reconocer a la pubertad no sólo como una etapa de desarrollo de las estructuras sexuales y madurez reproductiva sino también como una etapa importante en el desarrollo del SNC.

7.3. Aporte de las hormonas sexuales en la categorización de las etapas en la historia de vida en primates

La sección anterior nos demuestra la importancia de la expresión hormonal en el desarrollo, en esta sección proponemos considerar la información brindada por la expresión hormonal en la categorización de las etapas en la historia de vida en primates, en particular para determinar el final del período juvenil y el comienzo de la pubertad.

Aunque en el humano las etapas en la historia de vida (infancia, niñez, juventud, adolescencia, adultez) están definidas de una forma integral (se tiene en cuenta aspectos fisiológicos, morfológicos y comportamentales). En general en primates no-humanos para categorizar las etapas de historia de vida, se recurre a aspectos de la morfología general (tamaño del cuerpo, dentición, estructuras reproductivas) o comportamentales (finalización de la lactancia, comienzo de los apareamientos). Esto conduce a dos problemas principales, por un lado, la falta de una unificación de las categorías en el orden primates en general, principalmente la definición de adolescente y subadulto parece variar entre especies. Por ejemplo; en lémur de cola anillada (*Lemur catta*) se considera un período subadulto a los individuos no-maduros sexualmente y dos etapas de adultez; chico y grande, ambos maduros sexualmente que difieren en tamaño y estructuras dentarias (Sauther, Cuzzo, & Sussman, 2001), en mono araña (*Ateles belzebuth*) se considera el período adolescente y subadulto como sinónimos, siendo maduros sexualmente (Gibson, 2010), en orangután (*Pongo pygmaeus*) se considera un período de adolescente no fértil seguido de un período de subadulto fértil que no alcanza el tamaño corporal de adulto (Galdikas, 1985) y en gorilas (*Gorilla gorilla*) se considera a el período subadulto como una etapa infértil posterior al período juvenil (Breuer, Hockemba, Olejniczak, Parnell, & Stokes, 2009).

Por otro lado, la falta de unificación entre criterios ha generado grandes contradicciones en las definiciones en las etapas de la historia de vida dentro de una misma especie. Particularmente las relacionadas con el paso a la madurez sexual; por ejemplo en las categorías propuestas para *A. caraya*, encontramos que en el trabajo de Coppo & Resoagli (1987) basado principalmente en la dentición identifican períodos de infante, juvenil y adulto

(cada uno con varias categorías), en particular la última etapa del período juvenil es a la edad de 3 años aproximadamente (Coppo & Resoagli, 1978). Por su parte Rumiz (1990) construye categorías basadas en caracteres morfológicos, algunos útiles para reconocer en el campo (estado de desarrollo de los genitales y coloración) y algunos algo ambiguos (comparaciones de tamaño corporal) y describe 4 categorías; infante, juvenil, subadulto y adulto. En esta clasificación el período juvenil finaliza a los 3-4.5 años en hembras y 4-5 en machos (Rumiz, 1990). El estudio más reciente de Kugelmeier et al. (2011) sobre el ciclo de las hembras consideran a individuos de 2 años como subadultas. Además en el estudio de Moreland et al. (2001) consideran como machos subadultos a individuos de entre 1.5-2.5 años (Moreland et al., 2001), si bien estos dos últimos trabajos incorporan información endócrina, en ambos casos la categoría subadulto considera individuos inmaduros.

La información aportada por la expresión de hormonas sexuales a lo largo del desarrollo puede resultar de utilidad para establecer categorías de una forma más objetiva y replicable en todo el orden primates obteniendo así un criterio unificado. En particular los resultados de esta tesis (capítulos IV y V) permiten definir el comienzo de la pubertad para *A. caraya*, estudios en el futuro nos podrán proveer más información sobre el final de esta etapa. En conclusión, utilizando como modelo *Alouatta caraya* proponemos 5 períodos generales en la historia de vida para *Alouatta*: infante, juvenil, púber, subadulto y adulto (que podría ser utilizado en otras especies de primates no-humanos):

Infante: desde el nacimiento hasta 1 año. Está caracterizada por la dependencia de la lactancia materna. Sin embargo, es necesario hacer estudios hormonales en el futuro para identificar la acción del eje hipotalámico gonadal. Machos y hembras con pelaje de coloración dorada, hembras tienen clítoris fino y claro, machos testículos blancuzcos.

Juvenil: 1 a 2.5 años. Etapa de independencia de la madre, no maduro sexualmente. El eje hipotalámico-hipofisario-gonadal se encuentra en una etapa de baja actividad, la concentración de hormonas sexuales no presenta picos. Machos y hembras con pelaje de coloración dorada, hembras tienen clítoris fino y claro, machos testículos blancuzcos.

Púber: 2.5- 3/4?: Comienza con la activación del eje hipotalámico-hipofisario- gonadal que desencadena el comienzo de la madurez sexual y también del desarrollo cerebral. Hembras presentan ciclos hormonales (progesterona y estradiol) irregulares que no alcanzan valores de ovulación. Algunos comportamientos empiezan a asemejarse a los adultos (hembras

cargan crías, machos comienzan a participar en aullidos, en ambos sexos el juego es menos frecuente). En esta etapa comienza el cambio de coloración en los machos, pasando de dorado a negro, y los testículos son algo más grandes, en hembras el clítoris aun proyectado, pero más corto que la etapa anterior. El final de esta etapa se estima entre los 4 y 5 años dado por que alcanzan la madurez sexual, sin embargo, es necesario ampliar las investigaciones sobre la expresión hormonal en esta transición.

Subadulto 3/4?-45: En esta etapa los individuos están maduros sexualmente pero aún no alcanzan la coloración y el tamaño final. La expresión de las hormonas sexuales es similar a la adultez, las hembras presentan ciclos ováricos. Esta etapa al ser tan difícil de definir no está muy investigada por lo cual las edades propuestas son tentativas para ser revisadas en futuros análisis que incorporen tanto información de la expresión hormonal como de morfología general del cuerpo.

Adulto: desde 4-5 años. Individuos maduros sexualmente con tamaño final. Las hembras tienen ciclos hormonales con ovulaciones (Raño, 2016). Aunque algunos estudios se describió la expresión de hormonas sexuales en machos adultos (Moreland et al., 2001) para completar este perfil es necesario hacer estudios longitudinales en animales silvestres. En cuanto a las características físicas, las hembras son doradas y tienen los labios vulvares anchos y clítoris completamente retraído (no visible), los machos son completamente negros, con testículos grandes y de color anaranjado.

En resumen, proponemos que para establecer categorías más objetivas y por lo tanto comparables entre especies y entre trabajos distintos de una misma especie, es importante contemplar aspectos comportamentales (por ejemplo; dependencia a la lactancia, independencia de la madre), morfológicos (por ejemplo; desarrollo de estructuras genitales, coloración, tamaño, dentición) y hormonales. En particular este último permite clasificar las etapas más complicadas de definir como es la pubertad y la subadultez. Es decir, la pubertad comienza con la reactivación del eje hipotalámico-hipofisario-gonadal y finaliza con la madurez sexual (cuando se alcanzan valores hormonales de la adultez) y la subadultez hormonalmente es equivalente a la adultez, pero los individuos son de menor tamaño corporal (o dependiendo de la especie, no posee estructuras particulares o coloración de la adultez). Nuestra clasificación complementa la propuesta por Rumiz (1990), y tiene especial utilidad en trabajos que investiguen distintos aspectos de la historia de vida y requieran una

forma de categorización en edades más precisa, ya que considera procesos fisiológicos asociados a distintas etapas en la historia de vida en *Alouatta*. Los estudios hormonales con métodos no invasivos han demostrado ser exitosos en una gran variedad de investigaciones (Anestis, 2010; Fujita et al., 2001; Whitten, Brockman, & Stavisky, 1998). Además, existen una variedad de *kits* de EIA que permiten explorar perfiles hormonales de forma muy sencilla y en poco tiempo. Por esto es factible que, con una base de datos creciente en perfiles hormonales, abarcando todas las edades, sea posible obtener perfiles hormonales completos asociados a caracteres físicos para en el futuro determinar categorías de edades en individuos silvestres solo con observaciones morfológicas (tamaño, coloración, genitales), pero con cierta certeza de cuáles son los procesos fisiológicos que cada individuo está enfrentando.

7.5. Aportes de los resultados en *A. caraya* a las hipótesis del período juvenil extendido en el orden Primates

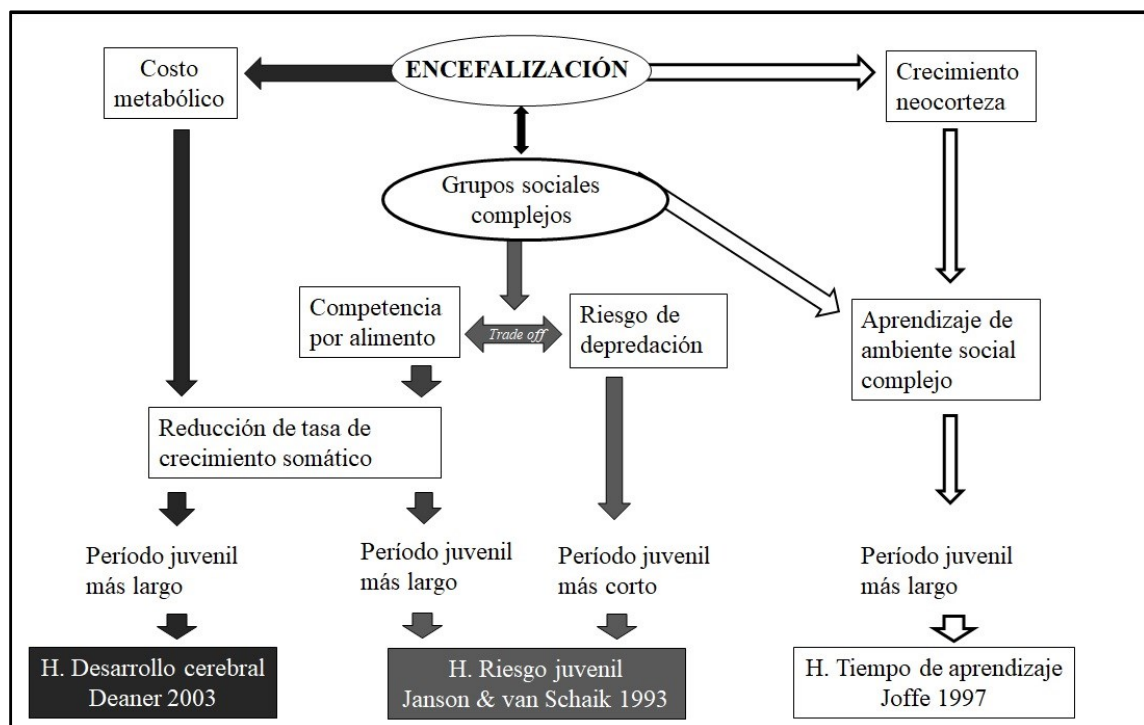
Hay dos aspectos importantes relacionados con la evolución del período juvenil extendido: la evolución de un cerebro de mayor tamaño y el desarrollo de estructuras sociales complejas (Barrickman et al., 2008; Ross & Jones, 1999). En particular, de las hipótesis que intentan explicar el período juvenil extendido en primates (sección 1.3, capítulo I), dos abordan sus preguntas con este enfoque (hipótesis del desarrollo cerebral e hipótesis del aprendizaje), y una, la hipótesis del riesgo juvenil, incorpora la interacción con desafíos ecológicos. En la Figura 7.2 se representan las tres hipótesis de manera esquemática evidenciado como las explicaciones del período juvenil extendido en primates se interrelacionan.

Por un lado, el costo metabólico asociado a un cerebro de gran tamaño, según la hipótesis del desarrollo cerebral es lo que limita el crecimiento somático produciendo así un período juvenil extendido (Deaner et al., 2003). Los resultados sobre el período juvenil en *A. caraya* obtenidos en nuestra investigación no aportan información para hacer inferencias sobre esta hipótesis, posiblemente futuros análisis enfocados en el desarrollo del sistema nervioso, y el metabolismo de este sistema en aulladores pueda aportar información en este sentido.

Por otro lado, la hipótesis del aprendizaje relaciona la encefalización del orden primates y la estructura social compleja con un período juvenil extendido. El crecimiento de la neocorteza cerebral permite un desarrollo cognitivo mayor, y la necesidad de un tiempo más largo para aprender y adquirir aptitudes en un entorno social complejo son los principales factores implicados en la evolución del período juvenil extendido (Joffe, 1997). Esta

hipótesis supone que la complejidad de las estructuras sociales en primates requiere de un tiempo de aprendizaje antes de llegar a la adultez. Nuestros resultados sugieren que el período juvenil es una etapa relacionada con el aprendizaje social. En particular, los comportamientos de interacción con crías y acicalamientos son más frecuentes en hembras y los comportamientos de aullidos y juego social son más frecuentes en macho, posiblemente estas diferencias se asocian con un entrenamiento de los comportamientos de la vida adulta; cuidados parentales y comportamientos afiliativos en hembras y protección de grupo y pareja en machos (resultados y discusión del capítulo III).

Figura 7.2. Representación esquemática de las hipótesis del período juvenil extendido en primates.



La hipótesis del riesgo juvenil, también relaciona la evolución del período juvenil con el costo metabólico del crecimiento, y propone que la maduración retardada en primates aparece en respuesta a los riesgos asociados al período juvenil, dados por la competencia por el alimento y los riesgos de depredación e infanticidio (Janson & van Schaik, 2003). Esta hipótesis tiene varios supuestos. Por un lado, supone la existencia de competencia con los adultos por el alimento, asociado a esto predice que especies con alimentos menos monopolizables (por ejemplo, folívoros) tendrán menos competencia por lo tanto período juveniles más cortos. También supone que los juveniles son menos eficientes en la alimentación en general y más vulnerables a la depredación que los adultos. Algunos

estudios han explorado esta hipótesis con pruebas contradictorias, en algunos casos se encuentra evidencia que apoya esta hipótesis (riesgo de depredación (Janson, 1990; Robinson, 1981), competencia por alimento (Leigh & Shea, 1996; Pereira, 1988), menor eficiencia en alimentación durante el período juvenil (Altmann, 1998; Peláez, Gil-Burmann, & Sánchez, 2000)) y otros casos evidencia que la rechaza (riesgo de depredación (Bidner, 2003; Stone, 2007); competencia por el alimento (Garber & Leigh, 1997; Godfrey, Samonds, Jungers, Sutherland, & Irwin, 2004; Johnson & Bock, 2004)), menor eficiencia en alimentación en juveniles (Fragaszy, 1990; Hanya, 2003; MacKinnon, 2006). Leigh (1996) sugiere que las diferencias en la duración del período juvenil entre chimpancés y gorilas se relacionan con las diferencias en las estrategias alimentarias en estas especies, siendo el período juvenil más corto en la especie con una dieta principalmente folívora-frugívora (gorilas) dado que esta especie los juveniles no competirían con los adultos por el alimento (Leigh & Shea, 1996). Sin embargo, Garber & Leigh (1997) en un estudio comparativo entre distintas especies de platirrinos (*Cebuella pygmaea*, *Callithrix jacchus*, *Saguinus fascicularis*, *S. imperator*, *Leontopithecus rosalia*, *Callimico goeldii*, *Saimiri sciureus*, *Aotus trivirgatus* y *Callicebus moloch*), no encontraron relación entre el tipo de dieta y la extensión del período juvenil, ni competencia por el alimento con los adultos ni asociación entre el riesgo de depredación y la tasa de crecimiento. En este sentido, los autores sugieren que en estas especies el riesgo juvenil no explica el período juvenil extendido en primates (Garber & Leigh, 1997). De la misma manera Stone (2007) en sus estudios realizados en mono ardilla (*Saimiri sciureus*) silvestres en Brasil, no encuentra evidencia de un forrajeo menos eficiente en juveniles, competencia por el alimento con los adultos ni comportamientos especiales para protegerse de la depredación por parte de los juveniles (Stone, 2007). En nuestro trabajo tampoco registramos competencia explícita con los adultos (un adulto evitando que un juvenil se alimente) o riesgo de depredación explícita (ver resultados similares en Fernández & Kowalewski, 2018; Garber, Righini, & Kowalewski, 2015; Kowalewski, 2007). Aunque nuestros resultados sugieren que el período juvenil extendido en *A. caraya* no respondería a la hipótesis del riesgo juvenil son necesarios estudios de ecología nutricional (Zhao et al., 2013) (en los cuales se pueda comparar si hay diferencias en la incorporación de hidratos de carbono, lípidos y proteínas y si hay variaciones en la forma de procesar los compuestos secundarios característicos de una dieta con alto contenido de hojas) en adultos y juveniles, para estimar si los juveniles de *A. caraya* son realmente menos eficientes en la alimentación y de redes sociales (Sueur, Jacobs, Amblard, Petit, &

King, 2011) para estimar si los juveniles adquieren una posición central asociada a la protección contra la depredación.

En resumen, consideramos que un aspecto clave en la evolución del período juvenil extendido en primates está dado por el aumento en el tamaño cerebral en relación a la vida en grupo sociales, el desarrollo de la neocorteza permitiría el surgimiento de relaciones sociales complejas (relaciones afiliativas, migraciones a otros grupos, relaciones de dominancia, cuidados alo-parentales) lo cual requirió de un tiempo de aprendizaje social previo a la madurez sexual. No descartamos la importancia del efecto dado por el costo energético de un cerebro de gran tamaño, y consideramos que posiblemente este fue uno de las primeras causas que impulso el desarrollo de un período juvenil extendido y el vivir en grupos y aprendizaje social fueron una consecuencia posterior. Por otro lado, no descartamos que los factores ecológicos juegan un rol en la evolución del período juvenil extendido, pero consideramos que no es explicación suficiente y debe aclararse si realmente la menor eficiencia en la alimentación por parte de los juveniles se refleja en un peor estado nutricional.

7.6. Perspectivas futuras de investigación

Uno de los interrogantes que surge de este trabajo está asociado a la influencia de otras hormonas que puedan estar relacionadas con los comportamientos durante el período juvenil. Algunos estudios en primates adultos han explorado la relación entre oxitocina y vasopresina con los comportamientos afiliativos (Anestis, 2010; Benítez, Sosnowski, Tomeo, & Brosnan, 2018; Campbell, 2008; Cavanaugh, Mustoe, & French, 2018; Donaldson & Young, 2008; Goodson & Thompson, 2010; Ross & Young, 2009; Veenema, 2008), y los cuidados maternos (Boose et al., 2018; Feldman, 2012; Finkenwirth et al., 2016; Kim et al., 2014; Pedersen, 1997). La información reportada en esta tesis provee el punto de partida para explorar la relación de otras hormonas, como la oxitocina y la vasopresina con el comportamiento, en particular la interacción con infantes, el cual en nuestro estudio resulta característico de hembras juveniles y posiblemente tenga una relación con la expresión de estas hormonas. Tradicionalmente el análisis de hormonas peptídicas en animales silvestres ha resultado un gran desafío, sin embargo, en la actualidad, el desarrollo de técnicas no invasivas de extracción de muestras ha abierto la posibilidad de estudiar la relación de estos neuropéptidos con los comportamientos sociales en animales silvestres utilizando muestras de orina (Benítez et al., 2018; Ziegler, 2018).

En el capítulo VII exploramos el metabolismo del estrés a lo largo del período juvenil. Una observación interesante es la tendencia expresada en los perfiles de cortisol individuales, con un aumento en las concentraciones de hormona en los meses de invierno. Diversos estudios han explorado la importancia de factores ambientales en el metabolismo del estrés en varios primates (*Papio cynocephalus*; (Gesquiere et al., 2008); *Papio ursinus*; (Weingrill et al., 2004); *Alouatta palliata*; (Dunn et al., 2013)). En particular *A. caraya* es una especie que habita en un ambiente con estacionalidad marcada con inviernos de temperaturas mínimas de 0°C y veranos con máximas de 44°C (Rumiz, 1990; Zunino, 1986) por lo tanto las variaciones de temperatura pueden ser uno de los principales factores ambientales en el metabolismo del estrés como se ha observado en especies de primates que habitan en ambientes con variaciones de temperaturas (*Macaca sylvanus*; (Young, Majolo, Heistermann, Schülke, & Ostner, 2014); *Theropithecus geladas*; (Beehner & McCann, 2008); *Papio hamadryas ursinus* (Weingrill et al., 2004)). Por lo tanto, surgen las siguientes preguntas ¿hay una relación entre los niveles de cortisol y la estacionalidad en los juveniles de *A. caraya*? y ¿tienen las bajas temperaturas algún efecto en el metabolismo del estrés? ¿hay variaciones estacionales en la calidad del alimento y se reaccionan estas con el metabolismo del estrés?

El análisis de los comportamientos sexuales en esta tesis arrojó otro interrogante, dado que es notable como algunos individuos se destacan de los otros (capítulo III). Históricamente las diferencias individuales han sido consideradas como “ruido” en los estudios de comportamiento, sin embargo, muchas de estas diferencias son hereditarias y se correlacionan con aspectos de historia de vida de los individuos, lo que sugiere que podría presentar un valor adaptativo (Weinstein & Capitano, 2008). Consideramos que es importante explorar el efecto de la personalidad en la ocurrencia de los comportamientos, en particular aquellos que prestan una gran diferencia individual como es el caso de los comportamientos sexuales. El término personalidad se refiere a la variación individual en el comportamiento que persiste en el tiempo y en diferentes situaciones (también algunos utilizan otros términos como; “temperamento”, “síndromes comportamentales” o “estilos”) (Clarke & Boinski, 1995; Sih, Bell, Johnson, & Ziemba, 2004; Weinstein & Capitano, 2008). En particular, comenzar a explorar el comportamiento considerando esta perspectiva permitirá obtener perfiles de personalidad para aulladores en distintas etapas de la vida, y considerar si los tipos de personalidad tienen alguna relación con los cambios en los comportamientos durante el período juvenil.

En este capítulo hemos propuesto una clasificación general de los períodos en la historia de vida en primates, si bien nuestros resultados nos permiten estimar la expresión hormonal en las transiciones entre período juvenil a púber, es necesario analizar otras de ellas en profundidad, en particular, el final de la pubertad y el período subadulto. De esta forma contaríamos con información la expresión hormonal de las etapas más difícil de individualizar en *A. caraya* que sustentarían nuestra clasificación con más datos empíricos.

7.7. Consideraciones finales

Una de las principales contribuciones de esta tesis fue comprender los procesos hormonales y comportamentales que se desarrollan en machos y hembras a lo largo del período juvenil de *A. caraya* y como se relacionan los comportamientos con la expresión de hormonas sexuales en esta etapa.

Un hallazgo novedoso está dado por la posibilidad que brinda el estudio de perfiles hormonales en establecer las etapas de la historia de vida de una manera más objetiva. En particular, comprender los procesos asociados con el eje hipotalámico-hipofisario-gonadal nos permitió establecer el comienzo de la pubertad en esta especie lo cual consistió en una herramienta fundamental para aclarar y proponer una categorización de los períodos de historia de vida para *A. caraya*, que pueden ser utilizados en el orden primates en general. El uso de información brindada por hormonas sexuales permite solucionar ambigüedades y conflictivas a la hora de clasificar las distintas etapas en la historia de vida de un orden tan heterogéneo como los primates.

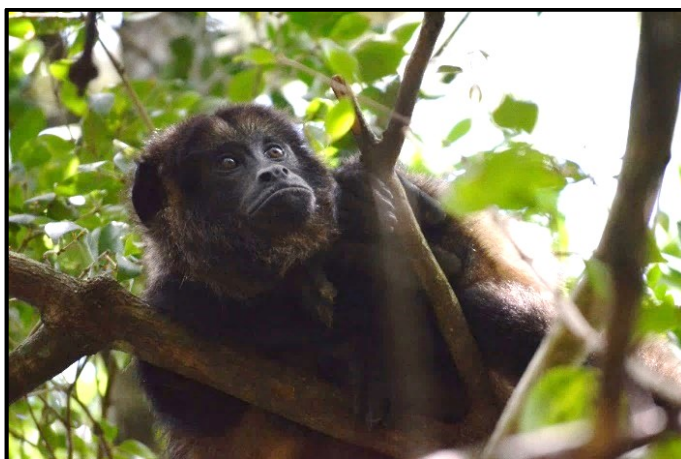
La información obtenida en este trabajo aportó evidencia relacionada con las hipótesis en relación al período juvenil extendido en primates, en particular las diferencias sexuales en algunos comportamientos y como se desarrollan durante el período juvenil aportan evidencia a la hipótesis del aprendizaje.

Anexos

Anexo 1: Necropsia Samba.

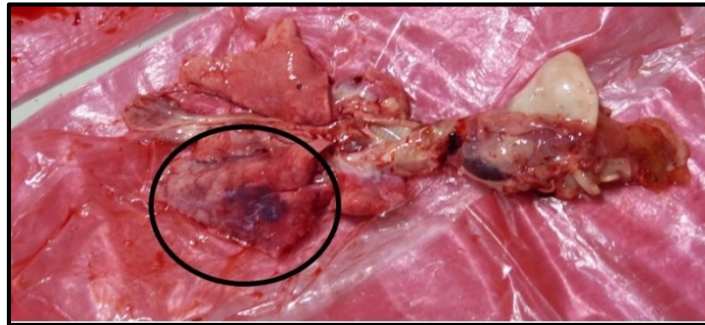
Samba (Figura 1) era un juvenil macho de la categoría J2, con 24 meses al inicio del estudio perteneciente al grupo Huerta. El día 27/6/2015 se lo observó separado del grupo, y durmió a más de 300 metros del mismo. Al día siguiente amaneció debilitado, realizando prolongadas caminatas en el suelo, hasta quedar descansando. El día 28/06/2015 al llegar al área de trabajo se lo encontró muerto (a los 34 meses de edad aproximadamente).

Figura 1. Samba, macho juvenil del grupo Huerta, en la figura tenía 30 meses de edad (febrero 2015)



La necropsia fue realizada por el Veterinario Jorge Peña en el laboratorio de la Estación Biológica Corrientes. El animal presentaba una condición corporal mala, con un peso de 3.2 kg. Al evaluar la cavidad torácica se pudo observar signos de neumonía, con el lóbulo principal del pulmón derecho hemorrágico (Figura 2) y el ganglio mediastínico inflamado. El corazón presentaba el pericardio fibrinoso, con liquido seroso y el epicardio se encontraba blanquecino. La cavidad abdominal contenía liquido seroso y en estómago se pudo observar signos de gastritis con grandes úlceras no perforantes, al igual que en duodeno. Los riñones se encontraban hemorrágicos. El resto de los órganos no presentaban particularidades. A raíz de estas observaciones la causa de muerte más probable es neumonía.

Figura 2. Sistema respiratorio de Samba, en círculo negro se observa lóbulo principal de pulmón derecho hemorrágico



Anexo 2: Recambio de macho central en grupo Hembra Negra.

En este anexo se describe de manera detallada el proceso de recambio de macho central en el grupo Hembra Negra y las concentraciones de testosterona en el macho juvenil Bongó en ese período.

En el mes de abril de 2015 se observó un proceso de recambio de macho central en su grupo (Hembra Negra): Desde el día 1/2 se podía observar un macho extraño (intruso 1: Tambor) rodeando el grupo, la concentración de testosterona en esa época era en promedio $516.2 \pm 66.7 \text{ ng/ml/SG}$; entre el 8/3 y 25/3 el macho central original Djembé era observado en el grupo en días intermitentes, en algunas ocasiones se observó a otro macho cerca del grupo “tambor” (intruso 1), las concentraciones de testosterona en Bongó en esa semana fueron en promedio de $601.6 \pm 62.7 \text{ ng/ml/SG}$. El día 10/4 se observó un nuevo macho “Charles” (intruso 2) cerca del grupo, este día Djembé aún estaba en el grupo (el intruso 1 “Tambor” ya no se observa), ese día Bongó exhibió una concentración de 220.2 ng/ml/SG . El día 23/4 hubo una intensa pelea (con heridas en ambos individuos) entre Djembé y Charles (intruso 2), la pelea finalizó con la retirada de Charles (Figura 3). Ese día Bongó registró sus valores de testosterona más elevados en todo el estudio (1478.93 ng/ml/SG), la semana siguiente 28 y 29 de abril el grupo tuvo un nuevo macho central “Charles”, a Djembé no lo volvimos a ver, esta semana (29/4) las concentraciones de testosterona volvieron a disminuir (392.7 ng/ml/SG).

Figura 3. Djembé (23/4/2015); (a) individuo descansando luego de pelea, (b) herida en pata trasera izquierda causada por mordida del otro individuo en la pelea.



Referencias bibliográficas

- Acevedo-Rodriguez, A., Mani, S. K., & Handa, R. J. (2015). Oxytocin and estrogen receptor β in the brain: An overview. *Frontiers in Endocrinology*, 6, 160. <https://doi.org/10.3389/fendo.2015.00160>
- Agostini, I., & Visalberghi, E. (2005). Social influences on the acquisition of sex-typical foraging patterns by juveniles in a group of wild tufted capuchin monkeys (*Cebus nigratus*). *American Journal of Primatology*, 65(4), 335–351. <https://doi.org/10.1002/ajp.20120>
- Aguilar-Cucurachi, M. A. S., Dias, P. A. D., Rangel-Negrín, A., Chavira, R., Boeck, L., & Canales-Espinosa, D. (2010). Preliminary evidence of accumulation of stress during translocation in mantled howlers. *American Journal of Primatology*, 72(9), 805–810. <https://doi.org/10.1002/ajp.20841>
- Aguilar-Melo, A. R., Andresen, E., Cristóbal-Azkarate, J., Arroyo-Rodríguez, V., Chavira, R., Schondube, J., ... Cuarón, A. D. (2013). Behavioral and physiological responses to subgroup size and number of people in howler monkeys inhabiting a forest fragment used for nature-based tourism. *American Journal of Primatology*, 75(11), 1108–1116. <https://doi.org/10.1002/ajp.22172>
- Ahmed, S. A., & Talal, N. (1990). Sex hormones and the immune system—part 2. Animal data. *Baillière's Clinical Rheumatology*, 4(1), 13–31. [https://doi.org/10.1016/S0950-3579\(05\)80241-9](https://doi.org/10.1016/S0950-3579(05)80241-9)
- Ahumada, J. A. (1992). Grooming behavior of spider monkeys (*Ateles geoffroyi*) on barro colorado Island, Panama. *International Journal of Primatology*, 13(1), 33–49. <https://doi.org/10.1007/BF02547726>
- Albuquerque, V. J., & Codenotti, T. L. (2006). Ethogram of black-and-gold howler monkeys *Alouatta caraya* (Humboldt, 1812) (*Primates, Atelidae*) from a group in a fragmented habitat. *Revista de Etologia*, 8(2), 2175–3636. http://pepsic.bvsalud.org/scielo.php?pid=S1517-28052006000200006&script=sci_abstract&tlng=en
- Alexander, B. K., & Roth, E. M. (1971). The effects of acute crowding on aggressive behavior of Japanese Monkeys. *Behaviour*, 39(2), 73–89. <https://doi.org/10.1163/156853971X00195>
- Altmann, J. (1974). Observational study of behavior: sampling methods. *Behaviour*, 49(3), 227–266. <https://doi.org/10.1163/156853974X00534>
- Altmann, S. A. (1998). *Foraging for survival: yearling baboons in Africa*. University of Chicago Press, Chicago.
- Andelman, S. J. (1987). Evolution of Concealed ovulation in vervet monkeys (*Cercopithecus aethiops*). *The American Naturalist*, 129(6), 785–799. <https://doi.org/10.1086/284675>
- Andelman, S. J., Else, J. G., Hearn, J. P., & Hodges, J. K. (2009). The non-invasive monitoring of reproductive events in wild Vervet monkeys (*Cercopithecus aethiops*) using urinary pregnanediol-3 α -glucuronide and its correlation with behavioural observations. *Journal of Zoology*, 205(4), 467–477. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1985.tb03538.x>
- Anestis, S. F. (2006). Testosterone in juvenile and adolescent male chimpanzees (*Pan troglodytes*): Effects of dominance rank, aggression, and behavioral style. *American Journal of Physical Anthropology*, 130(4), 536–545. <https://doi.org/10.1002/ajpa.20387>
- Anestis, S. F. (2010). Hormones and social behavior in primates. *Evolutionary Anthropology: Issues, News, and Reviews*, 19(2), 66–78. <https://doi.org/10.1002/evan.20253>
- Anestis, S. F., Breakey, A. A., Beuerlein, M. M., & Bribiescas, R. G. (2009). Specific gravity as an

- alternative to creatinine for estimating urine concentration in captive and wild chimpanzee (*Pan troglodytes*) samples. *American Journal of Primatology*, 71(2), 130–135.
<https://doi.org/10.1002/ajp.20631>
- Anestis, S. F., & Bribiescas, R. G. (2004). Rapid changes in chimpanzee (*Pan troglodytes*) urinary cortisol excretion. *Hormones and Behavior*, 45(3), 209–213. <https://doi.org/10.1016/J.YHBEH.2003.09.015>
- 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. <https://doi.org/10.1093/conphys/cov006>
- Asensio, N., Korstjens, A., Schaffner, C., & Aureli, F. (2008). Intragroup aggression, fission–fusion dynamics and feeding competition in spider monkeys. *Behaviour*, 145(7), 983–1001.
<https://doi.org/10.1163/156853908784089234>
- Bahr, N. I., Pryce, C. R., Döbeli, M., & Martin, R. D. (1998). Evidence from urinary cortisol that maternal behavior is related to stress in gorillas. *Physiology and Behavior*, 64(4), 429–437.
[https://doi.org/10.1016/S0031-9384\(98\)00057-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9384(98)00057-2)
- Balcels, C. D., & Baró, J. J. V. (2009). Developmental stages in the howler monkey, subspecies *Alouatta Palliata Mexicana* : A New Classification Using Age-Sex Categories. *Neotropical Primates*, 16(1), 1–8. <https://doi.org/10.1896/044.016.0101>
- Baldwin, J. D. (1969). The ontogeny of social behaviour of squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*) in a seminatural environment. *Folia Primatologica*, 11(1), 35–79. <https://doi.org/10.1159/000155258>
- Baldwin, J. D. (1971). The social organization of a semifree-ranging troop of squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*). *Folia Primatologica*, 14(1), 23–50. <https://doi.org/10.1159/000155332>
- Baldwin, J. D., & Baldwin, J. I. (1973). Interactions between adult female and infant howling monkeys (*Alouatta palliata*). *Folia Primatologica*, 20(1), 27–71. <https://doi.org/10.1159/000155566>
- Baldwin, J. D., & Baldwin, J. I. (1978). Exploration and Play in Howler Monkeys (*Alouatta palliata*). *Primates*, 19(3), 411–422.
- Barrickman, N. L., Bastian, M. L., Isler, K., & van Schaik, C. P. (2008). Life history costs and benefits of encephalization: a comparative test using data from long-term studies of primates in the wild. *Journal of Human Evolution*, 54(5), 568–590. <https://doi.org/10.1016/j.jhevol.2007.08.012>
- Bates, D., Maechler, B., Bolker, B., & Walker, S. (2015). Fitting Linear Mixed-Effects Models Using {lme4}. *Journal of Statistical Software*, 67, 1–48. <https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>
- Beehner, J. C., & Bergman, T. J. (2017). The next step for stress research in primates: To identify relationships between glucocorticoid secretion and fitness. *Hormones and Behavior*, 91, 68–83.
<https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2017.03.003>
- Beehner, J. C., & McCann, C. (2008). Seasonal and altitudinal effects on glucocorticoid metabolites in a wild primate (*Theropithecus gelada*). *Physiology and Behavior*, 95(3), 508–514.
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2008.07.022>
- Behie, A. M., & Pavelka, M. S. M. (2012). Food selection in the black howler monkey following habitat disturbance: Implications for the importance of mature leaves. *Journal of Tropical Ecology*, 28(2), 153–160. <https://doi.org/10.1017/S0266467411000678>
- 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*, 72(7), 600–606.
<https://doi.org/10.1002/ajp.20813>
- Bekoff, M. (1988). Motor training and physical fitness: Possible short- and long-term influences on the development of individual differences in behavior. *Developmental Psychobiology*, 21(6), 601–612.
<https://doi.org/10.1002/dev.420210610>
- Bekoff, M., & Byers, J. A. (1998). *Animal play : evolutionary, comparative, and ecological perspectives*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Benítez, M. E., Sosnowski, M. J., Tomeo, O. B., & Brosnan, S. F. (2018). Urinary oxytocin in capuchin monkeys: Validation and the influence of social behavior. *American Journal of Primatology*, 80(10), e22877. <https://doi.org/10.1002/ajp.22877>
- Bercovitch, F. B., Sladky, K. K., Roy, M. M., & Goy, R. W. (1987). Intersexual aggression and male sexual activity in captive rhesus macaques. *Aggressive Behavior*, 13(6), 347–358.
[https://doi.org/10.1002/1098-2337\(1987\)13:6<347::AID-AB2480130603>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/1098-2337(1987)13:6<347::AID-AB2480130603>3.0.CO;2-4)
- Bernstein, I. S. (1978). Sex differences in the behavior of nonhuman primates. *Social Science & Medicine. Part B: Medical Anthropology*, 12, 151–154. [https://doi.org/10.1016/0160-7987\(78\)90025-X](https://doi.org/10.1016/0160-7987(78)90025-X)
- Bernstein, I. S., Rose, R. M., & Gordon, T. P. (1977). Behavioural and hormonal responses of male rhesus monkeys introduced to females in the breeding and non-breeding seasons. *Animal Behaviour*, 25, 609–614. [https://doi.org/10.1016/0003-3472\(77\)90111-7](https://doi.org/10.1016/0003-3472(77)90111-7)
- Bezanson, M., Garber, P. A., Murphy, J. T., & Premo, L. S. (2008). Patterns of subgrouping and spatial affiliation in a community of mantled howling monkeys (*Alouatta palliata*). *American Journal of Primatology*, 70(3), 282–293. <https://doi.org/10.1002/ajp.20486>
- Bezirtzoglou, E. (1997). The intestinal microflora during the first weeks of life. *Anaerobe*, 3(2–3), 173–177.
<https://doi.org/10.1006/anae.1997.0102>
- Biben, M. (1998). Squirrel monkey play fighting: making the case for a cognitive training function for play. In M. B. Bekoff, & A. Byres (Ed.), *Animal play: Evolutionary, comparative, and ecological perspectives* (pp. 161–182). Cambridge University Press, Cambridge.
- Bicca-Marques, J. C., & Calegari-Marques, C. (1994). Activity budget and diet of *Alouatta caraya*: an age-sex analysis. *Folia Primatologica*, 63(4), 216–220. <https://doi.org/10.1159/000156823>
- Bicca-Marques, J. C., & Calegari-Marques, C. (1998). Behavioral thermoregulation and developmentally dichromatic neotropical primate, the Black-and Gold Howling Monkey (*Alouatta caraya*). *American Journal of Physical Anthropology*, 106(April), 533–546. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-8644\(199808\)106](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-8644(199808)106)
- Bidner, L. (2003). Are juveniles at greater risk than adults? Preliminary data on ecological risk aversion in two species of neotropical monkeys (*Cebus albifrons* and *Saimiri boliviensis*) in Peru. *American journal of physical anthropology*, 67.
- Blomquist, G. ., Kowalewski, M. ., & Leigh, S. . (2009). Demographic and morphological perspectives on life history evolution and conservation of New World monkeys. In P. . Garber, A. Estrada, J. . Bicca-Marques, E. . Heymann, & K. B. Strier (Eds.), *South American Primates, Comparative perspectives of behavior, ecology, and conservation* (pp. 117–138). Springer, New York. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-78705-3>

- Blomquist, G. E. (2009). Trade-off between age of first reproduction and survival in a female primate. *Biology Letters*, 5(3), 339–342. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2009.0009>
- Bolker, B. (2018). Getting started with the glmmTMB package. Retrieved from <https://journal.r-project.org/archive/2017/RJ-2017-066/index>.
- Bolker, B. M. (2015). Linear and generalized linear mixed models. In G. Fox, S. Negrete-Yankelevich, & V. Sosa (Eds.), *Ecological Statistics: Contemporary Theory and Application* (pp. 309–333). Oxford University Press, Oxford.
- Bolker, B. M., Brooks, M. E., Clark, C. J., Geange, S. W., Poulsen, J. R., Stevens, M. H. H., & White, J.-S. S. (2009). Generalized linear mixed models: a practical guide for ecology and evolution. *Trends in Ecology & Evolution*, 24(3), 127–135. <https://doi.org/10.1016/J.TREE.2008.10.008>
- Boose, K., White, F., Brand, C., Meinelt, A., & Snodgrass, J. (2018). Infant handling in bonobos (*Pan paniscus*): Exploring functional hypotheses and the relationship to oxytocin. *Physiology & Behavior*, 193, 154–166. <https://doi.org/10.1016/J.PHYSBEH.2018.04.012>
- Bourgeois, J.-P., Goldman-Rakic, P. S., & Rakic, P. (1994). Synaptogenesis in the prefrontal cortex of Rhesus Monkeys. *Cerebral Cortex*, 4(1), 78–96. <https://doi.org/10.1093/cercor/4.1.78>
- Bradley, B. J., & Mundy, N. I. (2008). The primate palette: The evolution of primate coloration. *Evolutionary Anthropology*, 17(2), 97–111. <https://doi.org/10.1002/evan.20164>
- Bravo, S. P., & Sallenave, A. (2003). Foraging behavior and activity patterns of *Alouatta caraya* in the northeastern Argentinean flooded forest. *International Journal of Primatology*, 24(4), 825–846. <https://doi.org/10.1023/A:1024680806342>
- Bredewold, R., Smith, C. J. W., Dumais, K. M., & Veenema, A. H. (2014). Sex-specific modulation of juvenile social play behavior by vasopressin and oxytocin depends on social context. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 8, 216. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00216>
- Breuer, T., Hockemba, M. B.-N., Olejniczak, C., Parnell, R. J., & Stokes, E. J. (2009). Physical maturation, life-history classes and age estimates of free-ranging western gorillas-insights from Mbeli Bai, Republic of Congo. *American Journal of Primatology*, 71(2), 106–119. <https://doi.org/10.1002/ajp.20628>
- Breuer, T., Robbins, M. M., & Boesch, C. (2007). Using photogrammetry and color scoring to assess sexual dimorphism in wild western gorillas (*Gorilla gorilla*). *American Journal of Physical Anthropology*, 134(3), 369–382. <https://doi.org/10.1002/ajpa.20678>
- Bribiescas, R. G. (2001). Reproductive ecology and life history of the human male. *American Journal of Physical Anthropology*, 116(S33), 148–176. <https://doi.org/10.1002/ajpa.10025>
- Brockman, D. K., Whitten, P. L., Richard, A. F., & Schneider, A. (1998). Reproduction in free-ranging male *Propithecus verreauxi*: The hormonal correlates of mating and aggression. *American Journal of Physical Anthropology*, 105(2), 137–151. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-8644\(199802\)105:2<137::AID-AJPA3>3.0.CO;2-S](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-8644(199802)105:2<137::AID-AJPA3>3.0.CO;2-S)
- Brommer, J. E. (2000). The evolution of fitness in life-history theory. *Biological Reviews*, 75(3), 377–404. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2000.tb00049.x>
- Brown, S. L., Fredrickson, B. L., Wirth, M. M., Poulin, M. J., Meier, E. A., Heaphy, E. D., ... Schultheiss, O. C. (2009). Social closeness increases salivary progesterone in humans. *Hormones and Behavior*, 56(1),

- 108–111. <https://doi.org/10.1016/J.YHBEH.2009.03.022>
- Bruce, J., Poggi Davis, E., & R. Gunnar, M. (2002). Individual differences in children's cortisol response to the beginning of a new school year. *Psychoneuroendocrinology*, 27(6), 635–650.
[https://doi.org/10.1016/S0306-4530\(01\)00031-2](https://doi.org/10.1016/S0306-4530(01)00031-2)
- Burbach, P., Young, L. ., & Russell, J. (2006). Oxytocin: synthesis, secretion, and reproductive functions. In J. Neill (Ed.), *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction* (pp. 3055–2127). Elsevier, New York.
- Burghardt, G. M. (2005). *The genesis of animal play : testing the limits*. MIT Press.
- Byrne, G., & Suomi, S. J. (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. *Psychoneuroendocrinology*, 27(1–2), 139–154. [https://doi.org/10.1016/S0306-4530\(01\)00041-5](https://doi.org/10.1016/S0306-4530(01)00041-5)
- Cabrera, A. (1976). *Enciclopedia argentina de agricultura y jardinería. Fascículo I, Regiones fitogeográficas argentinas*. Acme Press.
- Calegaro-Marques, C., & Bicca-Marques, J. C. (1993). Allomaternal care in the black howler monkey (*Alouatta caraya*). *Folia Primatologica; International Journal of Primatology*, 61(2), 104–109.
<https://doi.org/10.1159/000156736>
- Cameron, J. L. (2004). Interrelationships between hormones, behavior, and affect during adolescence: understanding hormonal, physical, and brain changes occurring in association with pubertal activation of the reproductive axis. Introduction to Part III. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1021(1), 110–123. <https://doi.org/10.1196/annals.1308.012>
- Campbell, A. (2008). Attachment, aggression and affiliation: The role of oxytocin in female social behavior. *Biological Psychology*, 77(1), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2007.09.001>
- Campbell, B. (2006). Adrenarche and the evolution of human life history. *American Journal of Human Biology*, 18(5), 569–589. <https://doi.org/10.1002/ajhb.20528>
- Campbell, C. J. (2006). Lethal intragroup aggression by adult male spider monkeys (*Ateles geoffroyi*). *American Journal of Primatology*, 68(12), 1197–1201. <https://doi.org/10.1002/ajp.20305>
- Campbell, C. J., Shideler, S. E., Todd, H. E., & Lasley, B. L. (2001). Fecal analysis of ovarian cycles in female black-handed spider monkeys (*Ateles geoffroyi*). *American Journal of Primatology*, 54(2), 79–89. <https://doi.org/10.1002/ajp.1014>
- Cantarelli, V. I., Perez-Rueda, M. A., Kowalewski, M. M., Mastromonaco, G. F., & Ponzio, M. F. (2017). Validation of an enzyme immunoassay and comparison of fecal cortisol metabolite levels in black and gold howler monkeys (*Alouatta caraya*) inhabiting fragmented and continuous areas of the humid Chaco region, Argentina. *American Journal of Primatology*, 79(3), 1–9.
<https://doi.org/10.1002/ajp.22625>
- Carnegie, S. D., Fedigan, L. M., & Ziegler, T. E. (2005). Behavioral indicators of ovarian phase in white-faced capuchins (*Cebus capucinus*). *American Journal of Primatology*, 67(1), 51–68.
<https://doi.org/10.1002/ajp.20169>
- Carosi, M., Heistermann, M., & Visalberghi, E. (1999). Display of proceptive behaviors in relation to urinary and fecal progesterone levels over the ovarian cycle in female tufted capuchin monkeys. *Hormones and Behavior*, 36(3), 252–265. <https://doi.org/10.1006/hbeh.1999.1545>
- Castracane, V. D., Cutler, G. B., & Loriaux, D. L. (1981). Pubertal endocrinology of the baboon: adrenarche.

- The American Journal of Physiology*, 241(4), 305-9. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.1981.241.4.E305>
- Cavanaugh, J., Mustoe, A., & French, J. A. (2018). Oxytocin regulates reunion affiliation with a pairmate following social separation in marmosets. *American Journal of Primatology*, 80(10), e22750. <https://doi.org/10.1002/ajp.22750>
- Cavigelli, S. A., & Pereira, M. E. (2000). Mating season aggression and fecal testosterone levels in male ring-tailed lemurs (*Lemur catta*). *Hormones and Behavior*, 37(3), 246–255. <https://doi.org/10.1006/hbeh.2000.1585>
- Champagne, F. A., Weaver, I. C. G., Diorio, J., Sharma, S., & Meaney, M. J. (2003). Natural variations in maternal care are associated with estrogen receptor α expression and estrogen sensitivity in the medial Preoptic Area. *Endocrinology*, 144(11), 4720–4724. <https://doi.org/10.1210/en.2003-0564>
- Cheney, D. L. (1978). The play partners of immature baboons. *Animal Behaviour*, 26(4), 1038–1050. [https://doi.org/10.1016/0003-3472\(78\)90093-3](https://doi.org/10.1016/0003-3472(78)90093-3)
- Chiarello, A. G. (1995). Grooming in brown Howler Monkeys, *Alouatta fusca*. *American Journal of Primatology*, 35(1), 73–81. <https://doi.org/10.1002/ajp.1350350107>
- Chism, J. (1986). Development and mother-infant relations among captive patas monkeys. *International Journal of Primatology*, 7(1), 49–81. <https://doi.org/10.1007/BF02692309>
- Chivers, D. J., & Hladik, C. M. (1980). Morphology of the gastrointestinal tract in primates: Comparisons with other mammals in relation to diet. *Journal of Morphology*, 166(3), 337–386. <https://doi.org/10.1002/jmor.1051660306>
- Clarke, A. S., & Boinski, S. (1995). Temperament in nonhuman primates. *American Journal of Primatology*, 37(2), 103–125. <https://doi.org/10.1002/ajp.1350370205>
- Clarke, M. R. (1990). Behavioral development and socialization of infants in a free-ranging group of howling monkeys (*Alouatta palliata*). *Folia Primatologica*, 54(1–2), 1–15. <https://doi.org/10.1159/000156422>
- Clarke, M. R., Zucker, E. L., Ford, R. T., & Harrison, R. M. (2007). Behavior and endocrine concentrations do not distinguish sex in monomorphic juvenile howlers (*Alouatta palliata*). *American Journal of Primatology*, 69(4), 477–484. <https://doi.org/10.1002/ajp.20354>
- Clarke, M. R., Zucker, E. L., & Glander, K. E. (1994). Group takeover by a natal male howling monkey (*Alouatta palliata*) and associated disappearance and injuries of immatures. *Primates*, 35(4), 435–442. <https://doi.org/10.1007/BF02381952>
- Clough, D., Heistermann, M., & Kappeler, P. M. (2010). Host intrinsic determinants and potential consequences of parasite infection in free-ranging red-fronted lemurs (*Eulemur fulvus rufus*). *American Journal of Physical Anthropology*, 142(3), 441–452. <https://doi.org/10.1002/ajpa.21243>
- Clutton-Brock, T. H., Harvey, P. H., & Rudder, B. (1977). Sexual dimorphism, sociometric sex ratio and body weight in primates. *Nature*, 269(5631), 797–800. <https://doi.org/10.1038/269797a0>
- Clutton-Brock, T. H., & Iason, G. R. (1986). Sex Ratio Variation in Mammals. *The Quarterly Review of Biology*, 61(3), 339–374. <https://doi.org/10.1086/415033>
- Coelho, A. M., & Bramblett, C. A. (1982). Social play in differentially reared infant and juvenile baboons (*Papio sp.*). *American Journal of Primatology*, 3(1–4), 153–160. <https://doi.org/10.1002/ajp.1350030114>
- Cooper, M. A., & Bernstein, I. S. (2000). Social grooming in assamese macaques (*Macaca assamensis*).

- American Journal of Primatology*, 50(1), 77–85. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2345\(200001\)50:1<77::AID-AJP7>3.0.CO;2-R](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2345(200001)50:1<77::AID-AJP7>3.0.CO;2-R)
- Coppo, J. A., & Resoagli, E. H. (1978). Etapas de crecimiento en monos caraya (*Alouatta caraya*). *Facena*, 2, 29–39.
- Cords, M. (2002). Friendship among adult female blue monkeys (*Cercopithecus mitis*). *Behaviour*, 139(2), 291–314. <https://doi.org/10.1163/156853902760102681>
- Cords, M. (2012). The behavior, ecology and social evolution of *Cercopithecine* monkeys. In J. Mitani, J. Call, P. Kappeler, R. Palombi, & J. Silk (Eds.), *The Evolution of Primate Societies* (pp. 91–112). University of Chicago Press, Chicago.
- Cords, M., & Aureli, F. (2003). Patterns of reconciliation among juvenile long-tailed macaques. In M. E. Pereira & L. Fairbanks (Eds.), *Juvenile primates: life history, development, and behavior* (2nd ed. pp. 271–284). University of Chicago Press, Chicago.
- Cords, M., Sheehan, M. J., & Ekernas, L. S. (2010). Sex and age differences in juvenile social priorities in female philopatric, nondespotic blue monkeys. *American Journal of Primatology*, 72(3), 193–205. <https://doi.org/10.1002/ajp.20768>
- Corley, M., Vallengia, C., & Fernandez-Duque, E. (2017). Hormonal correlates of development and natal dispersal in wild female owl monkeys (*Aotus azarae*) of Argentina. *Hormones and Behavior*, 96, 42–51. <https://doi.org/10.1016/J.YHBEH.2017.08.005>
- Cortés-Ortiz, L., Rhylands, A. B., & Mittermeier, R. A. (2015). The taxonomy of howler monkeys: Integrating old and new knowledge from morphological and genetics studies. In M. Kowalewski, P. Garber, L. Cortés-Ortiz, B. Urbani, & D. Youlatos (Eds.), *Howler Monkeys Adaptive radiation, systematics, and morphology* (Vol. 1, pp. 55–84). Springer, Lethbridge, Canada.
- Crespi, E. J., Williams, T. D., Jessop, T. S., & Delehanty, B. (2013). Life history and the ecology of stress: how do glucocorticoid hormones influence life-history variation in animals? *Functional Ecology*, 27(1), 93–106. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12009>
- Cristóbal-azkarate, J., Chavira, R., Boeck, L., Rodríguez-luna, E., & Veà, J. J. (2007). Glucocorticoid levels in free ranging resident mantled howlers: a study of coping strategies. *American Journal of Primatology*, 69(8), 866–876. <https://doi.org/10.1002/ajp.20383>
- Cristóbal-Azkarate, J., Chavira, R., Boeck, L., Rodríguez-Luna, E., & Veà, J. J. (2006). Testosterone levels of free-ranging resident mantled howler monkey males in relation to the number and density of solitary males: A test of the challenge hypothesis. *Hormones and Behavior*, 49(2), 261–267. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2005.07.015>
- Crockett, C., & Pope, T. R. (2003). Consequences of sex differences in dispersal for juvenile red howler monkey. In M. Pereira & L. Fairbanks (Eds.), *Juvenile Primates, Life history, development, and behavior* (pp. 105–118). The University of Chicago Press, Chicago.
- Crockett, C., & Eisenberg, J. (1987). Howlers: variations in group size and demography. In B. Smuts, D. Cheney, R. Seyfarth, W. RW, & T. Struhsaker (Eds.), *Primate societies*. (pp. 54–68). The University of Chicago Press, Chicago.
- Crockett, C. M. (1984). Emigration y female red howler monkeys and the case for female competition. *Liss, Inc.*, 159–173.

- Crockett, C. M. (1987). Diet, dimorphism and demography: Perspectives from howlers to hominids. In W. Kinzey (Ed.), *The Evolution of Human Behavior: Primate Models*. (pp. 115–135). SUNY Press, New York.
- Crockett, C. M. (2003). Re-evaluating the sexual selection hypothesis for infanticide by *Alouatta* male. In C. B. Jones (Ed.), *Sexual Selection and Reproductive Competition in Primates : New Perspectives Directions* (pp. 327–365). American Society of Primatologists, Norman, OK.
- Crockford, C., Wittig, R. M., Langergraber, K., Ziegler, T. E., Zuberbühler, K., & Deschner, T. (2013). Urinary oxytocin and social bonding in related and unrelated wild chimpanzees. *Proceedings. Biological Sciences*, 280(1755), 20122765. <https://doi.org/10.1098/rspb.2012.2765>
- Cutolo, M., Sulli, A., Capellino, S., Villaggio, B., Montagna, P., Seriolo, B., & Straub, R. H. (2004). Sex hormones influence on the immune system: basic and clinical aspects in autoimmunity. *Lupus*, 13(9), 635–638. <https://doi.org/10.1191/0961203304lu1094oa>
- Da Cunha, R. G. T., & Byrne, R. W. (2006). Roars of black howler monkeys (*Alouatta caraya*): Evidence for a function in inter-group spacing. *Behaviour*, 143(10), 1169–1199. <https://doi.org/10.1163/156853906778691568>
- Da Cunha, R. G. T., & Jalles-Filho, E. (2007). The roaring of southern brown howler monkeys (*Alouatta guariba clamitans*) as a mechanism of active defence of borders. *Folia Primatologica*, 78(4), 259–271. <https://doi.org/10.1159/000105545>
- de Jonge, F. H., Muntjewerff, J.-W., Louwerse, A. L., & van de Poll, N. E. (1988). Sexual behavior and sexual orientation of the female rat after hormonal treatment during various stages of development. *Hormones and Behavior*, 22(1), 100–115. [https://doi.org/10.1016/0018-506X\(88\)90034-7](https://doi.org/10.1016/0018-506X(88)90034-7)
- de Waal, F. B. (2003). Codevelopment of dominance relations and affiliative bonds in rhesus monkeys. In M. . Pereira & L. A. Fairbanks (Eds.), *Juvenile Primates: Life, history, development and behavior* (2nd ed. pp. 259–270). The University of Chicago Press, Chicago.
- Deaner, R., Barton, R., & van Schaik, C. (2003). Primate brains and life histories: renewing the connection. In P. Kappeler & M. Pereira (Eds.), *Primate life histories and socioecology* (pp. 233–265). The University of Chicago Press Chicago.
- Di Bitetti, M. . (1997). Evidence for an important social role of allogrooming in a platyrrhine primate. *Animal Behaviour*, 54(1), 199–211. <https://doi.org/10.1006/ANBE.1996.0416>
- Di Fiore, A., & Campbell, C. (2011). The Atelines: variation in ecology, behaviour and social organization. In L. Campbel, A. Fuentes, K. Mackinnon, S. Bearder, & R. Stumpf (Eds.), *Primates in perspective* (2nd ed., pp. 156–185). Oxford University Press, Oxford, UK.
- Donaldson, Z. R., & Young, L. J. (2008). Oxytocin, vasopressin, and the neurogenetics of sociality. *Science (New York, N.Y.)*, 322(5903), 900–904. <https://doi.org/10.1126/science.1158668>
- Dunbar, R. I. M. (1991). Functional significance of social grooming in primates. *Folia Primatologica*, 57(3), 121–131. <https://doi.org/10.1159/000156574>
- Dunn, J. C., Cristóbal-Azkarate, J., Schulte-Herbrüggen, B., Chavira, R., & Veà, J. J. (2013). Travel time predicts fecal glucocorticoid levels in free-ranging Howlers (*Alouatta palliata*). *International Journal of Primatology*, 34(2), 246–259. <https://doi.org/10.1007/s10764-013-9657-0>
- Eaton, G. G., Modahl, K. B., & Johnson, D. F. (1981). Aggressive behavior in a confined troop of Japanese

- macaques: Effects of density, season, and gender. *Aggressive Behavior*, 7(2), 145–164.
[https://doi.org/10.1002/1098-2337\(1981\)7:2<145::AID-AB2480070207>3.0.CO;2-M](https://doi.org/10.1002/1098-2337(1981)7:2<145::AID-AB2480070207>3.0.CO;2-M)
- Ellison, P. T. (2003). Energetics and reproductive effort. *American Journal of Human Biology*, 15(3), 342–351. <https://doi.org/10.1002/ajhb.10152>
- Fagen, R. (1981). *Animal play behavior*. Oxford University Press. <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US19820758466>
- Fagen, R. (2003). Primate juvenile and primate play. In M. Pereira & L. Fairbancks (Eds.), *Juvenile Primates: Life, history, development and behavior* (2nd ed. pp. 182–196). The University of Chicago Press, Chicago
- Fairbanks, L. A. (1990). Reciprocal benefits of allomothering for female vervet monkeys. *Animal Behaviour*, 40(3), 553–562. [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(05\)80536-6](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(05)80536-6)
- Fan, P.-F., Xiao, W., Huo, S., & Jiang, X.-L. (2009). Singing behavior and singing functions of black-crested gibbons (*Nomascus concolor jingdongensis*) at Mt. Wuliang, central Yunnan, China. *American Journal of Primatology*, 71(7), 539–547. <https://doi.org/10.1002/ajp.20686>
- Feldman, R. (2012). Oxytocin and social affiliation in humans. *Hormones and Behavior*, 61(3), 380–391. <https://doi.org/10.1016/J.YHBEH.2012.01.008>
- Feng, X., Wu, X., Morrill, R. J., Li, Z., Li, C., Yang, S., ... Hu, X. (2016). Social correlates of the dominance rank and long-term cortisol levels in adolescent and adult male rhesus macaques (*Macaca mulatta*). *Scientific Reports*, 6(April), 1–9. <https://doi.org/10.1038/srep25431>
- Fernández, V. A., & Kowalewski, M. M. (2018). Ecología alimentaria de *Alouatta caraya* en Argentina: patrones de selección del alimento, ¿Una cuestión de métodos?. In B. Urbani, M. M. Kowalewski, R. Grassetto, S. De la Torre, & L. Cortés-Ortiz (Eds.), *La Primatología en Latinoamérica 2, Tomo I* (pp. 83–93). IVIC, Altos de Pipe, Venezuela.
- Fernández, V. A., Kowalewski, M., & Zunino, G. E. (2013). Who is coordinating collective movements in black and gold howler monkeys? *Primates*, 54(2), 191–199. <https://doi.org/10.1007/s10329-013-0342-x>
- Finkenwirth, C., Martins, E., Deschner, T., & Burkart, J. M. (2016). Oxytocin is associated with infant-care behavior and motivation in cooperatively breeding marmoset monkeys. *Hormones and Behavior*, 80, 10–18. <https://doi.org/10.1016/J.YHBEH.2016.01.008>
- Förster, S., & Cords, M. (2005). Socialization of infant blue monkeys (*Cercopithecus mitis stuhlmanni*): Allomaternal interactions and sex differences. *Behaviour*, 142(7), 869–896. <https://doi.org/10.1163/1568539055010138>
- Fouquet, J. P., Meusy-Dessolle, N., & Dang, D. C. (1984). Morphometry of fetal Leydig cells in the monkey (*Macaca fascicularis*), correlation with plasma testosterone. *Biology of the Cell*, 49(3), 267–272. <https://doi.org/10.1111/j.1768-322X.1984.tb00246.x>
- Fourie, N. H., & Bernstein, R. M. (2011). Hair cortisol levels track phylogenetic and age related differences in hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis activity in non-human primates. *General and Comparative Endocrinology*, 174(2), 150–155. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2011.08.013>
- Fournier, D. A., Skaug, H. J., Ancheta, J., Ianelli, J., Magnusson, A., Maunder, M. N., ... Sibert, J. (2012). AD Model Builder: using automatic differentiation for statistical inference of highly parameterized

- complex nonlinear models. *Optimization Methods and Software*, 27(2), 233–249.
<https://doi.org/10.1080/10556788.2011.597854>
- Fragaszy, D. M. (1990). Sex and age differences in the organization of behavior in wedge-capped capuchins, *Cebus olivaceus*. *Behavioral Ecology*, 1(1), 81–94. <https://doi.org/10.1093/beheco/1.1.81>
- Fragaszy, D. M., Baer, J., & Adams-Curtis, L. (1991). Behavioral development and maternal care in tufted capuchins (*Cebus apella*) and squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*) from birth through seven months. *Developmental Psychobiology*, 24(6), 375–393. <https://doi.org/10.1002/dev.420240602>
- Fragaszy, D. M., Izar, P., Liu, Q., Eshchar, Y., Young, L. A., & Visalberghi, E. (2016). Body mass in wild bearded capuchins, (*Sapajus libidinosus*): Ontogeny and sexual dimorphism. *American Journal of Primatology*, 78(4), 473–484. <https://doi.org/10.1002/ajp.22509>
- Frank, R., & Silk, J. (2009). Impatient traders or contingent reciprocators? Evidence for the extended time-course of grooming exchanges in baboons. *Behaviour*, 146(8), 1123–1135.
<https://doi.org/10.1163/156853909X406455>
- French, J. A., Abbott, D. H., & Snowdon, C. T. (1984). The effect of social environment on estrogen excretion, scent marking, and sociosexual behavior in tamarins (*Saguinus oedipus*). *American Journal of Primatology*, 6(3), 155–167. <https://doi.org/10.1002/ajp.1350060304>
- Frye, C. A., Petralia, S. M., & Rhodes, M. E. (2000). Estrous cycle and sex differences in performance on anxiety tasks coincide with increases in hippocampal progesterone and 3 α ,5 α -THP. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 67(3), 587–596. [https://doi.org/10.1016/S0091-3057\(00\)00392-0](https://doi.org/10.1016/S0091-3057(00)00392-0)
- Fujita, S., Mitsunaga, F., Sugiura, H., & Shimizu, K. (2001). Measurement of urinary and fecal steroid metabolites during the ovarian cycle in captive and wild Japanese macaques, *Macaca fuscata*. *American Journal of Primatology*, 53(4), 167–176. <https://doi.org/10.1002/ajp.3>
- Galdikas, B. M. F. (1985). Subadult male orangutan sociality and reproductive behavior at Tanjung Puting. *American Journal of Primatology*, 8(2), 87–99. <https://doi.org/10.1002/ajp.1350080202>
- Garber, P. ., Righini, N., & Kowalewski, M. . (2015). Evidence of alternative dietary syndromes and nutritional goals in the genus *Alouatta*. In M. M. Kowalewski, P. A. Garber, L. Cortés-Ortiz, B. Urbani, & D. Yulatos (Eds.), *Howler Monkeys: Behavior, Ecology, and Conservation* (pp. 85–108). Springer, New York. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1960-4>
- Garber, P. A., & Leigh, S. R. (1997). Ontogenetic variation in small-bodied New World primates: implications for patterns of reproduction and infant care. *Folia Primatologica*, 68(1), 1–22.
<https://doi.org/10.1159/000157226>
- Garber, P. A., Pruett, J. D., & Isaacson, J. (1993). Patterns of range use, range defense, and intergroup spacing in moustached tamarin monkeys (*Saguinus mystax*). *Primates*, 34(1), 11–25.
<https://doi.org/10.1007/BF02381276>
- Garratt, M., Lemaître, J.-F., Douhard, M., Bonenfant, C., Capron, G., Warnant, C., ... Gaillard, J.-M. (2015). High juvenile mortality is associated with sex-specific adult survival and lifespan in wild roe deer. *Current Biology*, 25(6), 759–763. <https://doi.org/10.1016/J.CUB.2014.11.071>
- Gennuso, M. S., Brividorio, M., Pavé, R., Raño, M., & Kowalewski, M. (2018). Social play among black and gold howler monkey (*Alouatta caraya*) immatures during intergroup encounters. *American Journal of Primatology*. <https://doi.org/10.1002/AJP.22909>

- Geröcs, K., Réthelyi, M., & Halász, B. (1986). Quantitative analysis of dendritic protrusions in the medial preoptic area during postnatal development. *Developmental Brain Research*, 26(1), 49–57. [https://doi.org/10.1016/0165-3806\(86\)90006-4](https://doi.org/10.1016/0165-3806(86)90006-4)
- Gesquiere, L. R., Altmann, J., Khan, M. Z., Couret, J., Yu, J. C., Endres, C. S., ... Wango, E. O. (2005). Coming of age: Steroid hormones of wild immature baboons (*Papio cynocephalus*). *American Journal of Primatology*, 67(1), 83–100. <https://doi.org/10.1002/ajp.20171>
- Gesquiere, L. R., Khan, M., Shek, L., Wango, T. L., Wango, E. O., Alberts, S. C., & Altmann, J. (2008). Coping with a challenging environment: Effects of seasonal variability and reproductive status on glucocorticoid concentrations of female baboons (*Papio cynocephalus*). *Hormones and Behavior*, 54(3), 410–416. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2008.04.007>
- Gettler, L. T., McDade, T. W., Agustin, S. S., Feranil, A. B., & Kuzawa, C. W. (2014). Testosterone, immune function, and life history transitions in Filipino males (*Homo sapiens*). *International Journal of Primatology*, 35(3–4), 787–804. <https://doi.org/10.1007/s10764-014-9749-5>
- Ghosh, M., Hutz, R. J., & Dukelow, W. R. (1982). Serum estradiol 17 beta, progesterone, and relative luteinizing hormone levels in Saimiri sciureus: cyclic variations and the effect of laparoscopy and follicular aspiration. *Journal of Medical Primatology*, 11(5), 312–318. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6153019>
- Gibson, K. N. (2010). Male mating tactics in spider monkeys: sneaking to compete. *American Journal of Primatology*, 72(9), 794–804. <https://doi.org/10.1002/ajp.20835>
- Ginther, A. J., Carlson, A. A., Ziegler, T. E., & Snowdon, C. T. (2002). Neonatal and pubertal development in males of a cooperatively breeding primate, the Cotton-Top Tamarin (*Saguinus oedipus oedipus*). *Biology of Reproduction*, 66(2), 282–290. <https://doi.org/10.1095/biolreprod66.2.282>
- Glander, K. E. (1980). Reproduction and population growth in free-ranging mantled howling monkeys. *American Journal of Physical Anthropology*, 53(1), 25–36. <https://doi.org/10.1002/ajpa.1330530106>
- Godfrey, L. R., Samonds, K. E., Jungers, W. L., Sutherland, M. R., & Irwin, M. T. (2004). Ontogenetic correlates of diet in Malagasy lemurs. *American Journal of Physical Anthropology*, 123(3), 250–276. <https://doi.org/10.1002/ajpa.10315>
- Goldstein, L. A., Kurz, E. M., & Sengelau, D. R. (1990). Androgen regulation of dendritic growth and retraction in the development of a sexually dimorphic spinal nucleus. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 10(3), 935–946. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.10-03-00935.1990>
- Gómez-Espinosa, E., Rangel-Negrín, A., Chavira, R., Canales-Espinosa, D., & Dias, P. A. D. (2014). The effect of energetic and psychosocial stressors on glucocorticoids in mantled howler monkeys (*Alouatta palliata*). *American Journal of Primatology*, 76(4), 362–373. <https://doi.org/10.1002/ajp.22240>
- Goodson, J. L., & Thompson, R. R. (2010). Nonapeptide mechanisms of social cognition, behavior and species-specific social systems. *Current Opinion in Neurobiology*, 20(6), 784–794. <https://doi.org/10.1016/J.CONB.2010.08.020>
- Govindarajulu, P., Hunte, W., Vermeer, L. A., & Horrocks, J. A. (1993). The ontogeny of social play in a feral troop of vervet monkeys (*Cercopithecus aethiops sabaues*): The function of early play. *International Journal of Primatology*, 14(5), 701–719. <https://doi.org/10.1007/BF02192187>

- Halekoh, U., & Højsgaard, S. (2014). Approximation and parametric bootstrap methods for tests in linear mixed models - The R Package pbkrtest. *Journal of Statistical Software*, 59 (9), 1–30.
- Hamilton, W. D., & Zuk, M. (1982). Heritable true fitness and bright birds: a role for parasites? *Science (New York, N.Y.)*, 218(4570), 384–387. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.7123238>
- Hanya, G. (2003). Age differences in food intake and dietary selection of wild male Japanese macaques. *Primates*, 44(4), 333–339. <https://doi.org/10.1007/s10329-003-0047-7>
- Hayaki, H. (1985). Social play of juvenile and adolescent chimpanzees in the Mahale Mountains National Park, Tanzania. *Primates*, 26(4), 343–360. <https://doi.org/10.1007/BF02382452>
- Heatwole, H. (1983). Physiological responses of animals to moisture and temperature. In F. Golley (Ed.), *Tropical Rain Forest Ecosystems* (p. 239–278). Amsterdam: Elsevier.
- Heesen, M., Rogahn, S., Macdonald, S., Ostner, J., & Schülke, O. (2014). Predictors of food-related aggression in wild Assamese macaques and the role of conflict avoidance. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 68(11), 1829–1841. <https://doi.org/10.1007/s00265-014-1792-x>
- Heistermann, M., Möhle, U., Vervaecke, H., van Elsacker, L., & Hodges, J. K. (1996). Application of urinary and fecal steroid measurements for monitoring ovarian function and pregnancy in the bonobo (*Pan paniscus*) and evaluation of perineal swelling patterns in relation to endocrine events. *Biology of Reproduction*, 55(4), 844–853. <https://doi.org/10.1095/biolreprod55.4.844>
- Herrick, J. R., Agoramoorthy, G., Rudran, R., & Harder, J. D. (2000). Urinary progesterone in free-ranging red howler monkeys (*Alouatta seniculus*): Preliminary observations of the estrous cycle and gestation. *American Journal of Primatology*, 51(4), 257–263. [https://doi.org/10.1002/1098-2345\(200008\)51:4<257::AID-AJP5>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/1098-2345(200008)51:4<257::AID-AJP5>3.0.CO;2-6)
- Hochberg, Z. (2008). Juvenility in the context of life history theory. *Archives of Disease in Childhood*, 93(6), 534–539. <https://doi.org/10.1136/adc.2008.137570>
- Holzmann, I. (2011). Distribución geográfica potencial y comportamiento vocal de dos especies de mono aullador (*Alouatta guariba clamitans* y *Alouatta caraya*). [Tesis Doctoral] Universidad Nacional de La Plata.
- Holzmann, I., Agostini, I., & Di Bitetti, M. (2012). Roaring behavior of two syntopic howler species (*Alouatta caraya* and *A. guariba clamitans*): Evidence supports the mate defense hypothesis. *International Journal of Primatology*, 33(2), 338–355. <https://doi.org/10.1007/s10764-012-9583-6>
- 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. <https://doi.org/10.1016/J.NEUBIOREV.2005.04.003>
- Horwich, R. H., & Gebhard, K. (1983). Roaring rhythms in black howler monkeys (*Alouatta pigra*) of Belize. *Primates*, 24(2), 290–296. <https://doi.org/10.1007/BF02381093>
- Horwich, R. H., & Manski, D. (1975). Maternal care and infant transfer in two species of *Colobus* monkeys. *Primates*, 16(1), 49–73. <https://doi.org/10.1007/BF02381799>
- Hothorn, T., Bretz, F., & Westfall, P. (2008). Simultaneous inference in general parametric models. *Biometrical Journal*, 50(3), 346–363. <https://doi.org/10.1002/bimj.200810425>
- Hutchins, M., & Barash, D. P. (1976). Grooming in primates: Implications for its utilitarian function. *Primates*, 17(2), 145–150. <https://doi.org/10.1007/BF02382848>

- Isbell, L. A. (1991). Contest and scramble competition: patterns of female aggression and ranging behavior among primates. *Behavioral Ecology*, 2(2), 143–155. <https://doi.org/10.1093/beheco/2.2.143>
- Isler, K., & van Schaik, C. P. (2009). The Expensive Brain: A framework for explaining evolutionary changes in brain size. *Journal of Human Evolution*, 57(4), 392–400. <https://doi.org/10.1016/j.jhevol.2009.04.009>
- Jack, K. M., Schoof, V. A. M., Sheller, C. R., Rich, C. I., Klingelhofer, P. P., Ziegler, T. E., & Fedigan, L. (2014). Hormonal correlates of male life history stages in wild white-faced capuchin monkeys (*Cebus capucinus*). *General and Comparative Endocrinology*, 195, 58–67. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2013.10.010>
- Janson, C. H. (1990). Ecological consequences of individual spatial choice in foraging groups of brown capuchin monkeys, *Cebus apella*. *Animal Behaviour*, 40(5), 922–934. [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(05\)80994-7](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(05)80994-7)
- Janson, C. H., & van Schaik, C. . (2003). Ecological risk aversion in juvenile primates : Slow and steady wins the race. In M. . Pereira & L. . Fairbanks (Eds.), *Juvenile Primates : Life History, Development, and Behavior* (2nd ed. pp. 57–74). University of Chicago Press, Chicago. <https://ci.nii.ac.jp/naid/20000869141/>
- Joffe, T. H. (1997). Social pressures have selected for an extended juvenile period in primates. *Journal of Human Evolution*, 32(6), 593–605. <https://doi.org/10.1006/jhev.1997.0140>
- Johnson, S. E., & Bock, J. (2004). Trade-offs in skill acquisition and time allocation among juvenile chacma baboons. *Human Nature*, 15(1), 45–62. <https://doi.org/10.1007/s12110-004-1003-y>
- Johnston, C. I., Newman, M., & Woods, R. (1981). Role of vasopressin in cardiovascular homeostasis and hypertension. *Clinical Science (London, England : 1979)*, 61 Suppl 7(s7), 129s–39s. <https://doi.org/10.1042/CS061129S>
- Kano, T. (1980). Social behavior of wild pygmy chimpanzees (*Pan paniscus*) of Wamba: A preliminary report. *Journal of Human Evolution*, 9(4), 243–260. [https://doi.org/10.1016/0047-2484\(80\)90053-6](https://doi.org/10.1016/0047-2484(80)90053-6)
- Kelemen, G., & Sade, J. (1960). The vocal organ of the Howling monkey (*Alouatta palliata*). *Journal of Morphology*, 107(2), 123–140. <https://doi.org/10.1002/jmor.1051070202>
- Kim, S., Fonagy, P., Koos, O., Dorsett, K., & Strathearn, L. (2014). Maternal oxytocin response predicts mother-to-infant gaze. *Brain Research*, 1580, 133–142. <https://doi.org/10.1016/J.BRAINRES.2013.10.050>
- Kirschbaum, C., & Hellhammer, D. H. (1994). Salivary cortisol in psychoneuroendocrine research: Recent developments and applications. *Psychoneuroendocrinology*, 19(4), 313–333. [https://doi.org/10.1016/0306-4530\(94\)90013-2](https://doi.org/10.1016/0306-4530(94)90013-2)
- Kitchen, D. M. (2004). Alpha male black howler monkey responses to loud calls: effect of numeric odds, male companion behaviour and reproductive investment. *Animal Behaviour*, 67(1), 125–139. <https://doi.org/10.1016/J.ANBEHAV.2003.03.007>
- Korstjens, A. H., Nijssen, E. C., & Noë, R. (2005). Intergroup relationships in Western Black-and-White Colobus, *Colobus polykomos polykomos*. *International Journal of Primatology*, 26(6), 1267–1289. <https://doi.org/10.1007/s10764-005-8853-y>
- Kowalewski, M. M. (2007). Patterns of affiliation and cooperation in Howler Monkeys: An alternative model

- to explain social organization in non-human primates. [Tesis Doctoral] University of Illinois at Urbana-Champaign. <https://www.ideals.illinois.edu/handle/2142/85276>
- Kowalewski, M. M., & Garber, P. A. (2010). Mating promiscuity and reproductive tactics in female black and gold howler monkeys (*Alouatta caraya*) inhabiting an island on the Parana river, Argentina. *American Journal of Primatology*, 72(8), 734–748. <https://doi.org/10.1002/ajp.20838>
- Kowalewski, M. M., & Garber, P. A. (2015). Solving the collective action problem during intergroup encounters: The case of black and gold howler monkeys (*Alouatta caraya*). In M. M. Kowalewski, P. A. Garber, L. Cortés-Ortiz, B. Urbani, & D. Youlatos (Eds.), *Howler Monkeys: Behavior, Ecology, and Conservation* (pp. 165–189). Springer, New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1960-4_7
- Kowalewski, M., Raño, M., & Gennuso, M. (2018). Abrazos entre machos como ejemplo de comportamientos afiliativos en *Alouatta caraya*. In B. Urbani, M. Kowalewski, R. Grasseto Teixeira da Cunha, S. de la Torre, & L. Cortés-Ortiz (Eds.), *La primatología en Latinoamérica 2* (pp. 109–118). IVIC.
- Kudielka, B. M., & Kirschbaum, C. (2004). Sex differences in HPA axis responses to stress: a review. <https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2004.11.009>
- Kugelmeier, T., del Rio do Valle, R., de Barros Vaz Guimarães, M. A., Pereira Carneiro Muniz, J. A., Barros Monteiro, F. O., & de Oliveira, C. A. (2011). Tracking the ovarian cycle in Black-and-Gold Howlers (*Alouatta caraya*) by measuring fecal steroids and observing vaginal bleeding. *International Journal of Primatology*, 32(3), 605–615. <https://doi.org/10.1007/s10764-010-9490-7>
- Kulik, L., Amici, F., Langos, D., & Widdig, A. (2015). Sex differences in the development of social relationships in Rhesus Macaques (*Macaca mulatta*). *International Journal of Primatology*, 36(2), 353–376. <https://doi.org/10.1007/s10764-015-9826-4>
- Lahoz, M. M., Nagle, C. A., Porta, M., Farinati, Z., & Manzur, T. D. (2007). Cortisol response and ovarian hormones in juvenile and cycling female *Cebus* monkeys: effect of stress and dexamethasone. *American Journal of Primatology*, 69(5), 551–561. <https://doi.org/10.1002/ajp.20375>
- Lancaster, J. B. (1971). Play-mothering: The relations between juvenile females and young infants among free-ranging Vervet Monkeys, (*Cercopithecus aethiops*); *Folia Primatologica*, 15(3–4), 161–182. <https://doi.org/10.1159/000155377>
- Lande, R. (1982). A quantitative genetic theory of life history evolution. *Ecology*, 63(3), 607–615. <https://doi.org/10.2307/1936778>
- Langer, P. (2008). The phases of maternal investment in eutherian mammals. *Zoology*, 111(2), 148–162. <https://doi.org/10.1016/j.zool.2007.06.007>
- Lasley, B. L., & Kirkpatrick, J. F. (1991). Monitoring ovarian function in captive and free-ranging wildlife by means of urinary and fecal steroids. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. American Association of Zoo Veterinarians. <https://doi.org/10.2307/20095115>
- Lazaro-Perea, C. (2001). Intergroup interactions in wild common marmosets, *Callithrix jacchus*: territorial defence and assessment of neighbours. *Animal Behaviour*, 62(1), 11–21. <https://doi.org/10.1006/ANBE.2000.1726>
- Leigh, S. R. (1992). Ontogeny and body size dimorphism in anthropoid primates. [Tesis Doctoral] Northwestern University, Illinois.

- Leigh, S. R. (1994). Ontoanetic correlates of diet in anthropoid primates. *American Journal of Physical Anthropology*, 94(4), 499–522. <https://doi.org/10.1002/ajpa.1330940406>
- Leigh, S. R. (2004). Brain growth, life history, and cognition in primate and human evolution. *American Journal of Primatology*, 62(3), 139–164. <https://doi.org/10.1002/ajp.20012>
- Leigh, S. R., & Blomquist, G. E. (2007). Life history. In C. J. Campbell (Ed.), *Primates in perspective* (pp. 396–407). Oxford University Press, New York
- Leigh, S. R., & Shea, B. T. (1996). Ontogeny of body size variation in African apes. *American Journal of Physical Anthropology*, 99(1), 43–65. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-8644\(199601\)99:1<43::AID-AJPA3>3.0.CO;2-0](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-8644(199601)99:1<43::AID-AJPA3>3.0.CO;2-0)
- Leresche, L. A. (1976). Dyadic play in Hamadryas Baboons. *Behaviour*, 57(3), 190–205. <https://doi.org/10.1163/156853976X00514>
- Leutenegger, W., & Kelly, J. T. (1977). Relationship of sexual dimorphism in canine size and body size to social, behavioral, and ecological correlates in anthropoid primates. *Primates*, 18(1), 117–136. <https://doi.org/10.1007/BF02382954>
- Lewis, D. A., Cruz, D., Eggen, S., & Erickson, S. (2004). Postnatal development of prefrontal inhibitory circuits and the pathophysiology of cognitive dysfunction in schizophrenia. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1021(1), 64–76. <https://doi.org/10.1196/annals.1308.008>
- Lewis, K. P., & Barton, R. A. (2006). Amygdala size and hypothalamus size predict social play frequency in nonhuman primates: A comparative analysis using independent contrasts. *Journal of Comparative Psychology*, 120(1), 31–37. <https://doi.org/10.1037/0735-7036.120.1.31>
- Li, Y., Guo, S., Ji, W., He, G., Wang, X., & Li, B. (2011). Social play behavior in infant sichuan snub-nosed monkeys (*Rhinopithecus roxellana*) in Qinling Mountains, China. *American Journal of Primatology*, 73(9), 845–851. <https://doi.org/10.1002/ajp.20944>
- Lim, M. M., & Young, L. J. (2006). Neuropeptidergic regulation of affiliative behavior and social bonding in animals. *Hormones and Behavior*, 50(4), 506–517. <https://doi.org/10.1016/J.YHBEH.2006.06.028>
- Lonsdorf, E. V., Anderson, K. E., Stanton, M. A., Shender, M., Heintz, M. R., Goodall, J., & Murray, C. M. (2014). Boys will be boys : sex differences in wild infant chimpanzee social interactions. *Animal Behaviour*, 88, 79–83. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2013.11.015>
- Lovejoy, J., & Wallen, K. (1988). Sexually dimorphic behavior in group-housed rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) at 1 year of age. *Psychobiology*, 16(4), 348–356.
- Lycett, J. E., Henzi, S. P., & Barrett, L. (1998). Maternal investment in mountain baboons and the hypothesis of reduced care. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 42(1), 49–56. <https://doi.org/10.1007/s002650050410>
- Lynsdale, C. L., Mumby, H. S., Hayward, A. D., Mar, K. U., & Lummaa, V. (2017). Parasite-associated mortality in a long-lived mammal: Variation with host age, sex, and reproduction. *Ecology and Evolution*, 7(24), 10904–10915. <https://doi.org/10.1002/ece3.3559>
- MacKinnon, K. C. (2006). Food choice by juvenile capuchin monkeys (*Cebus capucinus*) in a Tropical Dry Forest. In *New Perspectives in the Study of Mesoamerican Primates* (pp. 349–365). Boston: Kluwer Academic Publishers. https://doi.org/10.1007/0-387-25872-8_17
- Maestriperieri, D., & Hoffman, C. L. (2012). Behavior and social dynamics of Rhesus Macaques on Cayo

- Santiago. In *Bones, Genetics, and Behavior of Rhesus Macaques* (pp. 247–262). Springer, New York.
https://doi.org/10.1007/978-1-4614-1046-1_12
- Maestripieri, D., Hoffman, C. L., Anderson, G. M., Carter, C. S., & Higley, J. D. (2009). Mother–infant interactions in free-ranging rhesus macaques: Relationships between physiological and behavioral variables. *Physiology & Behavior*, 96(4–5), 613–619.
<https://doi.org/10.1016/J.PHYSBEH.2008.12.016>
- Maestripieri, D., & Ross, S. R. (2004). Sex differences in play among western lowland gorilla (*Gorilla gorilla gorilla*) infants: Implications for adult behavior and social structure. *American Journal of Physical Anthropology*, 123(1), 52–61. <https://doi.org/10.1002/ajpa.10295>
- Majolo, B., Ventura, R., & Koyama, N. F. (2005). Sex, rank and age differences in the Japanese Macaque (*Macaca fuscata yakui*) participation in inter-group encounters. *Ethology*, 111(5), 455–468.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0310.2005.01087.x>
- Maner, J. K., Miller, S. L., Schmidt, N. B., & Eckel, L. A. (2010). The Endocrinology of exclusion. *Psychological Science*, 21(4), 581–588. <https://doi.org/10.1177/0956797610362676>
- Mann, D. R., Gould, K. G., Collins, D. C., & Wallen, K. (1989). Blockade of neonatal activation of the pituitary-testicular axis: Effect on peripubertal luteinizing hormone and testosterone secretion and on testicular development in male monkeys. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 68(3), 600–607. <https://doi.org/10.1210/jcem-68-3-600>
- Manson, J. H., Wrangham, R. W., Boone, J. L., Chapais, B., Dunbar, R. I. M., Ember, C. R., ... Worthman, C. M. (1991). Intergroup Aggression in Chimpanzees and Humans [and Comments and Replies]. *Current Anthropology*, 32(4), 369–390. <https://doi.org/10.1086/203974>
- Marshall, A. J., & Hohmann, G. (2005). Urinary testosterone levels of wild male bonobos (*Pan paniscus*) in the Lomako Forest, Democratic Republic of Congo. *American Journal of Primatology*, 65(1), 87–92.
<https://doi.org/10.1002/ajp.20099>
- Martin, D. E., Swenson, R. B., & Collins, D. C. (1977). Correlation of serum testosterone levels with age in male chimpanzees. *Steroids*, 29(4), 471–481. [https://doi.org/10.1016/0039-128X\(77\)90067-8](https://doi.org/10.1016/0039-128X(77)90067-8)
- Matheson, M. D., & Bernstein, I. S. (2000). Grooming, social bonding, and agonistic aiding in rhesus monkeys. *American Journal of Primatology*, 51(3), 177–186. [https://doi.org/10.1002/1098-2345\(200007\)51:3<177::AID-AJP2>3.0.CO;2-K](https://doi.org/10.1002/1098-2345(200007)51:3<177::AID-AJP2>3.0.CO;2-K)
- McEwen, B. S., & Wingfield, J. C. (2003). The concept of allostasis in biology and biomedicine. *Hormones and Behavior*, 43(1), 2–15. [https://doi.org/10.1016/S0018-506X\(02\)00024-7](https://doi.org/10.1016/S0018-506X(02)00024-7)
- McPherson, F. J. (2013). Sexual dimorphism in primates. *Folia Primatologica*, 2(2), 59–62.
<https://doi.org/10.1159/000156788>
- Meek, L. R., Romeo, R. D., Novak, C. M., & Sisk, C. L. (1997). Actions of testosterone in prepubertal and postpubertal male hamsters: Dissociation of effects on reproductive behavior and brain androgen Receptor Immunoreactivity. *Hormones and Behavior* (Vol. 31). Article No. HB971371.
<https://pdfs.semanticscholar.org/9548/60d49df63837dd928bffddd5117efc7d656e.pdf>
- Michopoulos, V., Checchi, M., Sharpe, D., & Wilson, M. E. (2011). Estradiol effects on behavior and serum oxytocin are modified by social status and polymorphisms in the serotonin transporter gene in female rhesus monkeys. *Hormones and Behavior*, 59(4), 528–535.

- <https://doi.org/10.1016/J.YHBEH.2011.02.002>
- Miller, S. (2011). Hormones and Social Affiliation: Menstrual Cycle Shifts in Progesterone Underlie Women's Attention to Signs of Social Support. [Tesis Doctoral] The Florida State University. <https://fsu.digital.flvc.org/islandora/object/fsu:180613/datastream/PDF/view>
- Mink, J. W., Blumenschine, R. J., & Adams, D. B. (1981). Ratio of central nervous system to body metabolism in vertebrates: its constancy and functional basis. *The American Journal of Physiology*, 241(3), R203-12. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1981.241.3.R203>
- Miranda, J. M. D., Aguiar, L. M., Ludwig, G., Moro-Rios, R. F., & Passos, F. C. (2005). The first seven months of an infant of *Alouatta guariba* (Humboldt) (*Primates, Atelidae*): interactions and the development of behavioral patterns. *Revista Brasileira de Zoologia*, 22(4), 1191–1195. <https://doi.org/10.1590/S0101-81752005000400054>
- Mitchell, G., & Tokunaga, D. H. (1976). Sex differences in nonhuman primate grooming. *Behavioural Processes*, 1(4), 335–345. [https://doi.org/10.1016/0376-6357\(76\)90015-2](https://doi.org/10.1016/0376-6357(76)90015-2)
- Monteiro, F. O. B., Kugelmeier, T., do Valle, R. del R., Lima, A. B. F., Silva, F. E., de Souza Martins, S., ... Viau, P. (2013). Evaluation of the fecal steroid concentrations in *Alouatta belzebul* (*Primates, Atelidae*) in the National Forest of Tapirape-Aquiri in Pará, Brazil. *Journal of Medical Primatology*, 42(6), 325–332. <https://doi.org/10.1111/jmp.12061>
- Montgomery, S. H. (2014). The relationship between play, brain growth and behavioural flexibility in primates. *Animal Behaviour*, 90, 281–286. <https://doi.org/10.1016/J.ANBEHAV.2014.02.004>
- Moreland, R. B., Richardson, M. E., Lamberski, N., & Long, J. A. (2001). Characterizing the Reproductive Physiology of the Male Southern Black Howler Monkey, *Alouatta caraya*. *Journal of Andrology*, 22(3), 395–403. <https://doi.org/10.1002/J.1939-4640.2001.TB02195.X>
- Muller, M. N., & Lipson, S. F. (2003). Diurnal patterns of urinary steroid excretion in wild chimpanzees. *American Journal of Primatology*, 60(4), 161–166. <https://doi.org/10.1002/ajp.10103>
- Muller, M. N., & Wrangham, R. W. (2004a). Dominance, aggression and testosterone in wild chimpanzees: a test of the 'challenge hypothesis.' *Animal Behaviour*, 67(1), 113–123. <https://doi.org/10.1016/J.ANBEHAV.2003.03.013>
- Muller, M. N., & Wrangham, R. W. (2004b). Dominance, cortisol and stress in wild chimpanzees (*Pan troglodytes schweinfurthii*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 55(4), 332–340. <https://doi.org/10.1007/s00265-003-0713-1>
- Muñoz, D., Magaña, M., García del, Y., Franco, B., & Estrada, A. (2001). Presupuestos de tiempo en una tropa de monos aulladores (*Alouatta palliata*) en el parque Yumkà, Tabasco, México. *Universidad y Ciencia*, 34(17). <http://www.redalyc.org/html/154/15403407/>
- Muren, Kusuda, S., Doi, O., Naito, H., & Hashikawa, H. (2017). Puberty, ovarian cycle, pregnancy, and postpartum ovulation in captive Sichuan golden monkeys (*Rhinopithecus roxellana*) based on changes in urinary and fecal gonadal steroid metabolites. *Theriogenology*, 87, 179–186. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2016.08.020>
- Nadler, R. D., Wallis, J., Roth-Meyer, C., Cooper, R. W., & Baulieu, E.-E. (1987). Hormones and behavior of prepubertal and peripubertal chimpanzees. *Hormones and Behavior*, 21(1), 118–131. [https://doi.org/10.1016/0018-506X\(87\)90037-7](https://doi.org/10.1016/0018-506X(87)90037-7)

- Napier, J., & Napier, P. (1967). *A handbook of living primates*. Academic Press, London.
- Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2009). *Lehninger principios de bioquímica Omega*. Omega.
- Neuman, Y. (2014). Personality from a cognitive-biological perspective. *Physics of Life Reviews*, 11(4), 650–686. <https://doi.org/10.1016/J.PLREV.2014.09.002>
- Neville, M. K. (1972). Social Relations within Troops of Red Howler Monkeys (*Alouatta seniculus*). *Folia Primatologica*, 18(1–2), 47–77. <https://doi.org/10.1159/000155470>
- Nikolei, J., & Borries, C. (1997). Sex differential behavior of immature Hanuman Langurs (*Presbytis entellus*) in Ramnagar, South Nepal. *International Journal of Primatology*, 18(3), 415–437. <https://doi.org/10.1023/A:1026390517948>
- Nishida, T. (1983). Alloparental behavior in wild Chimpanzees of the Mahale Mountains, Tanzania. *Folia Primatologica*, 41(1–2), 1–33. <https://doi.org/10.1159/000156117>
- Nunes, S., Fite, J. E., Patera, K. J., & French, J. A. (2001). Interactions among paternal behavior, steroid hormones, and parental experience in male Marmosets (*Callithrix kuhlii*). *Hormones and Behavior*, 39(1), 70–82. <https://doi.org/10.1006/HBEH.2000.1631>
- Núñez, J. L., Lauschke, D. M., & Juraska, J. M. (2001). Cell death in the development of the posterior cortex in male and female rats. *Journal of Comparative Neurology*, 436(1), 32–41. <https://doi.org/10.1002/cne.1051>
- O'Connor, K. A., Brindle, E., Shofer, J. B., Miller, R. C., Klein, N. A., Soules, M. R., ... Handcock, M. S. (2004). Statistical correction for non-parallelism in a urinary enzyme immunoassay. *Journal of Immunoassay and Immunochemistry*, 25(3), 259–278. <https://doi.org/10.1081/IAS-200028078>
- Oklander, L. I., Kowalewski, M. M., & Corach, D. (2010). Genetic consequences of habitat fragmentation in Black-and-Gold Howler (*Alouatta caraya*) populations from northern Argentina. *International Journal of Primatology*, 31(5), 813–832. <https://doi.org/10.1007/s10764-010-9430-6>
- Olster, D. H., & Blaustein, J. D. (1989). Development of steroid-induced lordosis in female guinea pigs: Effects of different estradiol and progesterone treatments, clonidine, and early weaning. *Hormones and Behavior*, 23(1), 118–129. [https://doi.org/10.1016/0018-506X\(89\)90079-2](https://doi.org/10.1016/0018-506X(89)90079-2)
- Ostner, J., Kappeler, P., & Heistermann, M. (2002). Seasonal variation and social correlates of androgen excretion in male redfronted lemurs (*Eulemur fulvus rufus*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 52(6), 485–495. <https://doi.org/10.1007/s00265-002-0532-9>
- Owens, N. W. (1975). Social play behaviour in free-living baboons, *Papio anubis*. *Animal Behaviour*, 23, 387–408. [https://doi.org/10.1016/0003-3472\(75\)90087-1](https://doi.org/10.1016/0003-3472(75)90087-1)
- Pagel, M. ., & Harvey, P. . (2003). Evolution of the juvenile period in mammals. In M. E. Pereira & L. A. Fairbanks (Eds.), *Juvenile primates: life history, development, and behavior*. (2nd ed. pp. 28–37). Chicago University, Chicago.
- Palombit, R. A. (1993). Lethal territorial aggression in a white-handed gibbon. *American Journal of Primatology*, 31(4), 311–318. <https://doi.org/10.1002/ajp.1350310407>
- Patterson, J. D. (2001). *Primate Behavior, An Exercise Workbook, 2nd Edition*. Waveland Press, Inc. (2nd ed.). Waveland Press.
- Paukner, A., & Suomi, S. J. (2008). Sex differences in play behavior in juvenile tufted capuchin monkeys (*Cebus apella*). *Primates*, 49(4), 288–291. <https://doi.org/10.1007/s10329-008-0095-0>

- Pavé, R., Kowalewski, M. M., Garber, P. A., Zunino, G. E., Fernandez, V. A., & Peker, S. M. (2012). Infant mortality in Black-and-Gold Howlers (*Alouatta caraya*) Living in a Flooded Forest in Northeastern Argentina. *International Journal of Primatology*, 33(4), 937–957. <https://doi.org/10.1007/s10764-012-9626-z>
- Pavé, R., Kowalewski, M. M., Zunino, G. E., & Giraudo, A. R. (2015). How do demographic and social factors influence parent-offspring conflict? The case of wild black and gold howler monkeys (*Alouatta caraya*). *American Journal of Primatology*, 77(8), 911–923. <https://doi.org/10.1002/ajp.22420>
- Pedersen, C. A. (1997). Oxytocin control of maternal behavior regulation by sex steroids and offspring stimuli. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 807(1), 126–145. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1997.tb51916.x>
- Peláez, F., Gil-Burmann, C., & Sánchez, S. (2000). Feeding tactics in juvenile rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *American Journal of Primatology*, 51(2), 147–152. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2345\(200006\)51:2<147::AID-AJP4>3.0.CO;2-L](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2345(200006)51:2<147::AID-AJP4>3.0.CO;2-L)
- Pellis, S. M., Pellis, V. C., & Bell, H. C. (2010). The function of play in the development of the social brain. *American Journal of Play*, 2, 278–296. <https://eric.ed.gov/?id=EJ1069225>
- Pereira, M. (2003). Juvenility in animals. In M. Pereira & L. . Fairbancks (Eds.), *Juvenile Primates: Life, history, development and behavior* (2nd ed. pp. 17–27). The University of Chicago Press, Chicago.
- Pereira, M. ., & Fairbancks, L. . (2003). What are juveniles Primates all about? In M. . Pereira & L. . Fairbancks (Eds.), *Juvenile Primates: Life, history, development and behavior*, (2nd ed. pp. 3–12). The University of Chicago Press, Chicago.
- Pereira, M. E. (1988). Effects of age and sex on intra-group spacing behaviour in juvenile savannah baboons, *Papio cynocephalus cynocephalus*. *Animal Behaviour*, 36(1), 184–204. [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(88\)80262-8](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(88)80262-8)
- Pereira, M. E. (2010). Agonistic interactions of juvenile savanna Baboons. *Ethology*, 79(3), 195–217. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0310.1988.tb00711.x>
- Pereira, M. E., & Leigh, S. R. (2003). Modes of primate development. In M. E. Pereira (Ed.), *Primate life histories and socioecology* (pp. 149–176). University of Chicago Press, Chicago.
- Phoenix, C., Goy, R., Gerall, A., & Young, W. (1959). Organizing action of prenatally administered testosterone propionate on the tissues mediating mating behavior in the female guinea pig. *Endocrinology*, 65(3), 369–382. <https://doi.org/10.1210/endo-65-3-369>
- Pinos, H., Collado, P., Rodríguez-Zafra, M., Rodríguez, C., Segovia, S., & Guillamón, A. (2001). The development of sex differences in the locus coeruleus of the rat. *Brain Research Bulletin*, 56(1), 73–78. [https://doi.org/10.1016/S0361-9230\(01\)00540-8](https://doi.org/10.1016/S0361-9230(01)00540-8)
- Plant, T. M. (2015). Neuroendocrine control of the onset of puberty. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 38, 73–88. <https://doi.org/10.1016/J.YFRNE.2015.04.002>
- Plant, T. M., & Witchel, S. F. (2006). Puberty in nonhuman primates and humans. In J. D. Neill (Ed.), *Knobil and Neill's physiology of reproduction* (Elsevier, Vol. 2, pp. 2177–2230). New York.
- Poirier, F. E. (1969). Behavioral flexibility and intertroop variation among nilgiri langurs (*Presbytis johnii*) of south India. *Folia Primatologica*, 11(1), 119–133. <https://doi.org/10.1159/000155260>
- Poirier, F. E., & Smith, E. O. (1974). Socializing Functions of Primate Play. *American Zoologist*, 14(1), 275–

287. <https://doi.org/10.1093/icb/14.1.275>
- Posner, M. I., Rothbart, M. K., Sheese, B. E., & Voelker, P. (2014). Developing attention: Behavioral and brain mechanisms. *Advances in Neuroscience*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/405094>
- Prates, H. M., & Bicca-Marques, J. C. (2008). Age-sex analysis of activity budget, diet, and positional behavior in *Alouatta caraya* in an Orchard Forest. *International Journal of Primatology*, 29(3), 703–715. <https://doi.org/10.1007/s10764-008-9257-6>
- Price, E. C., & Feistner, A. T. C. (1993). Food sharing in lion tamarins: Tests of three hypotheses. *American Journal of Primatology*, 31(3), 211–221. <https://doi.org/10.1002/ajp.1350310306>
- Promislow, D. E. L., & Harvey, P. H. (1990). Living fast and dying young: A comparative analysis of life-history variation among mammals. *Journal of Zoology*, 220(3), 417–437. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1990.tb04316.x>
- Purvis, A., & Harvey, P. H. (1995). Mammal life-history evolution: a comparative test of Charnov's model. *Journal of Zoology*, 237(2), 259–283. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1995.tb02762.x>
- R Core Team. (2016). R: A Language and Environment for Statistical Computing. Viena.
- Raguet-Schofield, M. L. (2010). The ontogeny of feeding behavior of Nicaraguan mantled howler monkeys (*Alouatta palliata*). <https://www.ideals.illinois.edu/handle/2142/16263>
- Rangel-Negrín, A., Dias, P. A. D., Chavira, R., & Canales-Espinosa, D. (2011). Social modulation of testosterone levels in male black howlers (*Alouatta pigra*). *Hormones and Behavior*, 59(1), 159–166. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2010.11.005>
- Rankin, S. L., Partlow, G. D., McCurdy, R. D., Giles, E. D., & Fisher, K. R. S. (2003). Postnatal neurogenesis in the vasopressin and oxytocin-containing nucleus of the pig hypothalamus. *Brain Research*, 971(2), 189–196. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(03\)02350-3](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(03)02350-3)
- Raño, M. (2016). Estrategias reproductivas de las hembras de monos aulladores negros y dorados (*Alouatta caraya*) en el nordeste de Argentina.[Tesis Doctoral] Buenos Aires University.
- Raño, M., Valeggia, R., & Kowalewski, M. M. (2018). Aged black-and-gold howler monkey female (*Alouatta caraya*): A sign of reproductive senescence? *Folia Primatologica*, 3401, 101–110. <https://doi.org/10.1159/000485975>
- Ravosa, M. J., Ross, C. F., Williams, S. H., & Costley, D. B. (2010). Allometry of masticatory loading parameters in mammals. *The Anatomical Record: Advances in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology*, 293(4), 557–571. <https://doi.org/10.1002/ar.21133>
- Reader, S., & Laland, K. (2002). Social intelligence, innovation, and enhanced brain size in primates. *Proc. Natl Acad. Sci*, 4436–4441. <http://www.pnas.org/content/99/7/4436.short>
- Reinhardt, V. (1987). Are male rhesus monkeys more aggressive than females? *Primates*, 28(1), 123–125. <https://doi.org/10.1007/BF02382190>
- Robbins, M. M., & Czekala, N. M. (1997). A preliminary investigation of urinary testosterone and cortisol levels in wild male mountain gorillas. *American Journal of Primatology*, 43(1), 51–64. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2345\(1997\)43:1<51::AID-AJP4>3.0.CO;2-X](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2345(1997)43:1<51::AID-AJP4>3.0.CO;2-X)
- Robinson, J. G. (1981). Spatial structure in foraging groups of wedge-capped capuchin monkeys *Cebus nigrivittatus*. *Animal Behaviour*, 29(4), 1036–1056. [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(81\)80057-7](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(81)80057-7)
- Rödel, H. G., Zapka, M., Talke, S., Kornatz, T., Bruchner, B., & Hedler, C. (2015). Survival costs of fast

- exploration during juvenile life in a small mammal. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 69(2), 205–217. <https://doi.org/10.1007/s00265-014-1833-5>
- Rodrigues, M. A. (2007). Sex differences in the social behavior of juvenile spider monkeys (*Ateles geoffroyi*). [Tesis Doctoral] Iowa State University. Retrieved from <https://lib.dr.iastate.edu/rtd/14829>
- Romeo, R. D., Cook-Wiens, E., Richardson, H. N., & Sisk, C. L. (2001). Dihydrotestosterone activates sexual behavior in adult male hamsters but not in juveniles. *Physiology & Behavior*, 73(4), 579–584. [https://doi.org/10.1016/S0031-9384\(01\)00499-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9384(01)00499-1)
- Rose, R. M. (1980). Endocrine responses to stressful psychological events. *Psychiatric Clinics of North America*, 3(2), 251–276. [https://doi.org/10.1016/S0193-953X\(18\)30965-1](https://doi.org/10.1016/S0193-953X(18)30965-1)
- Rose, R. M., Holaday, J. W., & Benrstein, I. S. (1971). Plasma testosterone, dominance rank and aggressive behaviour in male rhesus monkeys. *Nature*, 231(5302), 366–368. <https://doi.org/10.1038/231366a0>
- Ross, C. (1998). Primate life histories. *Evolutionary Anthropology: Issues, News, and Reviews*, 6(2), 54–63. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1520-6505\(1998\)6:2<54::AID-EVAN3>3.0.CO;2-W](https://doi.org/10.1002/(SICI)1520-6505(1998)6:2<54::AID-EVAN3>3.0.CO;2-W)
- Ross, C., & Jones, K. E. (1999). The evolution of primate reproductive rates. In P. Lee (Ed.), *Comparative Primate Socioecology* (pp. 73–110). Cambridge University Press, Cambridge.
- Ross, C., & MacLarnon, A. (2000). The evolution of non-maternal care in anthropoid primates: a test of the hypotheses. *Folia Primatologica*, 71(1–2), 93–113. <https://doi.org/10.1159/000021733>
- Ross, C. N., French, J. A., & Patera, K. J. (2004). Intensity of aggressive interactions modulates testosterone in male marmosets. *Physiology & Behavior*, 83(3), 437–445. <https://doi.org/10.1016/J.PHYSBEH.2004.08.036>
- Ross, H. E., & Young, L. J. (2009). Oxytocin and the neural mechanisms regulating social cognition and affiliative behavior. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 30(4), 534–547. <https://doi.org/10.1016/J.YFRNE.2009.05.004>
- Rowell, T. E., & Chism, J. (1986). The ontogeny of sex differences in the behavior of patas monkeys. *International Journal of Primatology*, 7(1), 83–107. <https://doi.org/10.1007/BF02692310>
- Ruiz-Miranda, C. R., Kleiman, D. G., Dietz, J. M., Moraes, E., Grativol, A. D., Baker, A. J., & Beck, B. B. (1999). Food transfers in wild and reintroduced golden lion tamarins, *Leontopithecus rosalia*. *American Journal of Primatology*, 48(4), 305–320. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2345\(1999\)48:4<305::AID-AJP6>3.0.CO;2-V](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2345(1999)48:4<305::AID-AJP6>3.0.CO;2-V)
- Rumiz, D. I. (1990). *Alouatta caraya*: Population density and demography in Northern Argentina. *American Journal of Primatology*, 21(4), 279–294. <https://doi.org/10.1002/ajp.1350210404>
- Rumiz, D. I., Zunino, G. E., Obregozo, M. L., & Ruiz, J. C. (1986). *Alouatta caraya*: habitat and resource utilization in northern Argentina. In M. . Taub & A. King (Eds.), *Current Perspectives in Primate Social Dynamics*, , (p. 175–193.). New York: Van Nostrand Reinhold. <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US8907212>
- Sannen, A., Van Elsacker, L., Heistermann, M., & Eens, M. (2004). Urinary testosterone-metabolite levels and dominance rank in male and female bonobos (*Pan paniscus*). *Primates*, 45(2), 89–96. <https://doi.org/10.1007/s10329-003-0066-4>
- Sapolsky, R. M., Romero, L., & Munck, A. U. (2000). How do glucocorticoids influence stress responses? integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocrine Reviews*, 21(1),

- 55–89. <https://doi.org/10.1210/edrv.21.1.0389>
- Sauther, M. L., Cuozzo, F. P., & Sussman, R. W. (2001). Analysis of dentition of a living wild population of ring-tailed lemurs (*Lemur catta*) from Beza Mahafaly, Madagascar. *American Journal of Physical Anthropology*, 114(3), 215–223. [https://doi.org/10.1002/1096-8644\(200103\)114:3<215::AID-AJPA1021>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/1096-8644(200103)114:3<215::AID-AJPA1021>3.0.CO;2-J)
- Sawada, A., Sakaguchi, E., Clauss, M., & Hanya, G. (2012). A pilot study on the ontogeny of digestive physiology in Japanese macaques (*Macaca fuscata*). *Mammalian Biology-Zeitschrift Für Säugetierkunde*, 77(6), 455–458.
- Schimpl, P. A., Mendoza, S. P., Saltzman, W., Lyons, D. M., & Mason, W. A. (1996). Seasonality in squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*): Social facilitation by females. *Physiology & Behavior*, 60(4), 1–96. Retrieved from https://biology.ucr.edu/people/faculty/Saltzmanpubs/Schimpl_etal_1996_PB.pdf
- Schino, G., Scucchi, S., Maestripieri, D., & Turillazzi, P. G. (1988). Allogrooming as a tension-reduction mechanism: A behavioral approach. *American Journal of Primatology*, 16(1), 43–50. <https://doi.org/10.1002/ajp.1350160106>
- Schino, G., & Troisi, A. (1998). Mother-infant conflict over behavioral thermoregulation in Japanese macaques. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 43(2), 81–86. <https://doi.org/10.1007/s002650050469>
- Schoof, V. A. M., & Jack, K. M. (2013). The association of intergroup encounters, dominance status, and fecal androgen and glucocorticoid profiles in wild male white-faced apuchins (*Cebus capucinus*). *American Journal of Primatology*, 75(2), 107–115. <https://doi.org/10.1002/ajp.22089>
- Schulz, K. M., & Sisk, C. L. (2006). Pubertal hormones, the adolescent brain, and the maturation of social behaviors: Lessons from the Syrian hamster. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 254–255, 120–126. <https://doi.org/10.1016/J.MCE.2006.04.025>
- Scott, J. P., Stewart, J. M., & De Gheet, V. J. (2004). Critical periods in the organization of systems. *Developmental Psychobiology*, 7(6), 489–513. <https://doi.org/10.1002/dev.420070602>
- Sekulic, R. (1982). The function of howling in red howler monkeys (*Alouatta seniculus*). *Behaviour*, 81(1), 38–54. <https://doi.org/10.1163/156853982X00517>
- Sekulic, R. (1983). The effect of female call on male howling in red howler monkeys (*Alouatta seniculus*). *International Journal of Primatology*, 4(3), 291–305. <https://doi.org/10.1007/BF02735551>
- Setchell, J. M., & Dixson, A. F. (2001). Changes in the secondary sexual adornments of male mandrills (*Mandrillus sphinx*) are associated with gain and loss of alpha status. *Hormones and Behavior*, 39(3), 177–184. <https://doi.org/10.1006/hbeh.2000.1628>
- Seyfarth, R. M. (1977). A model of social grooming among adult female monkeys. *Journal of Theoretical Biology*, 65(4), 671–698. [https://doi.org/10.1016/0022-5193\(77\)90015-7](https://doi.org/10.1016/0022-5193(77)90015-7)
- Sih, A., Bell, A. M., Johnson, J. C., & Ziemba, R. E. (2004). Behavioral syndromes: An integrative overview. *The Quarterly Review of Biology*, 79(3), 241–277. <https://doi.org/10.1086/422893>
- Silk, J. B., Samuels, A., & Rodman, P. S. (1981). The influence of kinship, rank, and sex on affiliation and aggression between adult female and immature Bonnet macaques (*Macaca radiata*). *Behaviour*, 78(1), 111–137. <https://doi.org/10.1163/156853981X00284>
- Simon, A. K., Hollander, G. A., & McMichael, A. (2015). Evolution of the immune system in humans from

- infancy to old age. *Proceedings. Biological Sciences*, 282(1821), 20143085.
<https://doi.org/10.1098/rspb.2014.3085>
- Sisk, C. L., & Foster, D. L. (2004). The neural basis of puberty and adolescence. *Nature Neuroscience*, 7(10), 1040–1047. <https://doi.org/10.1038/nn1326>
- Sisk, C. L., & Zehr, J. L. (2005). Pubertal hormones organize the adolescent brain and behavior. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 26(3–4), 163–174. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2005.10.003>
- Smithson, M., & Verkuilen, J. (2006). PsycNETA better lemon squeezer? Maximum-likelihood regression with beta-distributed dependent variables. *Psychological Methods*, 11(1), 54–71.
<http://psycnet.apa.org/buy/2006-03820-004>
- Södersten, P. (1975). Receptive behavior in developing female rats. *Hormones and Behavior*, 6(4), 307–317.
[https://doi.org/10.1016/0018-506X\(75\)90001-X](https://doi.org/10.1016/0018-506X(75)90001-X)
- Sonnweber, R. S., Ravignani, A., Stobbe, N., Schiestl, G., Wallner, B., & Fitch, W. T. (2015). Rank-dependent grooming patterns and cortisol alleviation in Barbary macaques. *American Journal of Primatology*, 77(6), 688–700. <https://doi.org/10.1002/ajp.22391>
- Stearns, L. C., Zhao, J., & Harmer, M. P. (1992). Processing and microstructure development in Al₂O₃-SiC ‘nanocomposites.’ *Journal of the European Ceramic Society*, 10(6), 473–477.
[https://doi.org/10.1016/0955-2219\(92\)90022-6](https://doi.org/10.1016/0955-2219(92)90022-6)
- Stone, A. I. (2007). Ecological risk aversion and foraging behaviors of juvenile squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*). *Ethology*, 113(8), 782–792. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0310.2007.01377.x>
- Strier, K. B. (2007). Conservation. In C. . Campbell, A. , Fuentes, K. C. MacKinnon, M. Panger, & S. . Bearder (Eds.), *Primates in Perspective*. (pp. 496 – 509). Oxford University Press, Oxford.
- Strier, K. B., Lynch, J. W., & Ziegler, T. E. (2003). Hormonal changes during the mating and conception seasons of wild northern muriquis (*Brachyteles arachnoides hypoxanthus*). *American Journal of Primatology*, 61(2), 85–99. <https://doi.org/10.1002/ajp.10109>
- Strier, K. B., & Ziegler, T. E. (1997). Behavioral and endocrine characteristics of the reproductive cycle in wild muriqui monkeys, *Brachyteles arachnoides*. *American Journal of Primatology*, 42(4), 299–310.
[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2345\(1997\)42:4<299::AID-AJP5>3.0.CO;2-S](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2345(1997)42:4<299::AID-AJP5>3.0.CO;2-S)
- Strier, K. B., & Ziegler, T. E. (2000). Lack of pubertal influences on female dispersal in muriqui monkeys, *Brachyteles arachnoides*. *Animal Behaviour*, 59(4), 849–860.
<https://doi.org/10.1006/ANBE.1999.1387>
- Strier, K. B., Ziegler, T. E., & Wittwer, D. J. (1999). Seasonal and social correlates of fecal testosterone and cortisol levels in wild male muriquis (*Brachyteles arachnoides*). *Hormones and Behavior*, 35(2), 125–134. <https://doi.org/10.1006/HBEH.1998.1505>
- Struhsaker, T. T. (1971). Social behaviour of mother and infant vervet monkeys (*Cercopithecus aethiops*). *Animal Behaviour*, 19(2), 233–250. [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(71\)80004-0](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(71)80004-0)
- Sueur, C., Jacobs, A., Amblard, F., Petit, O., & King, A. J. (2011). How can social network analysis improve the study of primate behavior? *American Journal of Primatology*, 73(8), 703–719.
<https://doi.org/10.1002/ajp.20915>
- Tacconi, G., & Palagi, E. (2009). Play behavioural tactics under space reduction : social challenges in bonobos , *Pan paniscus*. *Animal Behaviour*, 78(2), 469–476.

- <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2009.06.004>
- Taylor, P. V., Veenema, A. H., Paul, M. J., Bredewold, R., Isaacs, S., & de Vries, G. J. (2012). Sexually dimorphic effects of a prenatal immune challenge on social play and vasopressin expression in juvenile rats. *Biology of Sex Differences*, 3(1), 15. <https://doi.org/10.1186/2042-6410-3-15>
- Teichroeb, J. A., & Sicotte, P. (2008). Social correlates of fecal testosterone in male ursine colobus monkeys (*Colobus vellerosus*): The effect of male reproductive competition in aseasonal breeders. *Hormones and Behavior*, 54(3), 417–423. <https://doi.org/10.1016/J.YHBEH.2008.04.006>
- Thompson, E. N., Biknevicius, A. R., & German, R. Z. (2003). Ontogeny of feeding function in the gray short-tailed opossum *Monodelphis domestica*: empirical support for the constrained model of jaw biomechanics. *The Journal of Experimental Biology*, 206(Pt 5), 923–932. <https://doi.org/10.1242/JEB.00181>
- Trivers, R. (1972). *Parental investment and sexual selection* (Vol. 136). Cambridge: Biological Laboratories, Harvard University.
- Valeggia, C. R., Mendoza, S. P., Fernandez-Duque, E., Mason, W. A., & Lasley, B. (1999). Reproductive biology of female titi monkeys (*Callicebus moloch*) in captivity. *American Journal of Primatology*, 47(3), 183–195. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2345\(1999\)47:3<183::AID-AJP1>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2345(1999)47:3<183::AID-AJP1>3.0.CO;2-J)
- van Belle, S. (2015). Endocrinology of howler monkeys: Review and directions for future research. In M. M. Kowalewski, Paul A. Garber, & Liliana Cortés-Ortiz (Eds.), *Howler Monkeys* (pp. 203–228). Springer, New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1957-4_8
- van Belle, S., Estrada, A., Ziegler, T. E., & Strier, K. B. (2009). Social and hormonal mechanisms underlying male reproductive strategies in black howler monkeys (*Alouatta pigra*). *Hormones and Behavior*, 56(4), 355–363. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2009.08.006>
- van Belle, S., Estrada, A., Ziegler, T. E., & Strier, K. B. (2009). Sexual behavior across ovarian cycles in wild black howler monkeys (*Alouatta pigra*): male mate guarding and female mate choice. *American Journal of Primatology*, 71(2), 153–164. <https://doi.org/10.1002/ajp.20635>
- van Elsacker, L., Sannen, A., Möhle, U., Eens, M., & Heistermann, M. (2003). Urinary testosterone metabolite levels in bonobos: A comparison with chimpanzees in relation to social system. *Behaviour*, 140(5), 683–696. <https://doi.org/10.1163/156853903322149504>
- van Noordwijk, M. ., Hemelrijk, C. K., Herremans, L. A., & Sterck, E. H. (2003). Spatial position and behavioral sex differences in juveniles long – tailed Macaques. In M. E. Pereira & L. A. Fairbanks (Eds.), *Juvenile Primates: Life, history, development and behavior* (2nd ed. pp. 77–88). The University of Chicago Press, Chicago
- van Schaik, C. P., van Noordwijk, M. A., van Bragt, T., & Blankenstein, M. A. (1991). A pilot study of the social correlates of levels of urinary cortisol, prolactin, and testosterone in wild long-tailed macaques (*Macaca fascicularis*). *Primates*, 32(3), 345–356. <https://doi.org/10.1007/BF02382675>
- Veenema, A. H. (2008). Central vasopressin and oxytocin release: regulation of complex social behaviours. *Progress in Brain Research*, 170, 261–276. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(08\)00422-6](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(08)00422-6)
- Veenema, A. H., Bredewold, R., & De Vries, G. J. (2013). Sex-specific modulation of juvenile social play by vasopressin. *Psychoneuroendocrinology*, 38(11), 2554–2561. <https://doi.org/10.1016/J.PSYNEUEN.2013.06.002>

- Verhoeven, K. J. F., Simonsen, K. L., & McIntyre, L. M. (2005). Implementing false discovery rate control: increasing your power. *Oikos*, 108(3), 643–647. <https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2005.13727.x>
- Walker, R., Burger, O., Wagner, J., & Von Rueden, C. R. (2006). Evolution of brain size and juvenile periods in primates. *Journal of Human Evolution*, 51(5), 480–489. <https://doi.org/10.1016/j.jhevol.2006.06.002>
- Wallen, K. (1996). Nature needs nurture: The interaction of hormonal and social influences on the development of behavioral sex differences in rhesus monkeys. *Hormones and Behavior*, 30(4), 364–378. <https://doi.org/10.1006/HBEH.1996.0042>
- Wallen, K. (2001). Sex and context: Hormones and primate sexual motivation. *Hormones and Behavior*, 40(2), 339–357. <https://www.semanticscholar.org/paper/Why-Does-Social-Context-Affect-the-Relationship-and-Wallen/8bc7f601c55814d6be13a3bd93dae32dc9ec30ca>
- Wallen, K. (2005). Hormonal influences on sexually differentiated behavior in nonhuman primates. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 26(1), 7–26. <https://doi.org/10.1016/J.YFRNE.2005.02.001>
- Wallen, K., & Tannenbaum, P. L. (1997). Hormonal modulation of sexual behavior and affiliation in rhesus monkeys. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 807(1), 185–202. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1997.tb51920.x>
- Watts, D. P., Muller, M., Amsler, S. J., Mbabazi, G., & Mitani, J. C. (2006). Lethal intergroup aggression by chimpanzees in Kibale National Park, Uganda. *American Journal of Primatology*, 68(2), 161–180. <https://doi.org/10.1002/ajp.20214>
- Watts, D. P., & Pusey, A. E. (2002). Behavior of juvenile and adolescent great apes. In M. E. Pereira & L. A. Fairbanks (Eds.), *Juvenile primates: life history, development, and behavior* (2nd ed. pp. 148–167). The University of Chicago Press, Chicago
- Weingrill, T., Gray, D. A., Barrett, L., & Henzi, S. P. (2004). Fecal cortisol levels in free-ranging female chacma baboons: relationship to dominance, reproductive state and environmental factors. *Hormones and Behavior*, 45(4), 259–269. <https://doi.org/10.1016/J.YHBEH.2003.12.004>
- Weinstein, T. A. R., & Capitanio, J. P. (2008). Individual differences in infant temperament predict social relationships of yearling rhesus monkeys, *Macaca mulatta*. *Animal Behaviour*, 76(2), 455–465. <https://doi.org/10.1016/J.ANBEHAV.2008.01.024>
- Western, D. (1979). Size, life history and ecology in mammals. *African Journal of Ecology*, 17(4), 185–204. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2028.1979.tb00256.x>
- White, B. C., Jamison, K. M., Grieb, C., Lally, D., Luckett, C., Kramer, K. S., & Phillips, J. (2010). Specific gravity and creatinine as corrections for variation in urine concentration in humans, gorillas, and woolly monkeys. *American Journal of Primatology*, 72(12), 1082–1091. <https://doi.org/10.1002/ajp.20867>
- Whitehead, J. M. (1995). Vox alouattinae: A preliminary survey of the acoustic characteristics of long-distance calls of howling monkeys. *International Journal of Primatology*, 16(1), 121–144. <https://doi.org/10.1007/BF02700156>
- Whitten, P. L., Brockman, D. K., & Stavisky, R. C. (1998). Recent advances in noninvasive techniques to monitor hormone-behavior interactions. *American Journal of Physical Anthropology*, 107(S27), 1–23. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-8644\(1998\)107:27+<1::AID-AJPA2>3.0.CO;2-H](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-8644(1998)107:27+<1::AID-AJPA2>3.0.CO;2-H)

- Williams, G. C. (1966). Natural selection, the costs of reproduction, and a refinement of Lack's principle. *The American Naturalist*, 100(916), 687–690. <https://doi.org/10.1086/282461>
- Williams, L., Gibson, S., McDaniel, M., Bazzel, J., Barnes, S., & Abee, C. (1994). Allomaternal interactions in the Bolivian squirrel monkey (*Saimiri boliviensis boliviensis*). *American Journal of Primatology*, 34(2), 145–156. <https://doi.org/10.1002/ajp.1350340206>
- Wilson, M. L., Kahlenberg, S. M., Wells, M., & Wrangham, R. W. (2012). Ecological and social factors affect the occurrence and outcomes of intergroup encounters in chimpanzees. *Animal Behaviour*, 83(1), 277–291. <https://doi.org/10.1016/J.ANBEHAV.2011.11.004>
- Wingfield, J. C., Hegner, R. E., Dufty, A. M., & Ball, G. F. (1990). The "Challenge Hypothesis": Theoretical implications for patterns of testosterone secretion, mating systems, and breeding strategies. *The American Naturalist*, 136(6), 829–846. <https://doi.org/10.1086/285134>
- Wirth, M. M., & Schultheiss, O. C. (2006). Effects of affiliation arousal (hope of closeness) and affiliation stress (fear of rejection) on progesterone and cortisol. *Hormones and Behavior*, 50(5), 786–795. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2006.08.003>
- Wittig, R. M., Crockford, C., Deschner, T., Langergraber, K. E., Ziegler, T. E., & Zuberbühler, K. (2014). Food sharing is linked to urinary oxytocin levels and bonding in related and unrelated wild chimpanzees. *Proceedings. Biological Sciences*, 281(1778), 20133096. <https://doi.org/10.1098/rspb.2013.3096>
- Wolfheim, J. H. (1977). Sex differences in behavior in a group of captive juvenile Talapoin monkeys (*Miopithecus Talapoin*). *Behaviour*, 63(1), 110–127. <https://doi.org/10.1163/156853977X00199>
- Woo, T.-U., Pucak, M. L., Kye, C. H., Matus, C. V., & Lewis, D. A. (1997). Peripubertal refinement of the intrinsic and associational circuitry in monkey prefrontal cortex. *Neuroscience*, 80(4), 1149–1158. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(97\)00059-6](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(97)00059-6)
- Wrangham, R. W. (1980). An ecological model of female-bonded primate groups. *Behaviour*, 75(3), 262–300. <https://doi.org/10.1163/156853980X00447>
- Xia, D.-P., Li, J.-H., Sun, B.-H., Weed, J. L., & Kyes, R. C. (2015). Evaluation of fecal testosterone, rank and copulatory behavior in wild male *Macaca thibetana* at Huangshan, China. *Pakistan Journal of Zoology* (Vol. 47). [http://www.zsp.com.pk/pdf47/1445-1454 \(30\) PJZ-2099-2014 16-8-15.pdf](http://www.zsp.com.pk/pdf47/1445-1454%20PJZ-2099-2014%2016-8-15.pdf)
- Yan, C., & Jiang, Z. (2006). Does estradiol modulate sexual solicitations in female *Rhinopithecus roxellana*? *International Journal of Primatology*, 27(4), 1171–1186. <https://doi.org/10.1007/s10764-006-9021-8>
- Young, C., Majolo, B., Heistermann, M., Schülke, O., & Ostner, J. (2014). Responses to social and environmental stress are attenuated by strong male bonds in wild macaques. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(51), 18195–18200. <https://doi.org/10.1073/pnas.1411450111>
- Young, G. H., Coelho, A. M., & Bramblett, C. A. (1982). The development of grooming, sociosexual behavior, play and aggression in captive baboons in their first two years. *Primates*, 23(4), 511–519. <https://doi.org/10.1007/BF02373962>
- Zhao, H., Wang, X., Kreigenhofer, B., Qi, X., Guo, S., Wang, C., ... Li, B. (2013). Study on the nutritional ecology of wild primates. *Acta Ecologica Sinica*, 33(4), 185–191. <https://doi.org/10.1016/J.CHNAES.2013.05.004>

- Ziegler, T. E. (2018). Measuring peripheral oxytocin and vasopressin in nonhuman primates. *American Journal of Primatology*, 80(10), e22871. <https://doi.org/10.1002/ajp.22871>
- Ziegler, T. E., Savage, A., Scheffler, G., & Snowdon, C. T. (1987). The endocrinology of puberty and reproductive functioning in female cotton-top tamarins (*Saguinus oedipus*) under varying social conditions. *Biology of Reproduction*, 37(3), 618–627. <https://doi.org/10.1095/biolreprod37.3.618>
- Ziegler, T. E., Scheffler, G., Wittwer, D. J., Schultz-Darken, N., Snowdon, C. T., & Abbott, D. H. (1996). Metabolism of reproductive steroids during the ovarian cycle in two species of callitrichids, *Saguinus oedipus* and *Callithrix jacchus*, and estimation of the ovulatory period from fecal steroids. *Biology of Reproduction*, 54(1), 91–99. <https://doi.org/10.1095/biolreprod54.1.91>
- Ziegler, T. E., Sholl, S. A., Scheffler, G., Haggerty, M. A., & Lasley, B. L. (1989). Excretion of estrone, estradiol, and progesterone in the urine and feces of the female cotton-top tamarin (*Saguinus oedipus oedipus*). *American Journal of Primatology*, 17(3), 185–195. <https://doi.org/10.1002/ajp.1350170302>
- Ziegler, T. E., Snowdon, C. T., & Bridson, W. E. (1990). Reproductive performance and excretion of urinary estrogens and gonadotropins in the female pygmy marmoset (*Cebuella pygmaea*). *American Journal of Primatology*, 22(3), 191–203. <https://doi.org/10.1002/ajp.1350220305>
- Ziegler, T. E., Strier, K. B., & van Belle, S. (2009). The reproductive ecology of South American primates: Ecological adaptations in ovulation and conception. In *South American Primates* (pp. 191–210). Springer, New York. https://doi.org/10.1007/978-0-387-78705-3_8
- Ziegler, T. E., Wittwer, D. J., & Snowdon, C. T. (1993). Circulating and excreted hormones during the ovarian cycle in the cotton-top tamarin, *Saguinus oedipus*. *American Journal of Primatology*, 31(1), 55–65. <https://doi.org/10.1002/ajp.1350310106>
- Zucker, E. L., & Clarke, M. R. (1992). Developmental and comparative aspects of social play of mantled howling monkeys in Costa Rica. *Behaviour*, 123(1), 144–171. <https://doi.org/10.1163/156853992X00165>
- Zunino, G. E. (1986). Algunos aspectos de la ecología y etología del mono aullador negro (*Alouatta caraya*) en hábitat fragmentados.[Tesis Doctoral] Universidad de Buenos Aires, Argentina.
- Zunino, G. E., & Kowalewski, M. M. (2008). Primate research and conservation in Northern Argentina: The Field Station Corrientes (Estación Biológica de Usos Múltiples –EBCo). *Tropical Conservation Science*, 1(2), 140–150. <https://doi.org/10.1177/194008290800100206>